



## بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*) علیه برخی از باکتری‌های بیماری‌زای ماهی

علی طاهری میرقاند<sup>۱\*</sup>، طاهره عیبی‌اوی<sup>۲</sup>، فریدون حسینی<sup>۲</sup>، شفیق شفیعی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

<sup>۲</sup> گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

<sup>۳</sup> گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

### چکیده

نوع مقاله:

کوتاه

در این مطالعه اثر اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum*) در باکتری‌های بیماری‌زای ماهی با روش‌های انتشار از دیسک، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و کشندگی (MBC) بررسی گردید. بیشترین میزان MIC و MBC در باکتری *Yersinia ruckeri* راکری و *Yersinia ruckeri* و *Vibrio parahaemolyticus* و کمترین مقادیر در باکتری‌های *Aeromonas hydrophila* و *Aeromonas veronii* و *Aeromonas veronii* و *Streptococcus iniae* به دست آمد. بیشترین و کمترین هاله‌ی مهاری برای باکتری *Streptococcus iniae* و *Streptococcus iniae* اینیایی و *Yersinia ruckeri* ثبت گردید. بر این اساس اسانس زیره سیاه را می‌توان پس از مطالعات تکمیلی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی پیشنهاد نمود.

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۶/۰۵

اصلاح: ۹۵/۱۰/۲۸

پذیرش: ۹۶/۰۲/۲۹

کلمات کلیدی:

اسانس

آنتی‌بیوتیک

زیره سیاه

### مقدمه

عوامل بیماری‌زای باکتریایی در ماهی سبب بروز خسارت‌های اقتصادی فراوانی به صنعت آبزی‌پروری گردیده است که در این میان عوامل بیماری‌زایی مانند *استرپتوکوکوس اینیایی*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *یرسینیا راکری* به‌عنوان عوامل ایجادکننده بیماری مشترک در جوامع انسانی نیز مطرح می‌باشند و محدودی میزبانی آن‌ها محدود به آبزیان نیست (Gauthier, 2015). از سوی دیگر استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری باعث تجمع زیستی این ترکیبات در بافت‌های خوراکی ماهیان و ظهور عوامل بیماری‌زای باکتریایی مقاوم به دارو در این صنعت شده است. از این‌رو استفاده از عوامل درمانی جایگزین جهت پیشگیری از وقوع بیماری در مزارع ماهی و به حداقل رساندن ضرر اقتصادی آن ضروری به نظر می‌رسد. در سال‌های اخیر استفاده از موادی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی به دلیل در دسترس بودن، خطر کمتر برای محیط‌زیست و قیمت پایین‌تر، روندی رو به رشد در صنعت آبزی‌پروری داشته و برای مقابله با بیماری‌های آبزیان مورد توجه قرار گرفته است (Dugenci et al., 2003). گیاهان دارویی و فرآورده‌های آن‌ها به دلیل وجود ترکیبات فنولیک، پلی فنولیک، آلکالوئید، کوبینون، ترپنوئید، لکتین و بسیاری از ترکیبات پلی پپتیدی منجر به بهبود شاخص‌های رشد، افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی، بیماری‌های عفونی مختلف و تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی آبزیان می‌شوند و به‌عنوان جایگزین

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [Mirghaed@ut.ac.ir](mailto:Mirghaed@ut.ac.ir)

