

ارزیابی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن بر *Yersinia ruckeri* و استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) در ماهیان پرورشی

محدثه حیدری^۱، فرزانه بهادری^{۲*}

۱- پژوهشگر بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سمنان، سمنان، ایران

۲- استادیار بخش تحقیقات جنگلها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سمنان، سمنان، ایران

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۹

چکیده مبسوط

زمینه و هدف مطالعه: آویشن می‌تواند به‌عنوان یک‌جانشین مناسب آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شوند، زیرا ممکن است دارای عوارض جانبی کمتری باشند. مطالعه حاضر باهدف تعیین اثر ضدباکتریایی آویشن بر *Yersinia ruckeri* و استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) انجام شد. **مواد و روش‌ها:** برای تعیین قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها از روش استاندارد انتشار در چاهک، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) استفاده گردید و تتراسایکلین و کلرامفنیکل به‌عنوان استاندارد به کار گرفته شد. **نتایج:** نتایج اندازه‌گیری قطر هاله مهارتی در مواجهه با *Yersinia ruckeri* نشان داد که قطر هاله مهارتی تتراسایکلین $12/2 \pm 0/2$ میلی‌متر و کلرامفنیکل $22/2 \pm 0/2$ میلی‌متر و برای تیمار ۱ $3/9 \pm 0/6$ تیمار ۲ $6/4 \pm 0/7$ تیمار ۳ $1/3 \pm 0/5$ تیمار ۴ $7/8 \pm 0/4$ تیمار ۵ $6/2 \pm 0/3$ تیمار ۶ $9/8 \pm 0/6$ تیمار ۷ $11/3 \pm 0/7$ تیمار ۸ $6/2 \pm 0/3$ تیمار ۹ $7/9 \pm 0/6$ تیمار ۱۰ $2/2 \pm 0/2$ میلی‌متر تعیین شد. همچنین مقادیر MIC بین $0/25 - 0/125$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و محدوده MBC عصاره‌های مورد مطالعه در مواجهه با *Yersinia ruckeri* بین $0/5 - 0/25$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار داشت. نتایج اندازه‌گیری قطر هاله مهارتی در مواجهه با استرپتوکوکوس اینیایی نشان داد که قطر هاله مهارتی تتراسایکلین $10/2 \pm 0/2$ میلی‌متر و کلرامفنیکل $28/3 \pm 0/2$ میلی‌متر و برای تیمار ۱ تیمار ۲ تیمار ۳ تیمار ۴ تیمار ۵ تیمار ۶ تیمار ۷ تیمار ۸ تیمار ۹ تیمار ۱۰ به ترتیب $7/8 \pm 0/8$ ، $12/1 \pm 1/2$ ، $3/1 \pm 0/4$ ، $12/5 \pm 0/8$ ، $9/1 \pm 0/3$ ، $12/6 \pm 0/9$ ، $14/5 \pm 1/2$ ، $9/9 \pm 0/8$ ، $13/3 \pm 0/9$ و $3/1 \pm 0/2$ میلی‌متر تعیین شد. نیز مقادیر MIC و MBC عصاره‌های مورد مطالعه در مواجهه با استرپتوکوکوس اینیایی به ترتیب $0/5$ و $0/125$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد. **نتیجه‌گیری:** در این بررسی عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن اثرات ضدباکتریایی مناسبی علیه استرپتوکوکوس اینیایی و *Yersinia ruckeri* از خود نشان دادند؛ بنابراین عصاره‌های مذکور پس از انجام مطالعات تکمیلی می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های تجاری رایج برای درمان عفونت‌های ناشی از این دو باکتری در ماهی باشند.

کلمات کلیدی: آویشن، استرپتوکوکوس اینیایی، باکتری، ماهی، *Yersinia ruckeri*

* نویسنده مسئول: فرزانه بهادری

آدرس: استادیار بخش تحقیقات جنگلها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سمنان، سمنان، ایران

پست الکترونیک: f.bahadori@areeo.ac.ir

مقدمه

پرورش آبریان به‌عنوان یکی از فعالیت‌های مهم تولیدی در بسیاری از کشورهای جهان محسوب می‌شود. در این ارتباط کمبود منابع آبی سبب شده که در اکثر کشورها پرورش انبوه و متراکم جایگزین روش‌های نیمه متراکم و غیرمتراکم گردد (Mente and Symeonidou, 2024). اگر چه بیماری‌ها، رخدادی طبیعی در انواع موجودات به شمار می‌روند، اما پرورش متراکم ماهیان سبب شیوع انواع بیماری‌های غیرمنتظره شده است که در نهایت منجر به محدودسازی میزان تولید و افزایش ضرر و زیان اقتصادی می‌گردد (Assefa and Abunna, 2018). در میان عوامل بیماری‌زا، باکتری‌ها دارای اثرات اقتصادی بسیار مهمی هستند و به‌عنوان عمده‌ترین عامل محدودکننده در تولید، چه در طبیعت و چه در محیط پرورشی آبریان گزارش شده‌اند (Reverter et al., 2020). عفونت‌های استرپتوکوکی در ماهی یک بیماری سپتی سمیک است که سبب مرگ و میر بالا حتی بیش از ۷۵ درصد در صنعت تولید ماهیان گرمابی و سردابی می‌گردد (Mishra et al., 2018). این بیماری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی پرورش ماهی قزل‌آلا در کشور ما نیز محسوب می‌شود که سالانه خسارت زیادی تولیدکنندگان وارد می‌کند (Mishra et al., 2018). علاوه بر اهمیت بیماری در آبری پروری این بیماری یک تهدید برای سلامت عمومی انسان‌هایی که با آبریان سروکار دارند محسوب می‌شود (Faied and Ramezani 2020). بیماری یرسینیوزیس یا بیماری دهان قرمز انتروباکتریایی (دهان قرمز هگرم) یکی از بیماری

