شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷

صفحات ۴۱-۳۱

مقایسه بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی و هیدرومتانلی برگ گیاه سنبل آبی (*Eichhornia crassipes*)

رودابه روفچائی[۱]، علیرضا میرواقفی*[۲]، سید حسین حسینی فر[۳]، علیرضا ولی پور[۴]

۱. دانش آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج ، ایران.

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج ، ایران.

۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴. استادیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش وترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۸

چکیده

گیاه سنبل آبی *Eichhornia crassipes* علی‌رغم این‌که به‌سبب قدرت تکثیر بالایش جزو بدترین گیاه هرز دنیا اعلام شده است، از پتانسیل فیتوشیمی خوبی برخوردار است. از آن‌جائی‌که رویکرد جدید و نوآورانه محققان، استفاده داروئی از علف‌های هرز است، این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی و هیدرومتانلی گیاه مهاجم سنبل آبی بر عوامل بیماری‌زا انجام پذیرفت. پودر خشک برگ گیاه سنبل آبی با دو حلال متانول ۸۰ درصد و آب به‌روش خیساندن عصاره‌گیری شد. فعالیت ضدمیکروبی بر روی دو گونه بیماری‌زای آبزی و سه گونه بالینی مورد بررسی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد از آزمون انتشار در آگار با استفاده از چاهک بر روی غلظت‌های ۵، ۲۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر ار هر کدام از عصاره‌ها بررسی شد. با استفاده از روش رقیق‌سازی آگار حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری عصاره‌ها (MBC) تعیین گردید. عصاره‌ی هیدروالکلی، بیشترین هاله عدم رشد را بر روی گونه بیماری‌زای آبزی *Streptococcus iniae* داشته است. عصاره آبی نیز بر روی گونه *Escherichia coli* بیشترین تاثیر ضد میکروبی را نشان داد ($P\leq$۰/۰۵). مقایسه دوتائی آزمون تی‌تست مستقل بر روی تاثیر نوع حلال بر گونه‌های باکتری مورد بررسی نشان داد که اشرشیا کولی به‌طور معنی‌داری تحت عصاره آبی و استرپتوکوک اینیائی تحت عصاره هیدرومتانلی افزایش فعالیت ضد میکروبی نشان دادند ($P<$۰/۰۵). مقادیر MIC بین ۶۴ تا ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و (MBC) ۱۲۸ تا ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. عصاره گیاه هرز سنبل آبی به‌سبب وجود متابولیت‌های ثانویه موثر از گروه ترکیبات فنلی، تانین و آلکالوئیدی دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد و نوع حلال مورد استفاده در میزان فعالیت ضد میکروبی آن موثر است.

واژگان کلیدی: عصاره هیدرومتانلی، عصاره‌ی آبی، فعالیت ضد میکروبی، Water hyacinth.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۴۴+۹۸۲۶۳۲۲۲۳ ایمیل: avaghefi@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

گیاه سنبل آبی بومی منطقه آمازون در برزیل بوده و در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۹۳ در تالاب عینک مشاهده گردید (Mozafarian and Yaghoubi, 2015). این گونه به‌سبب سرعت تکثیر بالایش در مناطق تالابی، تنوع زیستی را به خطر می‌اندازد. مقاومت بالای این گیاه و تحمل شرایط مختلف زیستی باعث گسترش جهانی آن شده و کنترل آن را سخت کرده است. از این‌رو به‌عنوان یکی از ۱۰۰ گونه‌ی علف هرز مهاجم و جزو بدترین علف هرز آبزی جهان توسط اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت (IUCN) در سال ۲۰۰۸ ثبت شده است (Téllez *et al.*, 2008). از طرفی ساقه و برگ گیاه سنبل آبی از دیر باز برای درمان تورم و زخم مورد استفاده قرار می‌گرفت (Rorong *et al.*, 2012). در تب سنتی کشور هندوستان و در مکتب درمانی آیورویدا (Ayurveda) از روغن حاصل از گلبرگ این گیاه در درمان زخم‌های عفونی پوستی، ذات‌الریه و بیماری گواتر استفاده می‌شود (Vadlapudi, 2010; Jyoti Das and Pathak, 2013; Kumar *et al.*, 2014). تحقیقات زیادی نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از عصاره‌های مختلف این گیاه گزارش می‌دهند (Chantiratikul *et al.*, 2009; Ho *et al.*, 2012; Surendraraj *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2014; Haggag *et al.*, 2017).

بررسی‌ها حاکی از آن است که این گیاه به‌سبب داشتن مواد موثره و متابولیت ثانویه‌اش در شرایط آزمایشگاهی در کنترل عوامل میکروبی و سلول‌های سرطانی به‌عنوان یک گیاه داروئی موثر بوده است (Lenora *et al.*, 2015; Aboul-Enei *et al.*, 2014; Jayanthi and Lata, 2013; Thamaraiselvi and Jayanthi, 2012).