مؤثری برای ترکیبات سنتتیک مطرح می‌باشند (Rao et al., 2006). زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*) گیاهی دولپه، چندساله و معطر از خانواده چتریان (Apiaceae) می‌باشد. زیستگاه طبیعی این گیاه در سطح جهان، آسیای مرکزی، غربی، اروپای جنوب شرقی بوده و دامنه انتشار این گیاه در ایران مربوط به استان‌های تهران، سمنان، کرمان، خراسان و دامنه شرقی زاگرس می‌باشد (Moravej et al., 2009). از خواص دارویی مهم این گیاه می‌توان به درمان اختلالات گوارشی و تنفسی، شکستگی استخوان، داروی ضد تشنج و تب بر، کاهش چربی و کلسترول خون و ضد آلرژی اشاره نمود (Boskabady and Moghaddas, 2004; Ranjbaran et al., 2005). از ترکیبات مهم و مواد مؤثر گیاه زیره سیاه می‌توان به کومین آلدئید، گاما ترپینن، پارا سیمین، بتا-پینن، آلفا-پینن، میرسن و لیمونن اشاره نمود که کاربرد فراوانی به‌عنوان مواد آنتی باکتریال و آنتی‌اکسیدان دارند (Foroumadi et al., 2002). اسانس زیره سیاه خاصیت آنتی‌اکسیدان و آنتی باکتریال داشته و به‌صورت گسترده در طعم‌دهنده‌های غذا، نوشابه، شکلات و پنیر استفاده می‌شود (Shahsavari et al., 2008; Oroojalian et al., 2008). با توجه به خواص فوق‌الذکر و عوارض جانبی ناشی از استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، این گیاه می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی در ماهیان پرورشی باشد. از این‌رو در این تحقیق اثرات ضد میکروبی اسانس زیره سیاه بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### تهیه و آماده‌سازی اسانس گیاهی

در این مطالعه ابتدا ۱۰۰ گرم بذر زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*) در محیط خشک (تاریک) و در جریان هوا خشک شد و سپس آسیاب و به‌صورت پودر در آمد. پودر به‌دست‌آمده در بالن یک لیتری ریخته شده و به آن ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) استخراج و توسط فیلتر استریل (۰/۴ میکرومتر) صاف و تا زمان استفاده در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد (Sivam, 2001).

### سویه‌های مورد آزمایش

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این بررسی شامل *استرپتوکوکوس اینیایی* GQ850377، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* ATCC 17802، *یرسینیا راکری* Ir-MS4، *لاکتوکوکوس گارویه* GQ850376، *آنروموناس هیدروفیلا* ATCC 7966T و *آنروموناس ورونی* (Soltani and Ebrahimzadeh musavi, 1996) بودند که از آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند.

### بررسی قدرت ضد باکتریایی اسانس به روش چاهک گذاری در پلیت

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس، به روش چاهک گذاری در پلیت انجام شد. بدین منظور سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند (غلظت تقریبی  $10^8 \times 1/5$ ) تهیه و در شرایط کاملاً استریل به‌صورت سطحی بر روی محیط ژلوز خون‌دار کشت داده شد. در ادامه در پلیت‌ها توسط پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر تقریبی ۶ میلی‌متر با فاصله مناسب از دیواره پلیت حفر شد. در هر چاهک ۱۰ میکرو لیتر از اسانس رقیق نشده‌ی زیره سیاه ریخته شد (Soltani et al., 2013). در این مطالعه، از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (۱۰ میکروگرم) برای کنترل مثبت استفاده شد. همچنین به‌عنوان کنترل منفی، ۱۰ میکرو لیتر DMSO ۴٪ به چاهک اضافه شد و سپس در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرما گذاری شد. پس از گذشت این زمان قطر هاله‌ی عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۳ تکرار برای هر اسانس در نظر گرفته شد).

### تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد اسانس از روش تهیه رقت در لوله (Broth Dilution Test) استفاده گردید. به این منظور ابتدا از کشت ایزوله‌های باکتریایی به محیط مایع TSB کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۲۵ درجه

سانتی‌گراد نگهداری شد. با جمع‌آوری باکتری‌ها (سانتریفیوژ) در PBS استریل، سوسپانسیون باکتریایی با تراکم  $3 \times 10^8$  (معادل یک مک فارلند) تهیه و به میزان ۱۰ میکرو لیتر به هر یک از رقت‌های متوالی اسانس حل شده در ۴٪ DMSO موجود در لوله‌های ونوجکت حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت TSB اضافه شد. رقت‌های تهیه شده شامل ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲، ۰/۱۵۶، ۰/۷۸، ۰/۳۹، ۰/۱۹، ۰/۰۹ و ۰/۰۰۹ (میکرو لیتر/ میلی لیتر) بود. سپس محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شد. گروه‌های کنترل در این آزمایش شامل کنترل مثبت (محیط کشت فاقد اسانس، حاوی DMSO و باکتری) و کنترل منفی (محیط کشت با رقت متوالی اسانس و فاقد باکتری) نیز لحاظ شد. پس از ۲۴ ساعت، کمترین غلظتی از اسانس که در آن کدورت مشاهده نشد به‌عنوان MIC ثبت گردید. از رقت‌های MIC و مقادیر بالاتر از آن نیز به میزان ۱۰ میکرو لیتر روی محیط زلوز خون کشت داده شد (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) و کمترین غلظتی که در آن رشد باکتری مشاهده نگردید، به‌عنوان MBC لحاظ شد (Soltani et al., 2013). مقایسه آماری داده‌ها بر اساس آزمون T-test و در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ( $P < 0.05$ ).