های باکتریایی مهم در صنعت آبری پروری است که سالیانه خسارات فراوانی به مزارع ماهیان سرد آبی و گرمابی وارد می‌سازد. عامل این بیماری باکتری گرم منفی *Yersinia ruckeri* بوده که تاکنون دو بیوتیپ و سویه‌های مختلف از آن شناسایی شده است که هر دو تیپ آن قادر به ایجاد بیماری در آبریان هستند (Tobback et al., 2007). با توجه به اینکه درمان شیمیایی و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم‌های پرورش متراکم آبریان به علت اثرات منفی فراوان از جمله مهار سیستم ایمنی و باقیماندن در بافت‌ها مورد انتقاد بوده است (Reverter et al., 2020). داروهای گیاهی با مزیت‌های مختلف از قبیل در دسترس بودن، سازگار بودن با محیط‌زیست و جانور، تجزیه خودبه‌خودی و امکان تولید در سطح وسیع باقیمت پایین امروزه در آبری پروری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Dawood et al., 2018). گیاه آویشن به‌عنوان یکی از گیاهان بومی ایران از زمان‌های گذشته در طب سنتی مورد استفاده بوده است. این گیاه یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی در بین محققان می‌باشد (Ribeiro et al., 2019). قسمت‌های درمانی گیاه آویشن، سرشاخه‌ها و برگ‌های خشک شده آن می‌باشد که از خواص دارویی آن در دامپزشکی می‌توان به اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی آن اشاره نمود. از این رو در سال‌های اخیر استفاده از آن به‌عنوان محرک ایمنی در صنعت آبری پروری روبه‌افزایش است (Salehi et al., 2018). اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا



به خوبی شناخته شده و امروزه نیز اثرات ضدباکتریایی بسیاری از ترکیبات گیاهی به اثبات رسیده است از جمله تاثیر عصاره هیدرو الکلی پونه کوهی *Mentha longifolia*، عصاره آب داغ جلبک سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*)، عصاره گیاهی گشنیز (*Coriandrum sativum*)، عصاره گیاه *Juniperus excelsa* روی یرسینیا را کری (Heydari et al., 2019, Zeraatpisheh et al., 2018, Farsani et al., 2021, Bilen et al., 2019)، اثرات ضدباکتریایی ترکیبات استخراج شده از دارچین (Ghorbani et al., 2015)، بر استرپتوکوکوس اینیایی به اثبات رسیده است. اهمیت بیماری آبزیان و همچنین گزارشات فراوان در خصوص خسارات ناشی از بروز بیماری های عفونی در مزارع پرورش ماهیان از یک سو و بروز مقاومت میکروبی در نتیجه استفاده بی رویه از آنتی بیوتیکها و سایر مواد شیمیایی جهت کنترل و درمان بیماری ها، تقاضا برای استفاده از مواد موثر جایگزین را افزایش داده است. یکی از راهکارهای مؤثر برای کنترل بیماری ها در سامانه های پرورش آبزیان، استفاده از عصاره ها و اسانس های گیاهی است؛ زیرا گیاهان دارویی به دلیل برخورداری از طیف گسترده ای از ترکیبات فعال زیستی از جمله فنول ها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها، می توانند نقش مهمی در مهار عوامل بیماری زا ایفا کنند (Kolygas et al., 2025). از سوی دیگر، ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان تحت تأثیر شرایط زیستی و اکولوژیک قرار داشته و ممکن است در مناطق مختلف به طور قابل توجهی متفاوت باشند. این تغییرات می تواند

به تنوع در پروفایل های متابولیت های ثانویه و در نتیجه تفاوت در فعالیت های ضد میکروبی و درمانی گیاه منجر شود (Pant et al., 2021). هدف این مطالعه بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره های گونه های مختلف آویشن بر باکتری های بیماری زای *Yersinia ruckeri* و *Streptococcus iniae* در ماهیان پرورشی است. فرضیه تحقیق براین اساس است که عصاره های آویشن قادر به مهار رشد و کشندگی این باکتری ها هستند و ممکن است برخی از آن ها توانایی مقایسه با آنتی بیوتیک های رایج را داشته باشند که می تواند به عنوان راهکار طبیعی در کنترل بیماری های باکتریایی در آبی پروری مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

شناسایی گیاهان مورد مطالعه

برای شناسایی گیاهان مورد مطالعه در آزمایش، ابتدا قسمت های مختلف گیاهان (برگ، گل و ساقه) به صورت تازه از مناطق مختلف کشور جمع آوری (جدول ۱) و پس از شناسایی نمونه ها توسط متخصصان گیاه شناسی در آزمایشگاه جنگل و مرتع مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان، اقدام به خشک نمودن گیاهان مورد نظر شد و قسمت های مختلف گیاهان در بین دو ورقه کاغذی قرار گرفتند و هر روز با انجام عمل هوادهی در بین دو ورقه، خشک شدند.



جدول ۱. معرفی گیاهان مورد مطالعه در آزمایش (مقادیر بر حسب میلی گرم بر گرم)

تیمارها	مشخصات گونه	منشا	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Rosmarinic acid	Ferulic acid
تیمار ۱	<i>Thymus lancifolius</i>	کردستان	۱/۰۱	۱/۶۷	۴۵/۲۰	۱/۱۲
تیمار ۲	<i>Thymus vulgaris</i>	تهران	۰/۹۷	۰/۲۹	۴۴/۶۶	۰/۷۰
تیمار ۳	<i>Thymus pubescens</i>	تهران	۰/۲۲	۰/۲۸	۱۹/۰۰	۰/۷۹
تیمار ۴	<i>Thymus lancifolius</i>	استان مرکزی	۲/۳۱	۲/۸۰	۵۱/۲۳	۱/۲۷
تیمار ۵	<i>Thymus daenensis/</i> <i>Thymus lancifolius</i>	اصفهان (فریدون شهر)	۱/۳۴	۰/۷۷	۳۷/۹۴	۱/۲۷
تیمار ۶	<i>Thymus daenensis</i>	استان مرکزی	بسیار کم	بسیار کم	۲۹/۴۰	۱/۰۴
تیمار ۷	<i>Thymus daenensis</i>	اصفهان (فریدون شهر)	۰/۲۱	۰/۴۰	۵۵/۱۶	۱/۳۸
تیمار ۸	<i>Thymus daenensis</i>	اصفهان (داران)	۰/۹۷	۱/۹۰	۳۳/۵۵	۱/۱۲
تیمار ۹	<i>Thymus pubescens</i>	همدان	۱/۲۸	۰/۱۰	۳۲/۱۴	۰/۷۹
تیمار ۱۰	<i>Thymus lancifolius</i>	لرستان (خرم‌آباد)	۰/۳۳	۰/۱۹	۲۹/۷۹	۰/۶۸

