



اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) و کاسنی (*Cichorium intybus* L) بر باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه

زهرا سلطانی نژاد^۱، اسماعیل پیرعلی خیرآبادی^{۲*}، فرزانه نیکوخواه^۳

۱- کارشناس ارشد، تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲- استادیار، بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۳- مربی، میکروبیولوژی، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

پذیرش: ۹۵/۰۷/۱۲

دریافت: ۹۴/۱۱/۰۵

*نویسنده مسئول مقاله: esmaeil_pirali@yahoo.com

چکیده

اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتانولی کرفس کوهی و کاسنی بر باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه جداسازی شده از قزل آلائی رنگین کمان بررسی شد. برای تعیین قدرت ضد باکتریایی عصاره ها از روش چاهک گذاری (Well Diffiusion) استفاده گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) نیز به روش رقت لوله ای تعیین گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی کرفس کوهی برای باکتری های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml و MIC عصاره اتانولی کاسنی برای استرپتوکوکوس اینیایی ۱۰۰ mg/ml اندازه گیری شد، بر اساس نتایج حاصل عصاره اتانولی کاسنی در هیچ یک از غلظت ها بر لاکتوکوکوس گارویه اثر بازدارندگی نداشت.

کلید واژگان: استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه، عصاره گیاهی، قزل آلائی رنگین کمان

مقدمه

می رود. گرایش روزافزون به تکثیر و پرورش این ماهی باعث افزایش بروز بیماری های مختلف از جمله بیماری های باکتریایی شده است. استرپتوکوکوزیس و

ماهی قزل آلائی رنگین کمان مهم ترین گونه اکثر کارگاه های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بیشتر نقاط دنیا به شمار

ضدسرطان آن مشخص شده است (Behagh2003؛ Salimiet al.2009). خواص ضدباکتریایی گیاهان دارویی خانواده کرفس نیز تأیید شده است (Oroojalian et al. 2010). کاسنی با نام علمی (*Cichorium intybus L*) متعلق به تیره مرکبات، زیر تیره زبانه گلی‌ها و طایفه کاهو (*Lactuceae*)، از مهم‌ترین گیاهان تیره *Asteraceae* می‌باشد (Ghahreman,1994)

در طب سنتی بررسی‌های زیادی بر روی گیاه کاسنی انجام شده است و دهه اخیر هم با توجه به جایگزینی ترکیبات دارویی گیاهی به جای داروهای شیمیایی این گیاه از اهمیت خاصی برخوردار است. برای مثال گزارش‌هایی از تأثیر درمانی ریشه گیاه کاسنی، برگ‌های قاعده ساقه و حتی گل و دانه آن در درمان بیماری‌های عفونی، عفونت‌های کبدی، چشمی، معدی و مسمومیت‌ها آمده است (Madani et al. 2005). دربارهٔ ویژگی ضد میکروبی گیاه کاسنی بررسی‌هایی انجام شده است. از جمله مطالعه (Qadri, Hassanpour, and 2004) که نشان دادند، عصاره الکلی کاسنی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضدباکتری دارد.

با توجه به اهمیت روزافزون استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنین وجود ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه کرفس کوهی و کاسنی، از جمله: فتالیدها و فلاونوئیدها (Saeedi and Omidbaigi 2009; Mashreghi et al. 2010; Salimi et al. 2010) و پراکندگی مناسب مرتعی این گیاهان در استان چهارمحال بختیاری، در این مطالعه اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های اتانولی کرفس کوهی و کاسنی را بر باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه جداسازی شده از قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد.