یکی از مشکلات موجود در ارتباط با کنترل باکتری‌ها، مقاومت داروئی آن‌ها است. از جمله باکتری‌های بالینی و آبزی مورد تحقیق می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد که در این بررسی مورد سنجش قرار گرفت، به‌طوری‌که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) در بیش از ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به عفونت‌های استافیلوکوک به پنی سیلین و یا آمپی‌سیلین پاسخ نمی‌دهند (Harbarth *et al.*, 2008; Otter *et al.*, 2009). اشرشیاکلی انتروپاتوژنیک، همچنان عامل بیماری اسهال نوزادان و کودکان به‌صورت تک‌گیر و همه‌گیر در کشورهای در حال توسعه دیده می‌شود (Alikhani *et al.*, 2013). سودوموناس آئروژینوزا سومین عامل عفونت‌های بیمارستانی بعد از استافیلوکوک اورئوس و اشرشیا کلی است وعفونت‌های ناشی از این باکتری غالباً در سوختگی‌ها، عفونت‌های ادراری فیبروکیستیک گزارش شده است. به‌علاوه این باکتری با تولید بیوفیلم توانائی محافظت در برابر سیستم ایمنی میزبان و عوامل ضد میکروبی مختلف را ایجاد می‌کند (Vanhems *et al.*, 2000). آئروموناس هیدروفیلا یک باکتری فرصت‌طلب و مهم در صنعت پرورش ماهیان گرم‌آبی است که تحت شرایط استرس‌زا تبدیل به یک پاتوژن می‌شود. محیط‌های آبی به‌عنوان منبع اصلی باکتری‌های آیروموناس، مورد توجه هستند و ماهی به‌عنوان منبع اصلی این میکروارگانیسم می‌باشد (Sharma *et al.*, 2010).

استرپتوکوک اینیائی عامل بیماری استرپتوکوکوزیس بوده که در ماهیان آب شیرین و دریائی و در محیط‌های گرمابی و سرد در مناطق مختلف دنیا مشکلات و خسارات فراوانی را منجر شده است. این باکتری زئونوز بوده و دامنه متنوع میزبانی آن منجر شده که کنترل آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (Soltani *et al.*, 2014).

با توجه به گرمای جهانی کره‌ی زمین گسترش جمعیت سنبل آبی اجتناب ناپذیر است (Shanab *et al.*, 2010). در طی سالیان اخیر بهره‌برداری از این زیست توده‌های هرز آبی به‌عنوان یک منبع داروئی مورد ارزیابی قرار گرفته است (Lata and Dubey, 2010). از این‌رو در این بررسی برآن شدیم تا با استفاده از قابلیت‌های مواد موثره در این گیاه مشکلات به‌وجود آمده از تکثیر بالای این گیاه مهاجم را به‌بهره‌برداری داروئی بدل نمائیم. جهت استحصال بهترین کیفیت و کمیت مورد نظر این مواد موثره نوع حلال مصرفی، روش عصاره‌گیری، بافت انتخابی، فصل و مکان جغرافیایی برداشت گیاه بسیار تاثیر گذارد است (Treutter, 2001; Derita *et al.*, 2009). از طرفی با توجه به این‌که تنوع مواد موثره استحصالی ممکن است اثر هم‌افزا یا بازدارنده داشته باشد (Surendraraj *et al.*, 2013; Aboul-Enein

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- بازده عصاره مورد بهره‌برداری.

بازده (درصد)	عصاره نهائی (گرم)	حجم حلال مورد استفاده (میلی لیتر)	پودر خشک برگ سنبل (گرم)	حلال
۱۲	۱/۲	۱۰۰	۱۰	هیدرو متانل
۲۹	۲/۹	۱۰۰	۱۰	آب

et al., 2014)، این تحقیق جهت بررسی تاثیر نوع حلال بر استحصال متابولیت‌های ثانویه گیاه هرز سنبل آبی مهاجم به منابع تالابی شمال ایران انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. جمع‌آوری و عصاره‌گیری

در پائیز ۱۳۹۵ پس از برداشت برگ گیاه سنبل آبی از تالاب انزلی به ایستگاه تغذیه و غذای زنده واقع در بندر انزلی منتقل شد. پس از تایید گونه گیاه هرز (Holm *et al.*, 1977)، برگ‌ها با آب شسته شده و در آون، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب شد. جهت عصاره‌گیری به پژوهشکده مواد اولیه و گیاهان داروئی دانشگاه شهید بهشتی تهران منتقل شد. جهت استحصال مواد موثره با توجه به بررسی‌های صورت گرفته دو حلال قطبی آب و هیدرومتانل ۸۰ درصد انتخاب شد. پودرهای به‌دست آماده با میانگین قطر ۵ میکرون به‌ازاء هر یک گرم در ۱۰ میلی‌لیتر حلال به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. عمل عصاره‌گیری سه بار تکرار گردید. سپس عصاره توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر شد. به کمک دستگاه تقطیر در خلا (آلمان Rotary Evaporator Heidolph) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007). از هر صد گرم ماده خشک این گیاهی همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده به‌ترتیب ۱۲ و ۲۹ گرم عصاره نیمه جامد از طریق عصاره‌گیری با حلال آبی و هیدروالکلی به‌دست آمد. عصاره‌های به‌دست آمده تا بررسی میکروبی در دمای ۴ درجه نگهداری شدند.

۲.۲. آزمون زیست‌سنجی (ضد باکتری)

در این آزمون عصاره آبی و هیدرومتانلی گیاه سنبل آبی جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی بر روی ۵ باکتری با مشخصات مندرج در جدول ۲ مورد بررسی قرار گرفت.

۳.۲. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ها–روش انتشار چاهک

فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه سنبل آبی در برابر گونه‌های بیماری‌زا از طریق سنجش قطر هاله عدم رشد باکتری و به‌روش نفوذ چاهک (Well diffusion) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش پس از آماده کردن سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک‌فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/mL) با استفاده از سوآپ استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت یکنواختی از باکتری‌ها انجام گرفت. سپس چاهک‌هائی به قطر ۶ میلی‌متر با استفاده از انتهای پیپت پاستور استریل در سطح محیط کشت ایجاد شد کف چاهک‌ها با استفاده از ۲۰ میکرولیتر محیط کشت ذوب شده پوشانده شد و پلیت‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در یخچال قرار گرفتند. سپس ۵۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌های مختلف در غلظت‌های ۵، ۲۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده و در چاهک مربوطه ریخته شد. پلیت‌ها به انکوباتور منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت سویه‌های بالینی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سویه‌های آبزی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. با اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها نسبت به عصاره‌های مختلف مورد سنجش قرار گرفت. به‌عنوان شاهد منفی، از حلال‌های عصاره‌گیری به تنهائی و برای شاهد مثبت نتایج آزمون آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل استفاده شد (CLSI, 2012).