تهیه عصاره هیدرو الکلی گونه‌های مختلف گیاه آویشن

برای عصاره‌گیری از روش Păvăloiu و همکاران در سال ۲۰۲۰ با کمی تغییر استفاده گردید (Păvăloiu et al., 2020). ابتدا برگ‌های شده آسیاب و مقدار ۵۰ گرم آن در داخل کاغذ صافی بسته بندی و در قسمت محفظه استخراج دستگاه سوکسله قرار گرفت حلال مورد استفاده الکل اتیلیک ۷۰ درصد بود که به نسبت ۱:۱۰ نسبت به وزن نمونه (۵۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ برای ۵۰ گرم نمونه برگ پودر شده گیاه) به محفظه استخراج اضافه گردید. پس از روشن شدن گرم کن تا دمای ۵۵ درجه سانتیگراد بتدریج حلال تبخیر و بخارات حاصل به سمت کندانسور جریان یافته و عملیات تقطیر در این قسمت شروع شد. قطرات حاصل از میعان حلال از کندانسور بر روی نمونه گیاه ریخته و حلال با نمونه در

تماس مستقیم قرار گرفت و عملیات استخراج انجام شد. این چرخه تا زمانی که رنگ حلال در داخل محفظه استخراج شفاف شد ادامه یافت. زمان هر مرحله استخراج ۳-۴ ساعت بود. بعد از استخراج، عصاره از طریق دستگاه روتاری تغلیظ و حلال آن جدا شد.

باکتری

باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس اینیایی با شماره دستیابی K11 (HM055572) و باکتری گرم منفی یرسینیا راکری با شماره دستیابی KC291153 به فرم لیوفلیزه از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند. باکتری‌های فوق‌الذکر در محیط تریپتیک سوی براث کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند و در شرایط استریل هر یک از باکتری‌ها به محیط مولر هیتون براث اضافه شد و بعد



۴ میلی گرم در میلی لیتر اضافه نموده (Kačániová et al., 2021) و لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در گرم خانه نگهداری و بعد از سپری شدن زمان مذکور کدورت آنها بررسی و غلظت آخرین لوله ای که در مقایسه با شاهد شفاف بود و به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی MIC (Minimum Inhibitory Concentration) تعیین شد.

از ۲۴ ساعت گرم گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در مرحله لگاریتمی رشد باکتری، میزان کدورت ایجاد شده حاصل از رشد باکتری با استفاده از لوله استاندارد مک فارلند شماره ۰/۵ ($10^8 \times 1/5$) تنظیم و این سوسپانسیون به عنوان ذخیره در نظر گرفته شد و در هنگام مصرف در همان روز به نسبت ۱ به ۱۰۰ در همان محیط رقیق گردید ($10^6 \times 1/5$) (Mainasarsa et al., 2012).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی باکتریایی (MIC)

تعیین حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

حداقل غلظت باکتری کشی (Minimum Bactericidal Concentration) با توجه به مقادیر MIC هر یک از عصاره ها تعیین گردید. طوریکه میزان ۵ میکرولیتر از چاهک هایی که رشد باکتری ها در آنها متوقف شده بود، به پلیت های حاوی محیط کشت باکتری ها تریپتیک سوی آگار (Tryptic Soy Agar) انتقال داده شد و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در انکوباتور نگهداری شدند. پایین ترین غلظت عصاره ها که در آن ۹۹/۹٪ باکتری ها رشد نداشتند به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Domínguez-Borbor et al., 2020) تمام آزمایش ها سه بار تکرار و میانگین داده های به دست آمده به عنوان نتایج MIC و MBC ارائه گردید.

روش چاهک (Well method)

در روش چاهک از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ cfu/ml) بر سطح محیط کشت

به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی (MIC) توسط عصاره گونه های مختلف آویشن از روش رقت لوله ای استفاده گردید. در این روش برای تعیین MIC عصاره گیاهان برای هر کدام به صورت جداگانه یک سری ۱۰ تایی از لوله های آزمایش (هر باکتری به صورت جداگانه) مورد استفاده قرار گرفت. ۸ لوله برای آزمایش رقت های مختلف و یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی بکار رفت. ابتدا باکتری ها که در محیط Tryptic Soy Broth (TSB) کشت داده شده بودند، در شرایط استریل به محیط کشت مولر هینتون براث (Mueller Hinton Broth) در لوله های آزمایش اضافه و میزان کدورت حاصل از باکتری ها با استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ cfu/ml) تنظیم گردید. سپس به لوله های حاوی محیط کشت مولر هینتون براث همراه با باکتری یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی با غلظت های ۰/۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و



مولر هینتون آگار به صورت یکنواخت کشت داده شد و سپس با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن چاهک‌هایی با قطر ۷ میلی‌متر حفر شده و با سمپلر، ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ها (۱۰۰٪ آویشن‌ها) در چاهک‌ها ریخته شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تهیه شده از شرکت پادتن طب - ایران شامل: کلرامفنیکل (۲۰ میکروگرم) و تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) نیز در پلیت جداگانه بر روی محیط کشت قرار داده شدند، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. قطر هاله عدم رشد با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد و این عمل با سه تکرار انجام گرفت (Gonzalez-Pastor et al., 2023).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ مورد محاسبه قرار گرفت. مقایسه آماری داده‌ها بر اساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) وجود یا عدم وجود اختلاف بین تیمارها بررسی گردید. پس از مشاهده اختلاف معنی‌دار، تفاوت بین تکرارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت ($p < 0.05$).

نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده اثرات ضدباکتریایی مناسب عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن بر روی باکتری یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی بود، طوریکه این اثر در برخی عصاره‌ها قابل مقایسه با آنتی

بیوتیک‌های (تتراسایکلین و کلرامفنیکل) مورد استفاده بر علیه این باکتری‌ها بود. نتایج اندازه‌گیری قطر هاله مهار در مواجهه با باکتری یرسینیا راکری نشان داد که قطر هاله مهار تتراسایکلین 12.2 ± 0.2 میلی‌متر و کلرامفنیکل 22.2 ± 0.2 میلی‌متر و برای تیمار ۱/۳±۰/۵، تیمار ۲/۴±۰/۷، تیمار ۳/۹±۰/۶، تیمار ۴/۷±۰/۸، تیمار ۵/۸±۰/۹، تیمار ۶/۹±۰/۶، تیمار ۷/۸±۰/۴، تیمار ۸/۳±۰/۳، تیمار ۹/۲±۰/۶، تیمار ۱۰/۷±۰/۹ و تیمار ۱۱/۳±۰/۴، تیمار ۱۲/۲±۰/۲ میلی‌متر تعیین شد (جدول ۲). بر اساس نتایج حاصله، اندازه منطقه مهار رشد یرسینیا راکری تحت تاثیر آویشن *Thymus vulgaris* (اصفهان) و *Thymus kotschyanus* (قزوین) به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر را نشان دادند و در تیمار ۷، این میزان اختلاف معنی‌داری با تتراسایکلین نداشتند ($p > 0.05$). از سوی دیگر دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) ۴٪ به عنوان کنترل منفی سبب مهار رشد باکتری یرسینیا راکری نشد. همچنین نتایج نشان داد که محدوده MBC عصاره‌های مورد مطالعه در مواجهه با یرسینیا راکری بین ۰/۵-۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار داشت (جدول ۲). MIC تیمار ۱، ۳ و ۱۰ برای یرسینیا راکری ۰/۵ و برای سایر تیمارها ۰/۲۵ به دست آمد. همچنین مقادیر MIC بین ۰/۱۲۵-۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار داشت (جدول ۲). MIC تیمار ۱، ۳ و ۱۰ برای یرسینیا راکری ۰/۲۵ و برای سایر تیمارها ۰/۱۲۵ محاسبه شد (جدول ۲).



جدول ۲- ارزیابی مقایسه‌ای اثربخشی ضدباکتریایی تیمارهای مختلف بر باکتری *Yersinia ruckeri* بر اساس حداقل غلظت مهاری (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MBC) و قطر مناطق مهار رشد با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی استاندارد

تیمارها	میانگین منطقه مهار رشد (میلی متر)		کنترل منفی (کنترل منفی) (%۴DMSO)	MIC (میلی گرم بر میلی لیتر)	MBC (میلی گرم بر میلی لیتر)	تیمارها
	کنترل مثبت (کلرامفنیکل)	کنترل مثبت (تتراسایکلین)				
تیمار ۱	۳/۹±۰/۶ ^a	۲۲/۲±۰/۱	۱۲/۱±۰/۲	-	۰/۲۵	تیمار ۱
تیمار ۲	۶/۴±۰/۷ ^b	۲۲/۴±۰/۲	۱۲/۳±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۲
تیمار ۳	۱/۳±۰/۵ ^a	۲۲/۱±۰/۳	۱۲/۱±۰/۴	-	۰/۲۵	تیمار ۳
تیمار ۴	۷/۸±۰/۴ ^{bc}	۲۲/۳±۰/۱	۱۲/۳±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۴
تیمار ۵	۶/۲±۰/۳ ^b	۲۲/۳±۰/۳	۱۲/۱±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۵
تیمار ۶	۹/۸±۰/۶ ^c	۲۲/۴±۰/۳	۱۲/۳±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۶
تیمار ۷	۱۱/۳±۰/۷ ^c	۲۲/۵±۰/۲	۱۲/۴±۰/۴	-	۰/۱۲۵	تیمار ۷
تیمار ۸	۶/۲±۰/۳ ^b	۲۲/۲±۰/۲	۱۲/۳±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۸
تیمار ۹	۷/۹±۰/۶ ^{bc}	۲۲/۱±۰/۲	۱۲/۳±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۹
تیمار ۱۰	۲/۲±۰/۳ ^a	۲۲/۲±۰/۲	۱۱/۹±۰/۳	-	۰/۲۵	تیمار ۱۰

در هر ستون حروف غیرمشابه روی میانگین‌ها نشانه اختلاف معنی دار بین آنها در سطح ۵ درصد است

جدول ۳- ارزیابی مقایسه‌ای اثربخشی ضدباکتریایی تیمارهای مختلف بر باکتری *Streptococcus iniae* بر اساس حداقل غلظت مهاری (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MBC) و قطر مناطق مهار رشد با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی استاندارد

تیمارها	میانگین منطقه مهار رشد (میلی متر)		کنترل منفی (کنترل منفی) (%۴DMSO)	MIC (میلی گرم بر میلی لیتر)	MBC (میلی گرم بر میلی لیتر)	تیمارها
	کنترل مثبت (کلرامفنیکل)	کنترل مثبت (تتراسایکلین)				
تیمار ۱	۷/۸±۰/۸ ^b	۲۸/۳±۰/۲	۱۰/۲±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۱
تیمار ۲	۱۲/۱±۰/۳ ^c	۲۸/۲±۰/۲	۱۰/۴±۰/۱	-	۰/۱۲۵	تیمار ۲
تیمار ۳	۳/۱±۰/۴ ^a	۲۸/۳±۰/۱	۱۰/۲±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۳
تیمار ۴	۱۲/۵±۰/۸ ^c	۲۸/۴±۰/۲	۱۰/۲±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۴
تیمار ۵	۹/۱±۰/۳ ^b	۲۸/۴±۰/۲	۱۰/۳±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۵
تیمار ۶	۱۲/۶±۰/۹ ^c	۲۸/۵±۰/۳	۱۰/۴±۰/۱	-	۰/۱۲۵	تیمار ۶
تیمار ۷	۱۴/۵±۰/۳ ^c	۲۸/۴±۰/۳	۱۰/۵±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۷
تیمار ۸	۹/۹±۰/۸ ^b	۲۸/۱±۰/۳	۱۰/۲±۰/۳	-	۰/۱۲۵	تیمار ۸
تیمار ۹	۱۳/۳±۰/۹ ^c	۲۸/۲±۰/۲	۱۰/۲±۰/۲	-	۰/۱۲۵	تیمار ۹
تیمار ۱۰	۳/۱±۰/۳ ^a	۲۷/۸±۰/۳	۱۰/۱±۰/۱	-	۰/۱۲۵	تیمار ۱۰

در هر ستون حروف غیرمشابه روی میانگین‌ها نشانه اختلاف معنی دار بین آنها در سطح ۵ درصد است