لاکتوکوکوزیس از جمله بیماری‌های باکتریایی هستند که با تلفات و خسارات فراوانی در ماهیان آب شور و شیرین همراه می‌باشند. باکتری لاکتوکوکوس گارویه به همراه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، متعلق به خانواده استرپتوکوکاسه می‌باشند و عامل مهم بروز سپتی سمی و تلفات بالا در مزارع پرورش ماهی به‌ویژه در قزل‌آلای رنگین‌کمان محسوب می‌شوند (Austin and Austin, 1999). مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیماری منجر به بروز مقاومت دارویی در جدایه‌های باکتریایی و کاهش کارایی داروها می‌گردد. به‌علاوه سبب تجمع آنتی‌بیوتیک در عضلات ماهی و در نتیجه به خطر انداختن سلامت مصرف‌کنندگان ماهی می‌شود. از این‌رو یافتن راه‌های پیشگیری برای به حداقل رساندن خسارت‌های اقتصادی ناشی از تلفات در مزارع پرورش ماهی و نیز کاهش مشکلات زیست‌محیطی ناشی از مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی به‌عنوان داروهای دوستدار محیط‌زیست برای مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Abutbul et al. 2004). کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) با نام محلی کلوس به‌عنوان گونه‌ای جدید از جنس *Kelussia* از تیره چتریان (*Apiaceae*)، یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران می‌باشد و تاکنون وجود آن در سایر مناطق جهان گزارش نشده است. در طب سنتی برای اندام‌های هوایی گیاه کرفس کوهی خواصی همچون ضدالتهاب، ضد درد، درمان روماتیسم، تصفیه خون و برای بذر و ریشه آن به‌صورت جوشانده خواصی برای درمان سرماخوردگی و سرفه‌های شدید قائل هستند. همچنین در تحقیقات دیگر، اثرهای ضدحساسیت، محافظت‌کننده عروق، ضدانعقادی و محافظ دستگاه گوارش، ضد دیابت، آنتی‌پراکسیداسیون لیپیدها و

مواد و روش‌ها

ابتدا نسبت به جمع‌آوری گیاه کرفس کوهی و کاسنی از ارتفاعات شهرستان کوهرنگ واقع در استان چهارمحال و بختیاری اقدام گردید. برگ‌ها پس از تمیز شدن در شرایط مناسب (سایه) خشک و به‌وسیله آسیاب آزمایشگاهی مدل Waring پودر شد. برای تهیه عصاره اتانولی کرفس کوهی و کاسنی به روش پرکولاسیون، مقدار ۵۰ گرم از برگ‌های پودر شده گیاه برای تهیه عصاره اتانولی به ارلن حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درجه اضافه شد و ارلن به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون قرار داده شد (در دمای زیر نقطه جوش اتانول) تا استخراج عصاره به‌طور کامل انجام گیرد. سپس مخلوط حلال و گیاه به‌وسیله صافی از یکدیگر جدا و عصاره صاف شده به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلأ (Rotary evap-rator) تقطیر شد. عصاره را در پلیت‌های استریل ریخته و سپس دهانه پلیت‌ها توسط پارافیلیم پوشیده شدند. برای اطمینان از استریل بودن عصاره، از محیط کشت مولر هینتون استفاده گردید.

به منظور بررسی اثرهای ضدباکتریایی عصاره اتانولی از روش چاهک‌گذاری (Well Diffusion) استفاده شد (Magaldi et al. 2004; Daud et al. 2013)، به این منظور از جدایه‌های لیوفیلیزه استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه که در مطالعات قبلی سلطانی و همکاران (۲۰۰۵ و ۲۰۰۸) جداسازی و شناسایی شده بود، استفاده گردید. ابتدا از کلنی ۲۴ ساعته باکتری کشت شده در محیط کشت ژلوز خوندار، برداشت و با محتوای لوله آزمایش استریل، حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط شد تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری مورد نظر با کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند

به دست آید. سپس با سواب استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری، مقداری را برداشته و روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) به صورت خطوط موازی در سه جهت (عمودی، افقی، مورب) بر هم، کشت داده شد؛ به‌طوری که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شود. سپس به‌وسیله پپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر با فاصله‌های مناسب ایجاد کرده و توسط سمپلر، مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر غلظت مشخص عصاره (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برداشته و در شرایط استاندارد تلقیح شد. فرصت داده شد تا عصاره کاملاً جذب شود. در نهایت درب پلیت‌های چاهک‌گذاری شده را بسته و به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و هاله عدم رشد اطراف با خط‌کش فلزی با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از دیسک اریترومايسين (۱۵ میکروگرم) برای کنترل مثبت، همچنین به عنوان کنترل منفی ۵۰ میکرولیتر DMSO ۴ درصد استفاده شد.