۴.۲. تعیین کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد باکتری

دستورالعمل تعیین MIC (کم‌ترین غلظتی از ماده‌ی مورد بررسی که سبب مهار رشد باکتری می‌گردد) بر اساس استانداردهای ارائه شده توسط

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مشخصات ارگانیسم‌های مورد استفاده.

مشخصات ظاهری	شماره استاندارد ATCC	نام باکتری	عامل بیماری
کوکسی گرم مثبت	6538	*Staphylococcus aureus*	عفونت های بیمارستانی- مسمومیت
کوکوباسیل گرم منفی	8739	*Escherichia coli*	عفونت دستگاه گوارش
کوکوباسیل گرم منفی	9027	*Pseudomonas aeruginosa*	عفونت های بیمارستانی و پوستی
باسیل گرم منفی	7966	*Aeromonas hydrophila*	ایرومونازیس ماهیان گرمابی - زئونوز
کوکسی گرم مثبت	29177	*Streptococcus iniae*	استرپتوکوکوزیس ماهیان سردابی- زئونوز

Clinical and laboratory standard) CLSI institute)، انجام شد. استوک مناسبی از عصاره‌ها در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) ساخته و از آن سری رقتی از ۳۲ تا غلظت ۱۰۲۴میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با استفاده از محیط مولر هینتون براث در پلیت‌های ۹۶ خانه تهیه گردید. سپس سوسپانسیونی از کشت تازه (۱۸-۲۴ ساعته) سویه مورد نظر معادل نیم مک‌فارلند در محلول نمکی نرمال تهیه و از آن سوسپانسیونی به نسبت ۱:۱۰۰ با مولر هینتون براث تهیه و در نهایت به هر چاهک CFU/ml $۱۰^{۶}$×۱-۰/۵ از سویه باکتری مورد سنجش اضافه گردید. با اضافه شدن سوسپانسیون باکتری، غلظت نهایی ماده‌ی مورد بررسی در هر چاهک نصف می‌شود. پلیت‌های حاوی سری رقت از نمونه سویه‌های بالینی جهت گرماگذرای در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سویه‌های آبزی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرارداده شدند. پس از گرماگذاری، چاهک‌ها از لحاظ داشتن کدورت بررسی شده و کم‌ترین غلظت مهار کننده‌ی رشد، تعیین و برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ثبت گردید. در مورد عصاره‌هایی که پس از حل شدن در محیط کشت باعث ایجاد کدورت می‌شدند از معرف Resazurine استفاده گردید تا چاهک‌های دارای رشد از چاهک‌های بدون رشد تمیز داده شوند. برای همه‌ی آزمایش‌های تعیین MIC سه تکرار انجام شد. همچنین جهت کنترل کیفی تست، چاهک‌هایی جهت کنترل منفی (چاهکی که تنها حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع)، کنترل مثبت (چاهکی که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون رقیق شده‌ی باکتری) در نظر گرفته شد.

۵.۲. انجام تست MBC (Minimum Bactrial concentration)

تعیین کم‌ترین غلظت کشنده‌ی باکتری MBC به معنای غلظتی از ماده‌ی مورد بررسی است که سبب از بین رفتن ۹۹/۹ درصد از تعداد میکروارگانیسم مورد بررسی می‌گردد. برای تعیین این غلظت بعد از مشخص شدن MIC ۱۰۰ µl از محتویات هر چاهک بدون رشد، پس از هم‌زدن، بر روی یک پلیت نوترینت آگار به شکل چمنی کشت داده شد. گرماگذاری به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای مناسب انجام شد و کم‌ترین غلظتی از عصاره که هیچ‌گونه رشد باکتریایی برای آن مشاهده نشد، به‌عنوان کم‌ترین غلظت کشنده‌ی باکتری ثبت گردید.

۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف علیه میکروارگانیزم‌های مورد بررسی، آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. از نرم افزار SPSS 18 و آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس آزمون دانکن و توکی برای بررسی اختلافات بین میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. بعد از بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون تی‌تست مستقل جهت بررسی تاثیر نوع عصاره استفاده شد.

۳. نتایج

میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیزم‌های مورد آزمایش در برابر عصاره‌های مختلف سنبل آبی در جدول ۳ داده شده است. عصاره‌های آبی و هیدرومتانلی سنبل آبی دارای اثر ضد میکروبی متفاوتی بر روی ۳ گونه‌ی باکتری بیماری‌زای بالینی و دو گونه آبزی نشان دادند. غلظت ۴۰۰ میلیگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری، تاثیر مهاری بیشتری نشان داد ($P<۰/۰۵$). در تمام سویه‌ها به‌جز باکتری *Pseudomonas aeruginosa* این اختلاف با آنتی بیوتیک کلرامفنیکل معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). در بین دو نوع عصاره مورد بررسی تاثیر ضد میکروبی عصاره آبی برای سویه‌ی بالینی *Escherichia coli* با هاله

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- فعالیت ضد باکتری عصاره های سنبل آبی (قطر هاله عدم رشد برحسب میلیمتر) در غلظت‌های مختلف.

عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره (mg/ml)				کنترل**	کنترل*
		۲۵	۵۰	۱۰۰	۴۰۰	(-)	(+)
هیدرومتانلی	*Staphylococcus aureus*	۷±۰/۳ ^{e}	۸±۰/۶ ^{d}	۱۱ ±۰/۵ ^{c}	۱۱/۳±۰/۳ ^{b}	۶	۲۵ ^{a}
	Escherichia coli	۶	۷±۰/۵ ^{d}	۹/۶±۰/۳ ^{c}	۱۱/۶ ±۰/۳ ^{b}	۶	۲۲ ^{a}
	Pseudomonas aeruginosa	۶	۶	۶	۱۰/۳±۰/۶ ^{a}	۶	۱۱ ^{a}
	Aeromonas hydrophila	۶	۶	۱۰±۱ ^{c}	۱۱/۶±۰/۳ ^{b}	۶	۳۰ ^{a}
	Streptococcus iniae	۸±۰/۵ ^{e}	۱۰±۱ ^{c}	۹±۰/۵ ^{c}	۱۲/۳±۰/۶ ^{b}	۶	۲۵ ^{a}
آبی	*Staphylococcus aureus*	۶	۴±۰/۵ ^{d}	۱۰/۳±۰/۶ ^{c}	۱۱±۱ ^{b}	۶	۲۵^{a}
	Escherichia coli	۸±۰/۵ ^{e}	۹±۰/۵ ^{d}	۱۱/۶±۰/۳ ^{c}	۱۵/۳ ±۱ ^{b}	۶	۲۲ ^{a}
	Pseudomonas aeruginosa	۶	۶	۶	۹/۶±۰/۳ ^{a}	۶	۱۱ ^{a}
	Aeromonas hydrophila	۶	۶	۸/۳±۱ ^{c}	۱۱/۳±۲ ^{b}	۶	۳۰ ^{a}
	Streptococcus iniae	۶	۶	۹/۳±۰/۳ ^{c}	۱۰/۶±۰/۳ ^{b}	۶	۲۵^{a}

* کنترل مثبت: کلرامفنیکل (۳۰ µg/ml) * کنترل مثبت: کلرامفنیکل (۳۰ µg/ml) ، **کنترل منفی: ۵ ٪ DMSO - و قطر ۶ میلی‌متر قطر چاهک است.

جدول ۴- مقادیر MIC و mg/ml (MBC) عصاره های آبی و هیدرومتانلی برگ سنبل آبی.

میکروارگانیسم	عصاره هیدرومتانلی		عصاره آبی	
	MIC	MBC	MIC	MBC
Staphylococcus aureus	۱۲۸	۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶
Escherichia coli	۱۲۸	۲۵۶	۶۴	۱۲۸
Pseudomonas aeruginosa	>۲۵۶	۵۱۲	>۲۵۶	۵۱۲
Aeromonas hydrophila	۲۵۶	>۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲
Streptococcus iniae	۶۴	۱۲۸	۱۲۸	۲۵۶

عدم رشد ۱۵/۳±۱ میلی‌متر بیشتر بود. عصاره هیدرومتانلی بیشترین تاثیر را بر روی گونه آبزی *Streptococcus inia* با هاله عدم رشد ۱۲/۳±۰/۶ نشان داد. در مقایسه‌ای که بین تاثیر عصاره هیدرومتانلی نسبت به عصاره آبی بروی ایجاد هاله عدم رشد با آزمون مقایسه دوتائی تی‌تست مستقل انجام شد اشرشیا کولی به طور معنی‌داری تحت عصاره آبی برگ سنبل آبی و استرپتوکوک اینیائی تحت عصاره هیدرومتانلی افزایش فعالیت ضد میکروبی نشان دادند ($P<۰/۰۵$). در سایر موارد نوع عصاره تاثیر معنی‌داری را نشان نداد. در این بررسی *S. iniae* ،*E. coli* و*S.aureus* حساسیت بیشتری را در برابر عصاره‌های مختلف از خود نشان دادند.

بررسی جدول‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهد که کمترین MIC در بررسی عصاره هیدرومتانلی مربوط به غلظت ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لتر برآورد گردید و گونه *S. iniae* و کمترین MIC این بررسی در عصاره آبی مربوط *E. coli* با همین میزان بود. کمترین MBC براورد شده نیز در این راستا مربوط به گونه‌های *E. coli* و *S. iniae* بود. بیشترین مقاومت باکتریائی در گونه *P. aeruginosa* دیده شد، گرچه این مقاومت باکتریائی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P\geq۰/۰۵$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

به خاطر پیچیدگی مکانیسم جذب دارو توسط پاتوژن‌ها، بسیاری از داروها که هوشمندانه نیز طراحی شده‌اند، در کنترل عوامل میکروبی بی‌تاثیرند (Cushnie and Lamb, 2005). یکی از راه‌های کنترل مقاومت داروئی باکتریها استفاده از ترکیبات ضد میکروبی با منشاء طبیعی است که اثرات زیست محیطی کمتری نیز داشته باشد (Fareed *et al.*, 2008) رویکرد جدید و نوآورانه محققان، استفاده داروئی از علف‌های هرز است، تا چالش ایجاد شده توسط گیاهان هرز به فرصت بدل شود (Haggag *et al.*, 2017). گیاه هرز سنبل آبی گسترش وسیعی بر روی کره زمین پیدا کرده و از مناطق گرمسیری تا نیمه گرمسیری، جنگل های بارانی (Joshi and Kaur, 2013) تا مناطق سردسیری چون کوه‌های پرو و دریاچه Clair در کانادا را در بر گرفته است (Zhang

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۵- مروری بر عوامل میکروبی کنترل شده با عصاره های گیا ه سنبل آبی.