عصاره های گیاهی مورد مطالعه در محیط تریپتیک سوی
آگار در تیمار ها ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر تعیین گردید
(جدول ۳). بررسی حداقل غلظت ممانعت کنندگی و
حداقل غلظت کشندگی باکتری استرپتوکوکوس اینیایی
نشان می دهد میزان آن در عصاره های گیاهان مورد

بر اساس نتایج حاصل، مقادیر حداقل غلظت ممانعت
کنندگی از رشد (MIC) باکتری استرپتوکوکوس اینیایی
توسط گونه های مختلف آویشن در محیط مولر هیتون
آگار در تیمار ها ۰/۱۲۵ و مقادیر حداقل غلظت
کشندگی (MBC) باکتری استرپتوکوکوس اینیایی با



بررسی اختلاف معنی داری با هم ندارند ($p > 0/05$). نتایج اندازه گیری قطر هاله مهارى در مواجهه با باکتری استرپتوکوکوس اینیایی نشان داد که قطر هاله مهارى تتراسایکلین $10/2 \pm 0/2$ میلی متر و کلرامفنیکل $28/3 \pm 0/2$ میلی متر و برای تیمار ۱، تیمار ۲، تیمار ۳، تیمار ۴، تیمار ۵، تیمار ۶، تیمار ۷، تیمار ۸، تیمار ۹ و تیمار ۱۰ به ترتیب $7/8 \pm 0/8$ ، $12/1 \pm 1/2$ ، $3/1 \pm 0/4$ ، $12/5 \pm 0/8$ ، $9/1 \pm 0/3$ ، $12/6 \pm 0/9$ ، $3/1 \pm 0/2$ و $13/3 \pm 0/9$ میلی متر تعیین شد (جدول ۳). همانطور که نتایج نشان داد، بیشترین و کمترین قطر هاله مهارى رشد استرپتوکوکوس اینیایی به ترتیب در تیمارهای ۷ و تیمار ۳ و ۱۰ بدست آمد (جدول ۳). در تیمارهای ۲، ۴، ۶، ۷ و ۹ قطر هاله مهارى به طور معنی داری در سطح بالاتری از تتراسایکلین قرار داشتند ($p < 0/05$). قطر هاله مهارى رشد استرپتوکوکوس اینیایی با استفاده از کلرامفنیکل بسیار بیشتر از عصاره های گیاهی مورد مطالعه بود. همچنین DMSO ۴٪ به عنوان کنترل منفی سبب مهار رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی نشد.

بحث

در حال حاضر یرسینیوزیس و استرپتوکوکوزیس از بیماری‌های مهم باکتریایی در سطح مزارع سرد آبی به شمار می‌رود، طوریکه یرسینیوزیس بعد از استرپتوکوکوزیس در صدر بیماری‌های باکتریایی هستند. حداقل ۲۵ مورد عفونت انسانی ناشی از استرپتوکوکوس اینیایی عامل عفونی زای مشترک در ماهیان و انسان می‌باشد که یکی از پاتوژن‌های نوظهور

مهم در دهه‌های اخیر بوده است (Costa et al., 2012). در سال ۱۳۹۰، ۱۵ مورد همه‌گیری از بیماری یرسینیوزیس در سطح مزارع ماهیان سرد آبی کشور به طور رسمی گزارش و به تائید رسیده است (Zorriehzahra et al., 2012)؛ بنابراین توجه به برنامه‌ریزی موثر و عملی در جهت کنترل این بیماری‌ها پیش از پیش احساس می‌شود. با مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک توسط افراد غیرمتخصص، افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جنس‌های مختلف باکتری گزارش شد و این امر یکی از مشکلات مهم در صنعت آبرزی پروری می‌باشد. به همین دلیل امروزه رویکرد محققین به سمت شناسایی ترکیبات جایگزین با قدرت تاثیر مشابه با آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر *Yersinia ruckeri* و *Streptococcus iniae* دارند، به‌طوری‌که برخی اثرات قابل مقایسه با تتراسایکلین و کلرامفنیکل بودند. بیشترین قطر هاله مهارى برای *Y. ruckeri* با *Thymus vulgaris* (اصفهان) و کمترین با *Thymus kotschyanus* (قزوین) مشاهده شد. مقادیر MIC و MBC نشان‌دهنده مهار و کشندگی مؤثر باکتری‌ها بود و DMSO (۴٪) اثر ضدباکتریایی نداشت. یکی از مهم‌ترین ترکیباتی که محققین بسیاری بر روی آن‌ها بررسی می‌کنند، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است (Mulat et al., 2019, Sharafati Chaleshtori et al., 2015).



خاصیت ضد میکروبی گیاهان عموماً به دلیل حضور ترکیبات فنولی، ساپونین، تانن و فلاونوئیدهای موجود در ساختارهای آنها می باشد که با تاثیر بر روی غشای پلاسمایی و سلولی میکروارگانیسم ها و یا با مهار آنزیم های ساختاری غشای سلولی آنها خاصیت ضد میکروبی خود را اعمال می نمایند (Davidova et al., 2024).

مطالعات مختلفی در مورد خواص ضد میکروبی گیاهان بر باکتری بیماری زای ماهی صورت پذیرفت. Yin و همکاران در سال ۲۰۲۲ با بررسی فعالیت ضد باکتریایی تیمول علیه *Streptococcus iniae* مقاوم به دارو و اثر حفاظتی آن بر گربه ماهی (*Ictalurus punctatus*) نشان دادند که تیمول (استخراج شده از آویشن) دارای اثرات ضد باکتری قابل توجهی علیه *S. iniae* است. این ترکیب گیاهی با تخریب غشا و دیواره سلولی، ایجاد نشت مولکول های حیاتی و اختلال در متابولیسم و فرآیندهای تکثیر DNA، رشد باکتری را مهار می کند. علاوه بر این، تیمول توانست پاسخ ایمنی غیر اختصاصی میزبان را در گربه ماهی تقویت نموده و میزان مرگ و میر ناشی از عفونت را کاهش دهد. این یافته ها حاکی از آن است که تیمول می تواند به عنوان یک جایگزین طبیعی و مؤثر برای آنتی بیوتیک ها در مدیریت عفونت های مقاوم به دارو در آبی پروری مورد استفاده قرار گیرد. نتایج مطالعه Amer و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان می دهد که روغن اسانسی آویشن (*Thymus vulgaris*) دارای فعالیت ضد باکتریایی چشمگیر علیه گونه های مختلف *Streptococcus* در تیلایا است. بیشترین اثر مهاری این