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از روش رقت لوله‌ای استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته، سوسپانسیون باکتریایی با تراکم 10^7 تهیه و به میزان ۱۰ میکرولیتر به هر یک از رقت‌ها تلقیح شد. به‌طوری که برای هر عصاره از یک سری ۷ تایی لوله آزمایش استریل استفاده گردید. ۵ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، یک لوله به عنوان کنترل منفی (لوله حاوی محیط کشت و عصاره) و یک لوله به عنوان کنترل مثبت (لوله حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری) تهیه شد. پس از کشت تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴

ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شده و سپس از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری های تلقیح شده بررسی شدند. میزان کدورت با نمونه کنترل مقایسه و سپس کمترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نگردید، به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Tepe et al. 2004). برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی کرفس کوهی نیز همین روش استفاده گردید. نمونه از تمام لوله هایی که در قسمت قبل هیچ رشد باکتری در آنها مشاهده نشده بود، برای تعیین MBC در نظر گرفته شدند. این لوله ها به روش Pour Plate کشت داده شد. در نهایت لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوط به آن هیچ رشد باکتری مشاهده نشده بود، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Fothergill et al. 2002).

به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. داده های حاصل از تأثیر ۵ سطح متفاوت غلظت عصاره های آبی و اتانولی بر باکتری های بررسی شده با سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) تجزیه و تحلیل گردید. همچنین، برای انجام مقایسه زوج میانگین ها از

آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan) در سطح معناداری ($p < 0.05$) استفاده شد.

نتایج (بازبینی متن مشخص شده)

نتایج نشان داد که در روش انتشار از چاهک، عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در خصوص جدایه لاکتوکوکوس گارویه فقط در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر بازدارندگی وجود داشت و در سایر غلظت ها بی اثر بود. همچنین غلظت های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی از رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی جلوگیری کرد، اما در غلظت های ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر اثر بازدارندگی مشاهده نشد. در ارتباط با معنادار بودن داده ها مطلب اضافه شود. عصاره اتانولی کاسنی تنها در غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری استرپتوکوکوس اینیایی دارای اثر بازدارندگی بود و در سایر غلظت ها اثر بازدارندگی مشاهده نشد. علاوه بر این عصاره اتانولی کاسنی در هیچ یک از غلظت ها بر باکتری لاکتوکوکوس گارویه اثر بازدارندگی نداشته و از رشد باکتری جلوگیری نکرد.

جدول ۱ میانگین قطر هاله عدم رشد *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae* بر حسب میلی متر در حضور عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی (انتشار از چاهک)

غلظت عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی (mg/ml)		۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
نوع عصاره	نوع میکروارگانیسم					
اتانولی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	^c ۱۰/۳۳±۰/۵۷	^b ۱۴/۳۳±۰/۵۷	^a ۱۹/۳۳±۰/۳۳
اتانولی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	^a ۹/۳۳±۰/۵۷

:- نشان دهنده نبود فعالیت ضدباکتری عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی است.

حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان دهنده تفاوت معنادار میان اثر ضدباکتری غلظت های متفاوت عصاره است.

حروف مشابه در یک ستون نشان دهنده نبود تفاوت معنادار میان اثر ضدباکتری غلظت های متفاوت عصاره است.