### نتایج

نتایج حاصل از آزمایش‌های تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) و نیز حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس زیره سیاه بر روی باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس زیره سیاه برای باکتری‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*، *لاکتوکوکوس گارویه*، *یرسینیا راکری*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *آئروموناس هیدروفیلا* و *آئروموناس ورونی* به ترتیب  $0.156 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.312 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.625 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.625 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.156 \mu\text{l/ml}$  و  $0.156 \mu\text{l/ml}$  و حداقل غلظت باکتری کشی به ترتیب  $0.312 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.625 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.625 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.625 \mu\text{l/ml}$ ،  $0.156 \mu\text{l/ml}$  و  $0.312 \mu\text{l/ml}$  تعیین شد. بر این اساس بیشترین میزان MIC در باکتری‌های گرم منفی *یرسینیا راکری* و *ویبریو پاراهمولیتیکوس* ( $0.625 \mu\text{l/ml}$ ) و کمترین میزان MIC در باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *آئروموناس ورونی* و *استرپتوکوکوس اینیایی* ( $0.156 \mu\text{l/ml}$ ) به دست آمد. همچنین بیشترین میزان MBC در باکتری‌های *یرسینیا راکری* و *ویبریو پاراهمولیتیکوس* ( $0.156 \mu\text{l/ml}$ ) و کمترین میزان MBC در باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *آئروموناس ورونی* و *استرپتوکوکوس اینیایی* ( $0.312 \mu\text{l/ml}$ ) ثبت شد.

نتایج نهایی حاصل از میانگین قطر هاله‌های عدم رشد (میلی‌متر) در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است. بر این اساس، حلال اسانس که به‌عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت بر هیچ‌یک از باکتری‌ها خاصیت ضد میکروبی نداشت. مشاهدات نشان داد که اسانس زیره سیاه بر باکتری‌های گرم مثبت شامل *استرپتوکوکوس اینیایی* و *لاکتوکوکوس گارویه* اثر مهارکنندگی دارد و بیشترین و کمترین تأثیر را به ترتیب بر روی باکتری *استرپتوکوکوس اینیایی* و *لاکتوکوکوس گارویه* داشت. تأثیر ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه بر باکتری *استرپتوکوکوس اینیایی* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین

جدول ۱. حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد (MIC) و حداقل قدرت باکتری کشی (MBC) اسانس زیره سیاه در سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه ( $\mu\text{l/ml}$ )

باکتری	۱/۲۵	۰/۶۲۵	۰/۳۱۲	۰/۱۵۶
<i>استرپتوکوکوس اینیایی</i>	+	+	MBC	MIC
<i>لاکتوکوکوس گارویه</i>	-	MBC	MIC	+
<i>یرسینیا راکری</i>	MBC	MIC	+	+
<i>ویبریو پاراهمولیتیکوس</i>	MBC	MIC	+	+
<i>آئروموناس هیدروفیلا</i>	-	-	MBC	MIC
<i>آئروموناس ورونی</i>	-	-	MBC	MIC

و فلورفنیکل (به‌عنوان کنترل مثبت)، در سطح پایین‌تری مشاهده گردید و اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ )، اما از آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین کمتر بود ( $P > 0.05$ ). میان فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه با آنتی‌بیوتیک‌های انرو فلوکساسین و فلور فنیکل به کار رفته علیه باکتری لاکتوکوکوس گارویه اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ )، اما در مقایسه با آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید.