روغن در غلظت های بالاتر بر *S. agalactiae* مشاهده شد، در حالی که فعالیت آن علیه *S. iniae* و *S. fecalis* در مقایسه با آنتی بیوتیک استاندارد جنتامایسین کمتر بود. این یافته ها اهمیت TEO را به عنوان یک عامل طبیعی بالقوه در کنترل استرپتوکوزیس تیلایا تأیید می کند، اگرچه شدت اثر آن به گونه باکتری و غلظت روغن بستگی دارد. در مطالعه Safari و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی فعالیت ضد باکتری اسانس های زو لنگک، اناریجه، آویشن شیرازی، زیره سیاه و سیر به روش تست آنتی بیو گرام و حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، نتایج بیانگر قطر هاله بالا در همه اسانس ها علیه استرپتوکوکوس اینیایی بود که حداقل غلظت کشندگی در این اسانس ها به ترتیب ۱، ۱، ۱، ۰/۲۵، ۰/۱۲ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و مقادیر حداقل بازدارندگی بر ای اسانس های مذکور به ترتیب ۰/۵، ۰/۵، ۰/۰۶، ۰/۰۶ و ۰/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر و قطر هاله رشد به ترتیب ۱۸، ۱۷، ۳۲، ۲۲ و ۲۷ میلی متر تعیین شد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محدوده حداقل غلظت کشندگی عصاره های مورد مطالعه در مواجهه با یرسینیا راکری بین ۰/۲۵-۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر قرار داشت و مقادیر حداقل غلظت مهار کنندگی بین ۰/۱۲۵-۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر بود. همچنین به ترتیب کمترین و بیشترین قطر مهاری رشد باکتری یرسینیا راکری برای عصاره *Thymus pubescens* از تهران و *Thymus daenensis* از اصفهان (فریدونشهر) بود. همچنین کمترین و بیشترین قطر مهاری رشد باکتری



مطالعات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان حساس‌تر هستند که می‌تواند ناشی از عدم وجود دیواره سلولی و سطح هیدروفیلی غشای خارجی غنی از مولکول‌های لیپوپیلی ساکارید در باکتری‌های گرم مثبت باشد (Sanchooli and Rigi 2015). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نیز حاکی از حساس‌تر بودن باکتری گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی علیه *Yersinia ruckeri* و *Streptococcus iniae* هستند، به گونه‌ای که در برخی عصاره‌ها، میزان مهار رشد باکتری‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد همچون تتراسایکلین و کلرامفنیکل قابل مقایسه بود. بیشترین اثر ضدباکتریایی در مواجهه با *Y. ruckeri* متعلق به عصاره *Thymus vulgaris* و کمترین اثر مربوط به *Thymus kotschyanus* بود، درحالی که در مواجهه با *S. iniae*، بیشترین و کمترین قطر هاله مهار به ترتیب متعلق به عصاره‌های *Thymus lancifolius* و *Thymus pubescens* بود. مقادیر MIC و MBC نشان داد که این عصاره‌ها توانایی مهار و کشتن مؤثر باکتری‌ها را دارند، و کنترل منفی DMSO ۴٪ تأثیری بر رشد باکتری‌ها نداشت. این یافته‌ها تأیید می‌کنند که عصاره‌های آویشن، با ترکیبات فعال فنولی، تانی و فلاونوئیدی خود، قادرند با تأثیر بر غشا و ساختارهای

استرپتوکوکوس اینیایی برای عصاره *Thymus pubescens* از تهران و *Thymus lancifolius* از لرستان (خرم آباد) و *Thymus daenensis* از اصفهان (فریدونشهر) بود و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها در مواجهه با استرپتوکوکوس اینیایی ۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر و حداقل غلظت مهار کنندگی ۰/۱۲۵ میلی گرم در میلی لیتر قرار داشت.

Hassani و همکاران در سال ۲۰۲۳ طی مطالعه‌ای اثر ضد باکتریایی سه اسانس گیاهی کاکوتی کوهی، آویشن باغی و رزماری را بررسی کردند. آنها یافتند اسانس این گیاهان رشد باکتری یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی را مهار می‌کند. در مطالعه‌ای که توسط Seyyed Hosseini و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های آویشن، زیره، دارچین و سیر بر روی *Streptococcus iniae* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر مهار بر رشد این باکتری بیشترین میزان اثر بخشی را به ترتیب برای اسانس سیر، آویشن، زیره و در نهایت دارچین داشته است، که اهمیت ترکیبات طبیعی گیاهی را در کنترل عفونت‌های باکتریایی نشان می‌دهد.

در مطالعات صورت گرفته دیگر، اثرات ضد میکروبی عصاره یا اسانس آویشن شیرازی بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی از قبیل *Proteus vulgaris*، *Sh. flexneri*، *Salmonella typhi*، *Escherichia coli*، *Bacillus cereus*، *S. aureus* به اثبات رسیده است (Fazeli et al., 2007, Misaghi and Akhundzadeh 2007).



- resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Diseases*, **44**(6), 729–738. DOI:10.1111/jfd.132935 .
4. Costa, G., Danz, H., Kataria, P., & Bromage, E. 2012. A holistic view of the dynamisms of teleost IgM: A case study of *Streptococcus iniae* vaccinated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Developmental & Comparative Immunology*, **36**, 298–305. DOI:10.1016/j.dci.2011.04.011
 5. Davidova, S., Galabov, A. S., & Satchanska, G. 2024. Antibacterial, antifungal, antiviral activity, and mechanisms of action of plant polyphenols. *Microorganisms*, **12**(12), 2502. DOI: 10.3390/microorganisms12122502
 6. Dawood, M. A., Koshio, S., & Esteban, M. Á. 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: A review. *Reviews in Aquaculture*, **10**(4), 950–974. DOI:10.1111/raq.12209
 7. Domínguez-Borbor, C., Sánchez-Rodríguez, A., Sonnenholzner, S., & Rodríguez, J. 2020. Essential oils mediated antivirulence therapy against vibriosis in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **529**, 735639. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735639
 8. Faied, M., & Ramezani, B. 2020. Bacterial investigation of infected fish with *Streptococcus* and evaluation of their antibiotic resistance in rainbow trout in Guilan province. *Journal of Aquaculture Development*, **3**(14), 1–11. DOI: 10.22034/ascij.2021.687826 [In Persian]
 9. Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., & Van Doan, H. 2019. Dietary effects of *Coriandrum* سلولی باکتری‌ها خاصیت ضد میکروبی خود را اعمال کنند. همچنین، مشاهدات حاکی از آن است که باکتری‌های گرم مثبت (*S. iniae*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*Y. ruckeri*) حساس‌تر هستند که با یافته‌های پیشین در زمینه فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی همخوانی دارد. پیشنهاد می‌شود که مطالعات وسیع‌تر و دامنه‌دارتری در شرایط *In vivo* (بالینی) در مزارع پرورش آبزیان صورت گیرد و پس از مشخص شدن دوز موثر، ماده مؤثره اصلی، عامل آنتی باکتریال و مکانیسم اثر عصاره‌های گونه‌های مختلف آویشن مذکور به عنوان مواد ضد میکروبی طبیعی به صنعت آبزی‌پروری کشور معرفی گردد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است