جدول ۲ میانگین قطر هاله عدم رشد *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae* بر حسب میلی متر در حضور عصاره اتانولی برگ گیاه کاسنی (انتشار از چاهک)

غلظت عصاره اتانولی برگ گیاه کاسنی (mg/ml)						
نوع عصاره	نوع میکروارگانیسم	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
اتانولی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	-	^b ۷/۳۳±۰/۵۷	^a ۱۰/۶۷±۰/۵۷
اتانولی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	^a ۹/۳۳±۰/۵۷

- نشان دهنده نبود فعالیت ضدباکتری عصاره اتانولی برگ گیاه کاسنی است.

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان دهنده تفاوت معنادار میان اثر ضدباکتری غلظت های متفاوت عصاره است.

حروف مشابه در یک ستون نشان دهنده نبود تفاوت معنادار میان اثر ضدباکتری غلظت های متفاوت عصاره است.

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی برای باکتری های *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae* به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. در حالی که MIC عصاره اتانولی کاسنی برای *Streptococcus iniae*، ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود، ولی برای باکتری *Lactococcus garvieae* در هیچ یک از

غلظت ها اثر بازدارندگی مشاهده نشد (جدول ۳). حداقل غلظت کشندگی MBC در هیچ یک از غلظت های عصاره های کرفس کوهی و کاسنی برای باکتری های *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae* مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۳ نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی و کاسنی بر باکتری های *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae*

غلظت عصاره اتانولی برگ گیاه کاسنی و کرفس کوهی (mg/ml)						
نوع عصاره	نوع میکروارگانیسم	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
اتانولی کرفس کوهی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	-	+	+
اتانولی کاسنی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	-	-	+
اتانولی کرفس کوهی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	+
اتانولی کاسنی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	-

+: دارای اثر بازدارندگی

-: بی اثر بودن

جدول ۴ نتایج حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی و کاسنی بر باکتری های *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae*

غلظت عصاره اتانولی برگ گیاه کاسنی و کرفس کوهی (mg/ml)						
نوع عصاره	نوع میکروارگانیسم	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
اتانولی کرفس کوهی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	-	-	-
اتانولی کاسنی	<i>Streptococcus iniae</i>	-	-	-	-	-
اتانولی کرفس کوهی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	-
اتانولی کاسنی	<i>Lactococcus garvieae</i>	-	-	-	-	-

- بی اثر بودن

بحث

مقاومت میکروبی روزافزون باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، شیوع بیماری‌های عفونی و توانایی برخی از گیاهان برای تولید مواد ضد میکروبی، محققان را بر آن داشت تا عصاره‌های گیاهی را به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها مد نظر قرار دهند (Motamedi et al. 2010). در مطالعه حاضر اثر ضد میکروبی برگ کرفس کوهی و کاسنی بررسی گردید تا در تکمیل یافته‌های فارماکولوژیکی بتوان اطلاعات کامل‌تری از خواص گیاه کرفس کوهی و کاسنی را فراهم آورد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در مقایسه با عصاره اتانولی کاسنی اثر بازدارندگی بیشتری روی باکتری‌های مورد مطالعه دارد که علت آن را می‌توان درصد بیشتر ترکیبات ضدباکتریایی برگ کرفس کوهی در مقایسه با برگ کاسنی دانست. در مطالعه انجام شده از سوی سلیمی و همکاران (۱۳۸۹)، مشخص شد که عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس اکوتیپ‌های کرفس کوهی موجود در استان چهار محال بختیاری شامل سیس-لیگوستیلید (z-ligustilid)، ۳ ترانس-بوتیلیدن فتالید، ترانس-لیگوستیاید (E-ligustilide) کسان، اسپاتولنول، گلوبولول، بوتیل فتالید، بتا-سلنن، لیگو ستیلید، بوتیلیدن فتالید و پنتیل بنزن است که حدود ۸۸/۶ درصد از ترکیب‌های اسانس این اکوتیپ‌ها را تشکیل می‌دهد.

براساس نتایج حاصل شده از مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی و کاسنی میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا می‌کند. (جدول ۱ و ۲). نتایج نشان داد در سطح معناداری ۵ درصد کمترین بازدارندگی مربوط به عصاره اتانولی کاسنی علیه *Lactococcus garvieae* بود.