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اسانس زیره سیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)				
باکتری‌های گرم مثبت	اسانس زیره سیاه	انرو فلوکساسین	آموکسی سیلین	فلورفنیکل
استرپتوکوکوس اینیایی	$18.33 \pm 0.57^a$	$22.66 \pm 1.52^b$	$17.33 \pm 1.52^a$	$28 \pm 1.0^b$
لاکتوکوکوس گارویه	$13 \pm 1.0^a$	$8 \pm 1.0^b$	$13.33 \pm 1.15^a$	$17.66 \pm 0.57^b$

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنادار آماری در حد  $P < 0.05$  می‌باشد.

در ارتباط با فعالیت ضد باکتریایی‌های اسانس زیره سیاه علیه باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه، بیشترین و کمترین تأثیر ضد باکتریایی اسانس به ترتیب علیه باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* به دست آمد. تأثیر فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه بر روی باکتری *یرسینیا راکری* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سولفامتوکسازول، کلرامفنیکل و فلومکوئین به‌طور معناداری کمتر بود ( $P < 0.05$ ). همچنین در ارتباط با فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه علیه باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و *آئروموناس هیدروفیلا* نیز نتایج مشابه به دست آمد و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های فوق‌الذکر سطح پایین‌تری اندازه‌گیری شد ( $P < 0.05$ ). با این‌وجود اختلاف معنی‌دار بین فعالیت ضد باکتریایی این اسانس روی باکتری *آئروموناس ورونی* در مقایسه با فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک سولفامتوکسازول وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در حالی‌که اسانس مورد مطالعه به‌طور معناداری خواص ضد باکتریایی پایین‌تری در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و فلومکوئین نشان داد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳. قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اسانس زیره سیاه بر روی باکتری‌های گرم منفی

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)				
باکتری‌های گرم منفی	اسانس زیره سیاه	سولفامتوکسازول	کلرامفنیکل	فلومکوئین
<i>یرسینیا راکری</i>	$10.33 \pm 1.52^a$	$18.66 \pm 0.57^b$	$22 \pm 1.0^b$	$17.33 \pm 0.57^b$
<i>ویبریو پاراهمولیتیکوس</i>	$11 \pm 1.0^a$	$23.66 \pm 1.52^b$	$17.66 \pm 1.52^b$	$23 \pm 1.0^b$
<i>آئروموناس هیدروفیلا</i>	$18 \pm 1.0^a$	$24 \pm 2.0^b$	$24 \pm 1.0^b$	$23 \pm 1.0^b$
<i>آئروموناس ورونی</i>	$16.66 \pm 0.57^a$	$18 \pm 1.0^a$	$20 \pm 1.0^b$	$27.66 \pm 1.15^b$

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنادار آماری در حد  $P < 0.05$  می‌باشد.

## بحث

استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور درمان بیماری از سالیان دور در مناطق مختلف رواج داشته است. در سال‌های اخیر نیز توجه زیادی به تأثیر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی بر روی میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی و ترکیبات آنتی میکروبیال شده است (Han and Li, 2009). در صنعت آبزی‌پروری نیز با توجه به عدم موفقیت در درمان بسیاری از بیماری‌های باکتریایی ناشی از مقاومت میکروارگانیسم‌های آبزی به داروهای شیمیایی و اثرات جانبی آن‌ها، گرایش محققین به مطالعه در زمینه استفاده از ترکیبات گیاهی به دلیل تأثیرگذاری بهتر و عوارض جانبی کمتر، رو به افزایش بوده است (Soltani et al., 2013). زیره سیاه از جمله گیاهان دارویی است که مطالعات زیادی بر روی خاصیت دارویی و ضد باکتریایی آن صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه بر روی باکتری‌های *اشریشیا کلائی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *هلیکوباکتر پیلوری* (Falahi et al., 2009; Mekawey et al., 2009; Ranjbaran et al., 2005; Bonyadian and Karim, 2003)

(2010) اشاره نمود. اما با این وجود مطالعات محدودی در ارتباط با تأثیر آن در باکتری‌های بیماری‌زای ماهیان گزارش شده است (Adel et al., 2015; Safari et al., 2015).