منابع

1. Amer, M., El Asely, A. M., & Shaheen, A. 2024. Assessing the antibacterial properties of thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil against *Streptococcus* spp. isolated from clinical cases in Nile tilapia: an in vitro study. *Benha Veterinary Medical Journal*, **47**(2), 7–11. DOI: 10.21608/bvmj.2024.319051.1870
2. Assefa, A., & Abunna, F. 2018. Maintenance of fish health in aquaculture: Review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish. *Veterinary Medicine International*, 2018, 5432497. DOI:10.1155/2018/5432497
3. Bilen, S., Ispir, S., Kenanoglu, O. N., Taştan, Y., Güney, K., & Terzi, E. 2021. Effects of Greek juniper (*Juniperus excelsa*) extract on immune responses and disease



- aquatic animals. *Experimental Animal Biology*, **11**(3), 55–66. DOI:10.30473/eab.2023.62409.186 3.
14. Heydari, M., Firouzbakhsh, F., & Paknejad, H. 2020. Effects of *Mentha longifolia* extract on some blood and immune parameters, and disease resistance against yersiniosis in rainbow trout. *Aquaculture*, **515**, 734586. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734586
15. Kačániová, M., Klūga, A., Terentjeva, M., Kunová, S., Rovná, K., Žiarovská, J., & Gálovičová, L. 2021. Antimicrobial activity of selected essential oils against bacteria isolated from freshwater fish. *Advanced Research in Life Sciences*, **5**, 1–11. DOI:10.2478/arls-2021-0023
16. Kolygas, M. N., Bitchava, K., Nathanailides, C., & Athanassopoulou, F. 2025. Phytochemicals: Essential oils and other extracts for disease prevention and growth enhancement in aquaculture: Challenges and opportunities. *Animals*, **15**(18), 2653. DOI: 10.3390/ani15182653
17. Mainasarsa, M. M., Aliero, B. L., Aliero, A. A., & Yakubu, M. 2012. Phytochemical and antibacterial properties of root and leaf extracts of *Calotropis procera*. *NJBAS*, **20**, 1–6.
18. Misaghi, A., & Akhundzadeh Basti, A. 2007. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and Nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control*, **18**, 1043–1049. DOI:10.1016/j.foodcont.2006.06.010
19. Mishra, A., Nam, G. H., Gim, J. A., Lee, H. E., Jo, A., & Kim, H. S. 2018. Current challenges of *Streptococcus* infection and effective molecular, cellular, and sativum extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, **91**, 233–240. DOI:10.1016/j.fsi.2019.05.031
10. Fazeli, M. R., Amin, G., Ahmadian Attari, M. M., Ashtiani, H., Jamalifar, H., & Samadi, N. 2007. Antimicrobial activities of Iranian sumac and Avishan-e shirazi: Chemical composition of essential oil *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Control*, **48**, 1562–1567. DOI:10.1016/j.foodcont.2006.03.002
11. Ghorbani Darabad, S., Mohsenifar, A., Yazdanparast, S. R., & Bayat, M. 2015. Antimicrobial effects of *Lavandula angustifolia* Mill, *Artemisia sieberi* Besser, *Cinnamomum verum* Presl, and *Myrtus communis* L. encapsulated essential oils against prevalent microorganisms causing sinusitis. *Thrita*, **4**, 2–12. DOI:10.5812/thrita.4(2)2015.24773
12. Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S. E., Zúñiga-Miranda, J., Rodríguez-Pólit, C., Mayorga-Ramos, A., Guamán, L. P., & Barba-Ostria, C. 2023. Current landscape of methods to evaluate antimicrobial activity of natural extracts. *Molecules*, **28**(3), 1068. DOI: 10.3390/molecules28031068
13. Hassani, F., Abyavi, T., Taheri Mirghaed, A., Payghan, R., & Alishahi, M. 2023. Evaluation of antifungal and antibacterial activity of essential oils of *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Salvia rosmarinus* to some fungal and bacterial pathogens of