منبع	عوامل باکتریائی کنترل شده
Fareed *et al.*, 2008	*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi*
Shanab *et al.*,2010	*Escherichia coli, Staphylococcus aureus ,Bacillus subtilis , Streptococcus faecalis*
Baral *et al.*, 2011	*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Acinetobacter sp., Bacillus subtilis, Proteus mirabilis, S. typhi, Schigella dysenteriae, Klebsiella pneumoniae*, Salmonella Paratyphi**
Jayanthi and Lalitha , 2013	*Staphylococcus albus*
Joshi and kaur, 2013	*Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis , Bacillus subtilis , Pseudomonas aeruginosa*
Kumar *et al.*, 2014	*Proteus vulgaris, Salmonella typhi, Streptococcus mutans, Bordetella bronchiseptica*, Bacillus cereus**
Haggag *et al.* 2017	*Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Lactobacillus casei, Pseudomonas aeruginosa*
Isebe, 2016	*Staphylococcus aureus , Bacillus subtilis ,salmonella typhimurium, Escherichia coloi**
Rehman *et al.*, 2016	*Eschericha coli, Staphylococcus aureu, Bacillus subtilis, Shigella flexenar, Pseudomonas aeruginosa , Salmonella typhi**

*مقاوم نسبت به عصاره سنبل

et al., 2010; Adebayo *et al.*, 2011).

در بررسی حاضر، عصاره هیدرومتانلی و آبی سنبل آبی توانسته هاله عدم رشد برای گونه‌ها بیماری-زائی بالینی و آبزی ایجاد کند. در مورد بررسی تاثیر ضدمیکروبی عصاره گیاه سنبل آبی بر روی گونه‌های آبزی تاکنون بررسی انجام نشده است و بررسی فوق حاکی از آن است که عصاره‌های استحصالی از برگ این گیاه بر روی هر دو گونه گرم منفی و مثبت بیماری‌زای آبزی اثر مهاری دارد. این تاثیر بر روی گونه‌ی گرم مثبت استرپتوکوک اینیائی نسبت به سویه گرم منفی آیروموناس هیدروفیلا بیشتر بود. نتایج نشان داد که این اثر مهاری تحت عصاره هیدرومتانلی نسبت به عصاره آبی به‌طور معنی‌داری بر روی باکتری استرپتوکوک بیشتر است.

همان‌طور که جدول مروری بررسی‌های انجام شده بروی گونه‌های بیماری‌زای بالینی (جدول ۵) نشان می‌دهد به‌جز بررسی (Rehman *et al.*, 2016; Isebe, 2016)، در مورد اشرشیا کولی در سایر بررسی ها تاثیر ضد میکروبی عصاره‌های گیاه سنبل آبی بر روی سه گونه‌های بیماریزای بالینی با تحقیق فوق مشابه بوده است. در مرور بررسی‌های سایر محققین در مقایسه اثر مهاری عصاره‌های الکلی و آبی بر روی اشرشیا کولی، تاثیر عصاره الکلی بیشتر بوده هر چند این افزایش معنی‌دار گزارش نشده است (Haggag *et al.*, 2017; Fareed *et al.*, 2008). در حالی‌که در این بررسی به‌طور معنی‌داری هاله عدم رشد در عصاره ابی بیشتر مشاهده شد. میزان هاله عدم رشد در دوز حداکثر عصاره بر روی گونه گرم منفی آئروژینوزا نزدیک به دیسک آنتی‌بیوتیک کلرامنیکل براورد گردید و این اختلاف معنی‌دار نبود.

مواد فیتوشیمیائی موجود در برگ عصاره آبی گیاه فوق پتانسیل از بین بردن باکتری‌های گرم منفی را دارد و به‌طور معنی‌داری قادر به کنترل باکتری‌های گرم مثبتی چون *Bordetella bronchiseptica* و *Bacillus cereus* نیست. در این تحقیق ترکیبات فیتوشیمائی غربال شده موجود در عصاره برگ سنبل آبی را دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی و آنتی اکسیدانی گزارش کرده است (Kumar *et al.*, 2014). در تحقیق حاضر این نتیجه‌گیری در باره ائروژینوزا و اشرشیا کولی صادق بود، اما باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوک اینیائی و استافیلوکوک اورئوس نیز هاله های عدم رشد متاثر از عصاره های استخراجی داشتند.

از آن جائی‌که خاصیت داروئی و ضدمیکروبی گیاهان به‌خاطر وجود متابولیت‌های ثانویه و تاثیر این مواد موثره بر روی سلول‌های هدف است (Kumar *et al.*, 2014). کمیت و کیفیت این مواد، به عواملی چون زمان و مکان برداشت گیاه، حلال مصرفی، اندامی از گیاه که مورد استفاده قرار می‌گیرد، وابسته است (Fareed *et al.*, 2008)، تغییر این عوامل محیطی و آزمایشگاهی در غربالگری فیتوشیمیائی گیاه سنبل آبی در جدول ۶ نشان داده شده است، می‌تواند منشا این تفاوت‌ها باشد. تفاوت جغرافیای زیستی و عوامل محیطی بر روی میزان عصاره دهی توسط حلال‌های یکسان نیز موثر است به‌طوری‌که میزان بازده عصاره-دهی در بررسی ما همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شد، با حلال آب ۲۸ درصد و این میزان با حلال

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۶- مروری بر تحقیقات غربالگری فیتوشیمی گیاه سنبل آبی با حلال متانل و آب در جغرافیای متفاوت زیستی.