نتایج به دست آمده از این مطالعه بر روی اسانس زیره سیاه به روش چاهک گذاری در پلیت نشان داد که اسانس این گیاه از ظرفیت ضد میکروبی خوبی برخوردار بوده و بر روی باکتری‌های گرم مثبت *استرپتوکوکوس اینیایی* و *لاکتوکوکوس گارویه* (قطر بازدارندگی رشد به ترتیب  $0.157 \pm 0.18/33$  و  $0.1 \pm 0.13$ ) و باکتری گرم منفی *آئروموناس ورونی* (قطر بازدارندگی رشد  $0.157 \pm 0.16/66$ ) همانند آنتی‌بیوتیک‌ها موجب ایجاد هاله‌ی عدم رشد در باکتری‌های مورد مطالعه شده و دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده می‌شود. با این وجود در ارتباط با باکتری‌های *یرسینیا راکری*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و *آئروموناس هیدروفیلیا* اثر ضد باکتریایی ضعیفی از عصاره زیره سیاه مورد استفاده در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ثبت گردید. Ranjbaran و همکاران (۲۰۰۵) طی مطالعه‌ای اثر ضد باکتریایی چهار عصاره‌ی گیاهی از جمله زیره سیاه را بر *هلیکوباکتر پیلوری* به روش انتشار در دیسک بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند عصاره‌ی زیره سیاه رشد این باکتری را مهار می‌کند. در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زیره سیاه بر روی ۹ سویه باکتری توسط Moghtader و همکاران (۲۰۰۹) به‌استثنای باکتری‌های *سودوموناس آئروجینوزا* و *سالمونلا تیفوئوریم*، اثر ضد میکروبی قابل توجه اسانس زیره سیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس آئروس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*) و باکتری‌های گرم منفی (*شیگلا فلکسنری*، *کلبسیلا پنومونی*، *سراشیا مارسسنس* و *اشرشیاکلی*) ثبت گردید. مطالعه صورت گرفته توسط Ataie Kachouei (۲۰۱۶) نیز مؤید اثرات ضد میکروبی ضد میکروبی اسانس گیاهی زیره سیاه با استفاده از روش انتشار در آگار بر روی سویه‌های استاندارد *استافیلوکوکوس آئروس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* می‌باشد. Soleymani و همکاران (۲۰۱۰) طی مطالعه‌ای اثرات متقابل دارویی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه بر ضد تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی را با استفاده از تعیین حداقل غلظت مهارکننده و کشنده باکتری (MIC، MBC) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان‌دهنده‌ی فعالیت ضد باکتریایی اسانس بر ضد سویه‌های استاندارد *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس آئروس*، *شیگلا فلکسنری* و *اشرشیا کلی* بود؛ به‌طوری‌که اسانس زیره سیاه در مورد *اشرشیا کلی* حتی تا رقت  $1/480$  ( $0.15 \pm 0.015$  میلی‌گرم در لیتر) هم اثر مهارتی داشت. با این وجود در مطالعه Oroojalian و همکاران (۲۰۰۸)، میزان MIC برای اسانس زیره سیاه  $0.18$  تا  $3$  میلی‌گرم به دست آمد که نسبت به بقیه اسانس‌های مورد استفاده از کارایی کمتری برخوردار بود. در مطالعه حاضر فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سیاه با استفاده از تعیین MIC و MBC نشان داد اگرچه بین MIC اسانس زیره سیاه علیه باکتری‌های گرم مثبت اختلاف وجود دارد ولی در مجموع MIC اسانس علیه باکتری‌های گرم مثبت کمتر از گرم منفی به دست آمد؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان MIC در باکتری‌های گرم منفی *یرسینیا راکری* و *ویبریو پاراهمولیتیکوس* ثبت گردید. مقایسه مقادیر MIC گونه‌های مختلف به دست آمده از این مطالعه با دیگر مطالعات نیز حاکی از تفاوت مقادیر می‌باشد که می‌تواند ناشی از ترکیبات متفاوت اسانس‌های گیاهی برحسب منطقه جغرافیایی، گونه و سن گیاه مورد استفاده، نوع اندام مورد اسانس‌گیری، روش استخراج اسانس و متفاوت بودن سویه‌های میکروبی مورد مطالعه باشد (Sivam, 2001). مطالعات متعدد بیان نموده‌اند که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس‌ها حساس‌تر هستند که می‌تواند ناشی از عدم وجود دیواره سلولی و سطح هیدروفیلی غشای خارجی غنی از مولکول‌های لیپولی ساکارید در باکتری‌های گرم مثبت باشد (Burt, 2004). نتایج به دست آمده از این تحقیق نیز حاکی از حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. با این وجود در ارتباط با سویه‌های گرم منفی *آئروموناس هیدروفیلیا* و *آئروموناس ورونی* نتایج حاصل یکسان نبوده و سویه‌های مذکور حساسیت بیشتری را در مقایسه با باکتری گرم مثبت *لاکتوکوکوس گارویه* از خود نشان دادند که مشابه با نتایج مطالعه Shan و همکاران (2007) و Kim و همکاران (1995) می‌باشد که علیرغم مطالعات قبلی صورت گرفته، حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم منفی را نسبت به باکتری‌های گرم مثبت گزارش نمودند.