(Ghasemi and Corresponding 2010) اثر ضدباکتریایی

اسانس و عصاره ۱۰ گونه گیاهی منحصر به فرد ایرانی از جمله کرفس کوهی را بر روی باکتری‌های (*Staphylococcus aureus*), (*Pseudomonas aeruginosa*), (*Klebsiella pneumoniae*), (*Escherichia coli*)، بررسی کردند. نتایج نشان می‌دهد بیشتر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان مطالعه شده اثرهای آنتی‌باکتریال بالایی با قطر بازداری ۸ تا ۲۳ میلی‌متر در برابر باکتری‌های مورد آزمایش دارند.

(Shirazi et al. 2003) با بررسی اثر ضد میکروبی ۱۰ عصاره گیاهی از جمله کاسنی بر روی هلیکوباکتریلوری و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر انتخابی، نشان دادند که عصاره کاسنی اثر مهارتی قابل توجهی نداشت. Al Khateeb و همکاران (۲۰۱۲) با شناسایی ترکیبات کاسنی و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی آن دریافتند که باکتری (*Klebsiella pneumoniae*) نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی حساس است، ولی باکتری (*Enterococcus faecalis*) نسبت به تمام عصاره‌های کاسنی مقاوم می‌باشد. نتایج این پژوهشگران با نتایج ما هم‌خوانی دارد.

نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی MIC عصاره‌های اتانولی برگ کرفس کوهی و کاسنی نشان داد، بیشترین مقاومت مربوط به باکتری *Lactococcus garvieae* بود (جدول ۳).

نتیجه‌گیری

عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در شرایط "in vitro"، قابلیت ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ای بر استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گاریوه دارد. در ادامه لازم است مطالعات بیشتری در شرایط "in vivo" انجام شود تا عواملی همچون دوز مؤثر عصاره بر باکتری، تأثیر شرایط فیزیکی شیمیایی آب و نحوه استفاده از عصاره‌های مذکور در درمان ناشی از استرپتوکوکوزیس ارزیابی شود.