عصاره	اندام	جغرافیا	متابولیت ثانویه	منبع
آبی و متاتلی	برگ	مصر	Flav, Sterol, Terp, Alka, Gli	Fareed *et al.*, 2008
متانل	کل گیاه بدون	مصر	Phe, Alka, Ter, Phatalat	Shanab *et al*., 2010
متانل	برگ	اندونزی	Flav, phe, Tan	Rorong *et al*., 2012
متانل	برگ	هند	Alk, Phen, Streroied, Tan	Joshi and kaur, 2013
اتانل	کل گیاه بدون ریشه	هند	Phen, Flav, Antra	Jayanthi and Lalitha, 2013
آب	برگ	هند	Phe, Alka, Ter, Sap	Kumar *et al*., 2014
متانل	برگ	مصر	Alk, Terp, Flav, Tan	Ho *et al.*, 2012
آب		کنیا		Isebe *et al*., 2016
متانل - آب	برگ	مصر	Flav, Alk, Terp, Tan	Haggag *et al*., 2017

فنل (Phe)، فلاونوئید (Flav)، آلکالوئید (Alk)، کوئینون(Qui)، آنتراکوئینون (Antra)، ساپونین (Sap)، گلیکوزید (Gli)،

هیدرومتانلی ۱۲ درصد برابر می‌باشد. در نپال، بازده عصاره دهی با حلال آبی و متانلی به‌ترتیب ۳۲ و ۳ درصد گزارش شده است (Baral *et al*., 2011). در کشور تایلند باحلال متانلی ۱۶/۹ (Chantiratikul *et al*., 2009) و در کشور هند با حلال آبی و اتانلی به‌ترتیب ۲۲/۲ و ۷/۹ برآورد گردید (Surendraraj *et al*., 2013).

اثر ضد میکروبی نه تنها به گونه و حلال مورد استفاده در استخراج مواد موثره گیاهی وابسته است، بلکه به اندامی از گیاه که مورد استفاده قرار می‌گیرد نیز مربوط می‌شود. به‌طوری‌که مطالعات نشان داد که برگ گیاه سنبل آبی تاثیر ضد میکروبی بیشتری نسبت به ریشه دارد (Fareed *et al*., 2008). در سایر بررسی‌ها این تفاوت بین برگ گیاه و دیگر اندام‌ها چون ساقه و گل نیز گزارش شده است (Joshi and Kaur, 2013; Kumar *et al.*, 2014; Haggag *et al*., 2017). بررسی بر روی گیاهان ماکروفیتی نیز نشان داده است که عموماً عصاره‌های حاصل از برگ در مقایسه با بقیه قسمت‌های گیاهان بیشترین خاصیت ضد میکروبی را نشان می‌دهد (Ncube *et al*., 2011).

عصاره متانلی بیشترین خاصیت میکروبی را در بین بررسی‌های مروری نشان داده است (Jayanthi and Lalitha, 2013; Joshi and Kumar, 2013). غربالگری‌های فیتوشیمیائی انجام شده بر روی گیاه سنبل آبی حضور ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلیک و فلاونوئیدها) , آلکالوئید، تانین و ساپونین و ترپنوئید را بیان می‌دارد (جدول ۶). بررسی‌های انجام شده بر روی میکروارگانیسم‌های کنترل شده با عصاره‌های سنبل آبی، حضور متابولیت‌های ثانویه مستخرج را عامل این تاثیر بیان می‌کند. محققین این بررسی‌ها مواد موثره‌ی یاد شده را عامل فعالیت ضد میکروبی عصاره این گیاه بیان نمودند.

بررسی‌ها بر روی مکانیسم ضدمیکروبی این متابولیت‌ها نشان می‌دهد، تانین‌ها با اتصال به پروتئین باکتری و توقف سنتزش مانع تکثیرشان می‌شوند وفعالیت ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کنند (Thamaraiselvi and Jayanthi, 2012; Patel, 2012). ساپونین‌ها به‌عنوان سم موجود در اندام‌های مختلف گیاهی نقش آنتی بیوتیک و قارچ‌کش را دارا می‌باشند (Ncube *et al*., 2011). ترکیبات فنلی که در گیاهان، جهت دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا و استرس محیطی تولید می‌شوند (Treutter, 2001) اثرات چندگانه زیستی داشته و باعث حذف رادیکال-های آزاد و بروز خواص آنتی اکسیدانی است (Chantiratikul *et al*., 2009; Surendraraj *et al*., 2013). بررسی‌ها همچنین گزارش از حضور ترکیبات فاتالاتی و آلکالوئید Yohimbine می‌دهد (Shanab *et al*., 2010)

عمده فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی متاثر از فلاوونوئید، تری‌ترپنوئید وترکیبات پلی‌فنلی طبیعی و گروه‌های هیدروکسیل آزاد است (Baral *et al*., 2010) متابولیت ثانویه چون فنل، پلی فنل‌ها، نقش مهم در مهار رشد میکروبی ایفا می‌کنند (Joshi *et al*., 2013).

فلاوونوئیدها گروهی از مواد پلی‌فنلی هستند که باعث فعالیت ضدمیکروبی بوده و از طریق جذب رادیکال آزاد و حفاظت از غشاء سلولی در این راستا اثر گذارند (Kumar *et al*., 2014). به‌طوری‌که در جدول مروری غربالگری فیتوشیمیائی سنبل آبی نشان داده

Archive of SID

www.SID.ir

شد، این ترکیبات در اکثر بررسی‌ها گزار ش شده است. فلاوونوئیدها و رابطه هم افزائی بین این گروه از متابولیت‌های ثانویه با سایر عوامل ضدباکتری مخصوصاً در برابر گونه‌های مقاوم نشان داده که تاثیر این گروه از مواد موثره قابل توجه است. حضور فلاوونوئیدهایی چون کوئرستین ، مایرستین و نارنجین در گیاه سنبل آبی (Nyananyo *et al*., 2007; Chantiratikul *et al*., 2009) به ترتیب از طریق مهار دی ان ای جیراز پاتوژن و افزایش نفوذپذیری غشاء باکتری، تکثیرش را متوقف می‌کند (Cushnie and Lamb, 2005). در بررسی مقایسه‌ای ماکروفیت‌های دریاچه‌ای در نزدیک رود نیل در مصر اثر ضدمیکروبی عصاره سنبل آبی به‌خاطر حضور فلاوونوئید بالاتر از سایر ماکروفیت‌های که فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری داشتند، گزارش شد (Sharshar and Haroon, 2006).