اگرچه بروز فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها در بسیاری از موارد نشان داده‌شده ولی مکانیزم عمل آن به‌طور کامل شناخته نشده است. مطالعات نشان می‌دهد اسانس‌ها اثر ضد باکتریایی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء سلولی اعمال

می‌کنند (Holly and Patel, 2005). اجزای اسانس اثر ضد باکتریایی متفاوتی دارند که گروه هیدروکسیل موجود در مولکول اجزای اسانس مانند کارواکرول، تیمول، پارا-سیمن و منتول برای بروز خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها بسیار مهم است (Ulte et al., 2002). مطالعات انجام شده حاکی از آن است که اثر ضد میکروبی اسانس زیره سیاه بیشتر در ارتباط با حضور ترکیبات تریپونین و کومین آلدئیدی آن است (Zargari, 1997). در پایان با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، اسانس گیاه زیره سیاه دارای اثرات ضد باکتریایی مناسبی روی باکتری‌های بیماری‌زای ماهی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد که با توجه به ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مزارع آلوده آبی‌پروری، می‌توان اسانس زیره سیاه را همچون دیگر مشتقات گیاهان دارویی با خواص ضد باکتریایی به‌عنوان ترکیب جایگزین و یا مکمل در درمان عفونت‌های باکتریایی ماهیان به کار برد که نیازمند مطالعات تکمیلی بالینی و آزمایشگاهی جهت ارزیابی سمیت احتمالی اسانس، به دست آوردن دوز مؤثر، ماده و مکانیسم اثر اسانس مورد آزمایش می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله از کارکنان گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که در مراحل مختلف این پژوهش همکاری نموده‌اند سپاسگزاری می‌نمایند.

### منابع

- Adel, M., Safari, R., Nematollahi, A., Taghdosi, V. 2015. Molecular study and determine the sensitivity of *Lactococcus garvieae* the causative agent of lactococcosis in rainbow trout on essential oils. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. 9(1): 33-40. (in Persian)
- Ataie Kachouei, M. 2016. Study the antimicrobial effects of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Mentha piperita* and *Carum carvi* on the bacteria isolates from food stuffs. Journal of Food Microbiology. 3(1): 1-10. (in Persian)
- Bonyadian, M., Karim, G. 2003. Study of the effects of some volatile oil of herbs Pennyroyal, Peppermint, Tarragon, Caraway seed and Thyme against *E. coli* and *S. aureus* in broth media. Journal of Veterinary Medicine. 57: 81- 83. (in Persian)
- Boskabady, M.H., Moghaddas, A. 2004. Antihistaminic effect of *Bunium persicum* on Guinea Pig tracheal chains. Iranian Biomedical Journal. 8(3): 149-55. (in Persian)
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology. 94: 223-253.
- Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immune stimulant for fish. Journal of Ethnopharmacology. 88: 99-106.
- Falahi, J., Ebadi, M.T., Rezvanimoghada, P., Hedayati, M., Tarighi, S. 2010. Comparison of the inhibitory effect of 6 medial plant essential oils with streptomycin antibiotic on Salmonella. Iranian Veterinary Journal. 6: 25-33. (in Persian)
- Foroumadi, A., Asadipour, A., Arabpour, R.F., Amanzadeh, Y. 2002. Composition of the essential oil of *Bunium persicum* (Boiss.) from Iran. Journal of Essential Oil Research. 14: 161-162.
- Gauthier, D. 2015. Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. The Veterinary Journal. 203: 27-35.
- Han, S.Y., Li, PP. 2009. Progress of research in antitumor mechanisms with Chinese medicine. Chinese Journal of Integrative Medicine. 15(4): 316-20.
- Holly, R.A., Patal, D. 2005. Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Chemistry. 22: 273-292.
- Kim, J.M., Marshall, M.R., Wei, C.I. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 43: 2839-2845.
- Mekawey, A.A.I., Mokhtar, M.M., Farrag, R.M. 2009. Antitumor and antibacterial activities of [1-(2-Ethyl, 6-Heptyl) Phenol] from *Cuminum Cyminum* seeds. Journal of Applied Sciences Research. 5: 1881-1888.