- Oroojalian, F., R. Kasma-Kermanshahi, M. Azizi, and M. R. Bassami. 2010.** "Phytochemical Composition of the Essential Oils from Three Apiaceae Species and Their Antibacterial Effects on Food-Borne Pathogens." *Food Chemistry* 120 (3): Elsevier Ltd: 765–70.
- Qadri, R, M Hassanpour, and S Saadatjoo A. 2004.** "Compare Antibacterial Effect of Alcoholic Extract of Chicory with Antibiotics." *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 11 (4): 40–45.
- Saeedi, K, and R Omidbaigi. 2009.** "Evaluation of Content and Composition of Fatty Acids, Total Phenolic and Essential Oil Content of *Kelussia Odoratissima* Mozaff. Seed." *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25 (1): 113–19.
- Salimi, M, A Ebrahimi, Z Shojae, and S S Saei Dehkordi. 2010.** "Essential Oil Composition of *Kelussia Odoratissima* Mozaff." *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 26 (2): 147–56.
- Shirazi, M, M Fazeli, M Soltanidel, S Eshraghi, H Jamolifar, and E Alamolhoda. 2003.** "Antimicrobial Effects of Plant Extracts on *Helicobacter Pylori* 10 and Compare It with Effective Antibiotics of Choice." *Journal of Medicinal Plants* 7: 53–60.
- Soltani, M., Jamshidi, S., Shafipour, I., 2005.** Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran: biophysical characteristics and pathogenesis. Bulletin of European Association of Fish Pathologists 25: 95–106.
- Soltani, M., Nikbakht, G., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., 2008.** Epizootic outbreaks of Lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of European Association of Fish Pathologists 28: 207–212.
- Tepe, Bektas, Erol Donmez, Mehmet Unlu, Ferda Candan, Dimitra Daferera, Gülhan Vardar-Unlu, Moschos Polissiou, and Atalay Sokmen. 2004.** "Antimicrobial and Antioxidative Activities of the Essential Oils and Methanol Extracts of *Salvia Cryptantha* (Montbret et Aucher Ex Benth.) and *Salvia Multicaulis* (Vahl)." *Food Chemistry* 84 (4): 519–25.
- Abutbul, S., A. Golan-Goldhirsh, O. Barazani, and D. Zilberg. 2004.** "Use of *Rosmarinus Officinalis* as a Treatment against *Streptococcus Iniae* in Tilapia (*Oreochromis* Sp.)." *Aquaculture* 238 (1-4): 97–105.
- Daud, Farhat S, Gauri Pande, Mamta Joshi, Ruchita Pathak, and Shubhangi Wankhede. 2013.** "A Study of Antibacterial Effect of Some Selected Essential Oils and Medicinal Herbs Against Acne Causing Bacteria." *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 2 (1): 27–34.
- Fothergill, a, J Peter, M G Rinaldi, and T J Walsh. 2002.** "Testing Conditions for Determination of Minimum Fungicidal Concentrations of New and Established Antifungal Agents for." *Society* 40 (9): 3204–8.
- Ghasemi, Abdollah, and Pirbalouti Corresponding. 2010.** "Antibacterial Activity of Some Folklore Medicinal Plants Used by Bakhtiari Tribal in Southwest Iran." *International Journal of Biology* 2 (2): 55–63.
- Madani, H, S Asgari, Gh Naderi, and M Talib al Husseini. 2005.** "Review of Active Substances and Anti-Bacterial Essential Oil Kom (*Kelussia Odoratissima*) and TP (*Teucrium Polium*) on Some Food Pathogens." *Journal of Medicinal Plants* 5 (17): 32–38.
- Magaldi, S, S Mata-Essayag, C Hartung de Capriles, C Perez, M.T Colella, Carolina Olazola, and Yudith Ontiveros. 2004.** "Well Diffusion for Antifungal Susceptibility Testing." *International Journal of Infectious Diseases* 8 (1): 39–45.
- Mashreghi, M, M Azizi, F Orujiyan, and N Shah Tahmasebi. 2015.** "Review of Active Substances and Anti-Bacterial Essential Oil Kom (*Kelussia Odoratissima*) and TP (*Teucrium Polium*) on Some Food Pathogens." *Journal of Horticultural Sciences Mashhad* 28 (4): 487–95.
- Motamedi, H, E Darabpour, M Gholipour, and Seyyed Nejad. 2010.** "Antibacterial Effect of Ethanolic and Methanolic Extracts of *Plantago Ovata* and *Oliveria Decumbens* Endemic in Iran Against Some Pathogenic Bacteria." *International Journal of Pharmacology* 6 (2): 117–22.

Bacteriostatic and Bacteriocidal Activity of the Ethanol Extract of *Kelussia odoratissima* and *Cichorium intybus* L Against *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae*

Zahra Soltaninejad¹, Esmail Pirali Kheirabadi^{*2}, Fazanhe Nikhoukhah³

1. Masterstudent, Field propagation and breeding of fish, Department of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University

*2. Assistant Professor, Department of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University

3. Lecturer and faculty member of the Department of Fisheries, Faculty of Earth Sciences, Shahrekord University

Received: 25.01.2016 Accepted: 03.10.2016

* Corresponding Author: esmaeil_pirali@yahoo.com

Abstract

The bacteriostatic and bactericidal activity of the ethanol extract of *Kelussia odoratissima* and chicory, *Cichorium intybus* L., against *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout was investigated. Antibacterial efficiency of the plants was examined using agar well diffusion method and minimum inhibitory concentration. The MIC of the ethanol extract of *K. odoratissima* for *S. iniae* and *L. garvieae* were found to be 100 and 50 mg/ml, respectively and the MIC of the ethanol extract of *C. intybus* L for *S. iniae* was 50 mg/ml. Chicory didn't have any inhibitory effect on *L. garvieae*.

Keywords: *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, Herbal extracts, Rainbow trout.