باید در نظر داشت علاوه بر موارد موثر بر شمرده شده، اثر هم افزائی این مواد موثره در کنترل عوامل میکروبی قابل تامل است (Chu *et al*., 2010; Aboul-Enein *et al*., 2014). به‌طوری‌که بررسی‌ها نشان داده است که اثر بخشی مطلوب یک گیاه داروئی به‌خاطر تاثیر یک ماده اصلی نبوده بلکه ترکیبی از مواد موثره مختلف گیاهی اثر گذار است (Lata and Dubey , 2010).

این تحقیق نشان داد که گیاه هرز سنبل آبی که جهت مبارزه با گسترش آن در منابع آب‌شیرین و تالاب‌ها از جمله تالاب عینک و تالاب انزلی، حجم زیادی از آن به‌صورت زباله برداشت و دور ریز می‌شود می‌تواند جهت بررسی فعالیت‌های ضدمیکروبی مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به این‌که بخش اعظم بازار گیاهان داروئی دنیا، به تولید و عرضه متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مربوط می‌شود (Matkowski, 2008)، با توجه به گسترش اجتناب‌ناپذیر گیاه سنبل آبی، ارزیابی‌های دارویی و جداسازی احتمالی مواد ضدمیکروبی آن می‌تواند چشم انداز تحقیقات آینده باشد.

References

Adebayo, A. A., Briski, B., Kalaci, O., Hernandez, M., Ghabooli,S., Beric, B., Chan, F. T., Zhan, A., Fifield, E., Leadley, T ., Hugh J. MacIsaac, H. J., 2011. Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (Pistia stratiotes) in the Great Lakes: playing with fire. *Aquatic Invasions* 6(1), 91–96.

Aboul-Enein, A.M., Sanaa, A.M., Shanab, M.M., Emad, M.M., Shalaby, A., Malak, M., Zahran, M., Lightfoot, D.A., El-Shemy, H.A., 2014. Cytotoxic and antioxidant properties of active principals isolated from water hyacinth against four cancer cells lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14(1), 397-407.

Alikhani, M., Tabar, Y., karimi, Z., Mihani, M., Kalantar,F., Karami, E., Sadeghi, P., Khosroshahi,M., Ahdi, SH., Farajnia, S., 2014. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of blaPER-1 and blaVEB-1 genes among ESBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in West of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 7(1), 1-5.

Arabshahi-delouee, S., Urooj, A., 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry* 102(4), 1233-1240.

Baral, B., Vaidya, G.S and Bhattarai, N., 2011. Bioactivity and biochemical analysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Botanica Orientalis – Journal of Plant Science*, 8, 33–39.

Chantiratikul, P., Meechai, P., Nakbanpotec, W., 2009. Antioxidant activities and phenolic contents of extracts from Salvinia molesta and *Eichornia crassipes*. *Research Journal of Biological Sciences* 4(10), 1113-1117.

Chu, W.L.L., Radhakrishnan, Y.W., Lim, A.K., Eem, P., 2010. Protective effect of aqueous extract from Spirulina platensis against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 10(1), 53.

CLSI. 2012. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: Approved standard: *National Committee for Clinical Laboratory Standards* 29(1), 1–76.

Archive of SID

www.SID.ir

Cushnie, T.P., Lamb, A.J., 2005. Review; Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26(2005), 343–356.

Derita, M.G., Leiva, M.L., Zacchino, S.A., 2009. Influence of plant part, season of collection and content of the main active constituent, on the antifungal properties of Polygonum acuminatum Kunth. *Journal of Ethnopharmacology* 124(3), 377–383.

El-Shoubary, M.E.E. 2010. The antimicrobial activity of some seaweeds collected from Alexanderia coast. M.Sc. Thesis. Botany and Microbiology department. *Faculty of Science. Tanta University, Tanta, Egypt* 155 p.

Fareed, M.F., Haroon, A.M., Rabeh, S.A., 2008. Antimicrobial activity of some macrophytes from Lake Manzalah (Egypt). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11(21), 2454-2463.

Haggag, M.W., Abou El Ella, S.M., Abouziena, H., 2017. Phytochemical analysis, antifungal, antimicrobial activities and applications of *Eichhornia crassipes* against some plant pathogens. *Planta Daninha,Sociedade Beasileira Da ciencia Das Plantasdaninhas* 35, DOI: 10.1590/S0100-83582017350100026.

Harbarth, S., Fankhauser, C., Schrenzel, J., Christenson, J., Gervaz, P., Bandiera-Clerc, C., Renzi, G., Vernaz, N., Sax, H., Pittet, D., 2008. Universal screening for methicillin-resistant Staphylococcus aureus at hospital admission and nosocomial infection in surgical patients. *Journal of the American Medical Association*, 299(10), 1149-1157.

Ho, T. Tham., 2012. Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Biomass roduction, Ensilability and Feeding Value to Growing Cattle. phD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae* 64 p.

Ho, Y.L., Huang, S.S., Deng, J.S., Lin, Y.H., Chang, Y.S.C., Huang, G.H., 2012. In vitro antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in Taiwan. *Botanical Studies* 53(1), 55-66.

Holm, L.R.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V., Herberger, J. P. 1977. The world's wrost weeds. Distribution and biology. East- west center, university of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA, 621 p.