26. Safari, R., Adel, M., Menji, H., Chaliche, H. R., & Nemat Elahi, A. 2022. Investigating the antibacterial effects of some essential plants native to the country against *Streptococcus iniae* bacteria in laboratory conditions. *Aquatic Ecology*, **4**(4), 33–40. DOI:10.30495/qafj.2022.1964290.1033
27. Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. D. M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., & Nasrabadi, N. N. 2018. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*, **32**(9), 1688–1706. DOI:10.1002/ptr.6109
28. Sanchooli, N., & Rigi, M. 2015. The effect of plant extracts *Prosopis farcta*, *Datura stramonium*, and *Calotropis procera* against three species of fish pathogenic bacteria. *Journal of Veterinary Research*, **70**(4), 455–462.
29. Seyyed Hosseini, H., Yahyavi, M., & Yazdan Panah Goharrizi, L. 2020. The effect of essential oils of thyme, cumin, cinnamon, and garlic on *Streptococcus iniae* in the external environment. *Quarterly Scientific Animal & Environment Research*, **12**(2), 275–282.
30. Sharafati Chaleshtori, R., Rafieian-Kopaei, M., & Salehi, E. 2015. Bioactivity of *Apium petroselinum* and *Portulaca oleracea* essential oils as natural preservatives. *Jundishapur Journal of Microbiology*, **8**(3). DOI:10.5812/jjm.20128
31. Symeonidou, S., & Mente, E. 2024. Water consumption and the water footprint in aquaculture: A review. *Water*, **16**(23), 20734441. DOI: 10.3390/w16233376
- 32.
33. Tobback, E., Decostere, A., Hermans, K., Haesebrouck, F., & environmental control methods in aquaculture. *Molecular & Cellular Toxicology*, **14**(3), 279–288. DOI:10.1007/s13273-018-0028-y
- 20.
21. Mulat, M., Pandita, A., & Khan, F. 2019. Medicinal plant compounds for combating multi-drug resistant pathogenic bacteria: A review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **20**(3), 183–196. DOI:10.2174/1872210513666190308133429
22. Pant, P., Pandey, S., & Dall'Acqua, S. 2021. The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: A literature review. *Chemistry & Biodiversity*, **18**(11), e2100345. DOI: 10.1002/cbdv.202100345
23. Păvăloiu, R. D., Sháat, F., Bubueanu, C., Deaconu, M., Neagu, G., Sháat, M., Anastasescu, M., Mihailescu, M., Matei, C., Nechifor, G., & Berger, D. 2020. Polyphenolic extract from *Sambucus ebulus* L. leaves free and loaded into lipid vesicles. *Nanomaterials*, **10**(1), 56. DOI:10.3390/nano10010056
24. Reverter, M., Sarter, S., Caruso, D., Avarre, J. C., Combe, M., Pepey, E., & Gozlan, R. E. 2020. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. *Nature Communications*, **11**(1), 1870. DOI:10.1038/s41467-020-15735-6
25. Ribeiro, A. D. B., Ferraz, M. V. C., Polizel, D. M., Miszura, A. A., Gobato, L. G. M., Barroso, J. P. R., Susin, I., & Pires, A. V. 2019. Thyme essential oil for sheep: Effect on rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and growth. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **71**, 2065–2074. DOI:10.1590/1678-4162-10792



- hematological parameters and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Yersinia ruckeri*. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 2029–2037. DOI:10.1007/s10811-018-1395-4
36. Zorriehzahra, M. J., Hassan, H. M. D., Nazari, A., Gholizadeh, M., & Farahi, A. 2012. Assessment of environmental factors effects on enteric redmouth disease occurrence in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Hamedan province, Iran. *Journal of Comparative Clinical Pathology Research*, 3, 79–85.
- Chiers, K. 2007. *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *Fish Disease*, 30, 257–268. DOI:10.1111/j.1365-2761.2007.00816.x
34. Yin, L., Liang, C., Wei, W., Huang, S., Ren, Y., Geng, Y., & Ouyang, P. 2022. The antibacterial activity of thymol against drug-resistant *Streptococcus iniae* and its protective effect on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Frontiers in Microbiology*, 13, 914868. DOI: 10.3389/fmicb.2022.914868
35. Zeraatpisheh, F., Firouzbakhsh, F., & Jani Khalili, Kh. 2018. Effect of the macroalga *Sargassum angustifolium* hot water extract on

Evaluation of the Antibacterial Effects of Extracts from Different Thyme Species on *Yersinia ruckeri* and *Streptococcus iniae* in Farmed Fish

Mohadeseh heydari¹, Farzaneh bahadori^{2*}

1. Researcher of Animal Sciences Research Department, Semnan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Semnan, Iran

2. Assistant Professor of Forestry and Rangeland Research Department, Agricultural and Natural Resources Research Center, Semnan Education and Extension Organization, Semnan, Iran

Received: 29 January 2025

Accepted: 30 November 2025

Extended Abstract

Introduction: Thyme can be considered a suitable alternative to antibiotics, as it may have fewer side effects. The present study aimed to evaluate the antibacterial effect of thyme on *Yersinia ruckeri* and *Streptococcus iniae*. **Materials and methods:** To determine the antibacterial potency of the extracts, the standard methods of well diffusion assay, determination of minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) were used, with tetracycline and chloramphenicol serving as standards.

Results: The results of the inhibition zone measurements against *Yersinia ruckeri* showed that the inhibition zone diameters for tetracycline and chloramphenicol were 12.2 ± 0.2 mm and 22.2 ± 0.2 mm, respectively. For treatments 1 to 10, the inhibition zone diameters were 3.9 ± 0.6 , 4.6 ± 0.7 , 3.1 ± 0.5 , 7.8 ± 0.4 , 2.6 ± 0.3 , 8.9 ± 0.6 , 11.3 ± 0.7 , 2.6 ± 0.3 , 9.7 ± 0.6 , and 2.2 ± 0.2 mm, respectively. Additionally, MIC values ranged from 0.25 to 1.25 mg/mL, and the MBC values of the tested extracts against *Yersinia ruckeri* ranged from 0.5 to 2.5 mg/mL. The results of the inhibition zone measurements against *Streptococcus iniae* indicated that the inhibition zone diameters for tetracycline and chloramphenicol were 10.2 ± 0.2 mm and 28.3 ± 0.2 mm, respectively. For treatments 1 to 10, the inhibition zone diameters were 7.8 ± 0.8 , 12.1 ± 1.2 , 1.3 ± 0.4 , 12.5 ± 0.8 , 1.9 ± 0.3 , 12.6 ± 0.9 , 14.5 ± 1.2 , 9.8 ± 0.8 , 13.3 ± 0.9 , and 1.3 ± 0.2 mm, respectively. The MIC and MBC values of the tested extracts against *Streptococcus iniae* were 0.125 mg/mL and 0.5 mg/mL, respectively. In this study, extracts of different thyme species exhibited significant antibacterial effects against *Streptococcus iniae* and *Yersinia ruckeri*.

Conclusion: Therefore, after further studies, these extracts could serve as suitable alternatives to conventional commercial antibiotics for the treatment of infections caused by these two bacteria in fish.

Keywords: Bacteria, Fish, *Streptococcus iniae*, Thyme, *Yersinia ruckeri*

* Corresponding Author: Farzaneh bahadori

Address: Assistant Professor of Forestry and Rangeland Research Department, Agricultural and Natural Resources Research Center, Semnan Education and Extension Organization, Semnan, Iran.

Email: f.bahadori@areeo.ac.ir