- Moghtader, M., Iraj Mansori, A., Salari, H., Farahmand, A. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Bunium persicum* Boiss. Seed. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(1): 20 -28. (in Persian)
- Moravej, G.H., Shahraki, Z., Azizi Arani, M., Yaghmaie, F. 2009. Fumigant Toxicity of *Bunium persicum* Boiss. (Umbelliferae) and *Elletaria cardamomum* Maton. (Zingiberaceae) Oils against *Tribolium castaneum*. Journal of Plant Protection. 23: 96-105.
- Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. 2008. Synergistic antibacterial activity of *Bunium persicum* and *Cuminum cyminum* essential oils. Planta Medical. 74: 136-144. (in Persian)
- Ranjbaran, P., Sadeghian, S., Shirazi, M.H., Sarraf-Nejad, A., Fazeli, M.R., Amin, G.H. 2005. Antibacterial effects of *Cinnamon verum*, *Bunium persicum*, *Foeniculum vulgare* and *Anethum graveolens* extracts on *Helicobacter pylori* via disk diffusion and flow cytometry. Journal of Hamedan University of Medical Sciences. 33(3): 42-47.
- Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology. 20: 265-273.
- Safari, R., Adel, M., Monji, H., Riyahi Cholicheh, H., Nematolahi, A. 2015. Evaluation of antibacterial effect of some of the endemic herbal essential oils on *Streptococcus iniae* in vitro. Journal of Aquatic Ecology. 4(4): 40-33. (in Persian)
- Shahsavari, N., Barzegar, N., Sahari, M.A., Naghdabadi, H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. Plant Foods for Human Nutrition. 63: 183-188.
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D., Corke, H. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(14): 5484-5490.
- Sivam, G.P. 2001. Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as supplement. American Society of Nutrition Sciences. 131: 1106 -1108.
- Soleymani, N., Sattari, M., Sepehriseresht, S., Daneshmandi, S., Derakhshan, S. 2010. Evaluation of reciprocal pharmaceutical effects and antibacterial activity of *Bunium persicum* essential oil against some Gram positive and Gram negative bacteria. Iranian Journal of Medical Microbiology. 4(2): 26-34. (in Persian)
- Soltani, M., Ghodrathnama, M., Taheri Mirghaed, A., Zargar, A., Rooholahi, Sh. 2013. The effect of *Zataria multiflora* Boiss and *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Streptococcus iniae* isolated from Rainbow trout farms. Journal of Veterinary Microbiology. 9(1): 1-11. (in Persian)
- Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A. 1996. Isolation and characterization of *Aeromonas veronii* and *Aeromonas hydrophila* from diseased grass carp in two grass carp in Tehran and Gilan provinces, Iran. Scientific-Research Iranian Veterinary Journal. 4: 24-29. (in Persian)
- Ulte, A., Bennik, M.H.J., Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology. 68: 1561-1568.
- Zargari, A. 1997. Handbook of Medical Plants. 6<sup>th</sup> edition. University of Tehran Press, Iran. 128 p.