Isebe, T. I., 2016. Phytochemical composition and antibacterial activity of *Eichhornia Crassipes* in Lake Victoria, Kisumu. *International Journal of Scientific and Technology Research* 5(8), 45- 52.

Jayanthi, P., Lalitha, P., 2013. Antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Der Pharma Chemica* 5(3), 135-140.

Joshi, M., Kaur, S., 2013. In vitro evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of calotropis procera, *Eichhornia crassipes* and datura innoxia leaves. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 6(5), 25-28.

Kumar, SH., Kumar, R., Dwivedi, A., Pandey, A., 2014. Activity and In Vivo Effect of *Syngonium podophyllum* and *Eichhornia crassipes* Leaf Extracts on Isoniazid Induced Oxidative Stress and Hepatic Markers. *BioMed Research International* 2014(1), 1-11.

Lata, N., Dubey, V. 2010. Quantification and identification of alkaloids of *Eichhornia crassipes*: the world's worst aquatic plant. *Journal of Pharmacy Research* 3(6), 1229-123.

Lenora, L.M., Senthil Kumar, J., Murugesan, S., Senthilkumar, N., 2015. Anticancer Activity of Water Hyacinth [*Eichhornia Crassipes* (Mart) Solms] On Human Cervical Cancer Cell Line. *Octa Journal of Environmental Research* 3(4), 327-331.

Matkowski A., 2008. Plant in vitro culture for the production of antioxidants: A review. *Biotechnology Advance* 26(6), 548–560.

Mozafarian, V., Yaghoubi, B., 2015. New record of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth) from north of Iran. *Rostaniha* 16(2), 208-211.

Ncube, B., Finnie, J.F., Van Staden, J., 2011.Seasonal variation in antimicrobial and phytochemical properties of frequently used medicinal bulbous plants from South Africa. *South African Journal of Botany*, 77(1), 387–396.

Nyananyo, B.L., Gijo, A.H., Ogamba, E.N., 2007. The Physico-chemistry and Distribution of Water Hyacinth (*Eichhornia cressipes*) on the river Nun in the Niger Nelta. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 11(3), 133–137.

Otter, J.A., Havill, N.L., Boyce, J.M., French, G.L., 2009. Comparison of community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* from teaching hospitals in London and the USA, 2004–2006: where is USA300 in the UK. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 28(7), 835-839.

Patel, S., 2012. Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: an overview. *Reviews Environmental Science and Biotechnology*, 11(3), 249–259.

Jyoti Das, R., Pathak, K., 2013. Use of Indigenous Plants in Traditional Health Care Systems by Mishing Tribe of Dikhowmukh, Sivasagar

Archive of SID

www.SID.ir

District, Assam. *International Journal of Herbal Medicine* 1(3), 50-57.

Rehman, R., Aslam, M.S., Choudhary, B.A., Uzair, M., Ijaz, A., Ahmad, M.S., 2016. Biological screening of *Eichornia crassipes* against different pathogenic microbes: An in vitro study. *Recent Advances in Biology and Medicine* 2, 79-82.

Rorong, A.R., Diarso, S., Polii-Mandang, J., Suryanto, E., 2012. Phytochemical analysis of wter hyacinth (*Echhornia crassipes*) of agriculture waste as biosensitizer for ferri photoreduction. *Agritiva* 34(2), 152-160.

Shanab, S., Shalaby, E., Lightfoot, D., El-shemy, H., Allelopathic., 2010. Effects of water hyacinth (*Echhornia crassipes*). *PLoS ONE* 5(10), 1-8.

Sharma, A., Deo, A. D., Riteshkumar, T., Ibemcha Chanu, T., Das, A., 2010. Effect of Withania somnifera (L. Dunal) root as a feed additive on immunologicalparameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology* 29, 508-512.

Sharshar, K.M., Haroon, A., 2009.Comparative investigations on some biological and biochemical aspects in freshwater crayfish (*Procambarus clarkii*) Fed on *Eichhornia crassipes*, *Echinochloa stagnina* L. and *Polygonum tomentosum* L.: American-Eurasian. *Journal of Agricultural and Environmental Science* 5(4), 579-589.

Soltani, M., Mazandarani, M., Mirzargar, S., Ebrahimzade Mousavi, H.A., Taheri-Mirghaed, A., Khoshbavar-Rostami, H.A., 2014. Pathogenicity of *Streptococcus iniae* in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerling. *Journal of Veterinary Research* 69(2), 119-125. (In Persian)

Surendraraj, A., Farvin, K.H., Sabeena Anandan, R., 2013. Antioxidant potential of water hyacinth (*Eichornia crassipes*): In vitro antioxidant activity and phenolic composition. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 22(1), 11–26.

Téllez, T.R., Rodrigo López, E., Granado, G., Pérez, E., Morán López, L., Juan Guzmán, M., 2008.The Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions* 3(1), 42-53.

Thamaraiselvi, P., Lalitha, P., Jayanthi, P., 2012. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. Asian *Journal of Plant Science and Research* 2(2), 115-122.

Treutter, D., 2001. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 71–89.

Vadlapudi, V., 2010. In vitro antimicrobial activity of methanolic extract of selected Indian medicinal plants. *Pharmacophore* 1(3), 214-219.

Vanhems, P., lepape, A., Savey, A., Jambou, P., Fabry, J., 2000. Nosocomial pulmonary infection by antimicrobial resistant bacteria of patients hospitalized in intensive care units risk factors and survival. *Journal of Hospital Infection* 45(2), 98-106.

Zhang, Y.Y., Zhang, D.Y., Barrett, S.C.H., 2010. Genetic uniformity characterizes the invasive spread of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), a clonal aquatic plant. *Molecular Ecology* 19(9), 1774–1786.

Archive of SID

www.SID.ir