

## کاربرد عصاره هیدروالکلی سیر (*Allium sativum*) در مبارزه با انگل تک یاخته‌ای خارجی (تریکودینا) در بچه تاسماهی ایرانی

سهیل بازاری مقدم<sup>۱\*</sup>، جلیل جلیل پور<sup>۱</sup>، مهدی معصوم‌زاده<sup>۱</sup>، مهدی علیزاده<sup>۱</sup>  
<sup>۱</sup> موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی - رشت  
 ص. پ: ۳۴۶۴ - ۴۱۶۳۵

### چکیده

همگام با توسعه پرورش ماهیان خاویاری در کشور، لزوم توجه به سلامت آبزیان و استفاده از موادی با منشأ طبیعی در مبارزه با عوامل بیماری‌زای این ماهیان امری ضروری محسوب می‌گردد. در این راستا کاربرد گیاهان دارویی به منظور جایگزینی با مواد شیمیایی در کنترل عوامل ایجاد کننده بیماری از جمله انگل‌ها حائز اهمیت می‌باشند. این مطالعه با هدف تعیین اثر بخشی و تعیین دوز نیمه کشنده عصاره هیدروالکلی سیر در مبارزه با انگل تک‌یاخته‌ای خارجی (تریکودینا) انجام پذیرفت. بدین منظور، پس از تعیین غلظت‌های کشنده (LC<sub>50</sub>) این عصاره بر روی بچه تاسماهی ایرانی، نسبت به انجام مطالعات تعیین غلظت نیمه‌کشنده (EC<sub>50</sub>) عصاره اقدام گردید. در این مطالعه اثرات کاربرد عصاره سیر بر روی گلبول‌های سفید خون نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون در مطالعات تعیین EC<sub>50</sub> عصاره، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در میزان لنفوسیت، مونوسیت و نیز نوتروفیل در تیمارهای مختلف بود ( $P > 0.05$ ). غلظت مؤثره عصاره هیدروالکلی سیر بر انگل تریکودینا در محدوده غلظت ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید، بطوریکه غلظت نیمه کشنده عصاره (EC<sub>50</sub>) طی مدت یک‌ساعت حمام برابر ۱۷۲/۵ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. بر این اساس، عصاره سیر در دسته ترکیبات با سمیت کم طبقه‌بندی شده و جهت جایگزینی با مواد شیمیایی مناسب می‌باشد. بنابراین، این عصاره بمنظور از بین‌بردن انگل تریکودینا در مزارع پرورش ماهیان خاویاری قابل توصیه خواهد بود.

**کلمات کلیدی:** عصاره سیر، بچه تاسماهی ایرانی، انگل، تریکودینا

**مقدمه**

به طور طبیعی فاقد آلیسین بوده و این ماده از پیش ماده ای به نام آلیین ایجاد می‌گردد. آلیسین یک ماده دارویی قدرتمند است که در برابر عوامل پاتوژن مقاومت می‌کند. تاکنون مطالعات متعددی بر روی سیر در زمینه اثرات ضد میکروبی، اثرات ضد سرطان، کاهش میزان قند خون، تحریک سیستم ایمنی، اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدانی انجام شده است (Shalaby et al., 2002; Diab et al., 2006). تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بعنوان تنها گونه خاویاری بومی سواحل جنوبی دریای خزر از جمله ماهیانی بشمار می‌آید که دارای ارزش غذایی و اقتصادی خاصی می‌باشد. امروزه نظر به اهمیت و لزوم جایگزینی گیاهان دارویی بجای مواد شیمیایی بمنظور کنترل و درمان بیماریها ضروری است که مطالعه تاثیرگذاری عصاره هیدروالکلی سیر در مبارزه با انگل خارجی تریکودینا بر روی این گونه با ارزش نیز انجام گیرد.

**مواد و روشها**

در این مطالعه، پس از انتقال بچه تاسماهیان ایرانی از استخرهای پرورشی خاکی به مخازن فایبرگلاس، بمنظور تعیین غلظت‌های تاثیرگذار عصاره سیر، ابتدا نسبت به انجام مراحل تعیین غلظت‌های کشنده (LC50) این عصاره اقدام گردید. در این مطالعه مقادیر مورد نیاز عصاره هیدروالکلی سیر از شرکت کشت و صنعت و فرآوری گیاهان دارویی سها جیسا با دارا بودن استانداردهای بین المللی ISO 9001، ISO 14001، HACCP و IQnet (سازمان جهانی کیفیت) تهیه گردید (جدول ۱).

استفاده از گیاهان دارویی از دیر باز به علت داشتن برخی ترکیبات شیمیایی خاص، بطور ویژه‌ای در درمان انواع بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته است (یادگار و همکاران، ۱۳۸۸). براساس بررسی‌های جامع صورت گرفته (پروژه-های بررسی کمی و کیفی بچه‌ماهیان خاویاری از مرحله تکثیر تا رهاکرد طی سال‌های ۱۳۷۹ الی ۱۳۸۲ و نیز طرح ملی بررسی وضعیت بهداشتی کارگاههای تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری طی سال‌های ۱۳۸۴ الی ۱۳۸۸) از جمله مهمترین مخاطرات بچه تاسماهیان در محیط‌های پرورشی، آلودگی آنها به انواع انگل‌های تک‌یاخته‌ای خارجی می‌باشد (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۸۸). انگل‌های تک‌یاخته‌ای خارجی می‌توانند سبب ایجاد بیماری و تلفات در بچه‌ماهیان انگشت‌قد گردند (Lyholt and Buchmann, 1995). در این بین از مهمترین تک‌یاخته‌ای خارجی شایع در بچه ماهیان خاویاری انگل *Trichodina* sp. بوده که این تک‌یاخته-ای علاوه بر ایجاد جراحات پوستی، می‌تواند در آلودگی بچه ماهیان به انواع عوامل بیماریزا باکتریایی و قارچی نیز مؤثر باشد (Mohamed et al., 2012). انگل تریکودینا بر روی آبشش و پوست ماهی زندگی نموده و بزرگترین گروه انگل تک‌یاخته‌ای ماهی بوده و از دیدگاه آسیب شناسی بسیار حائز اهمیت می‌باشند (Lyholt and Buchmann, 1995). سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی دوساله با پیازی مرکب می‌باشد. ترکیبات موجود در سیر به دو گروه عمده ترکیبات سولفور و غیرسولفور تقسیم گردیده و خواص دارویی سیر عمدتاً به دلیل حضور ترکیب سولفور ای به نام آلیسین می‌باشد (Shalaby et al., 2006). سیر

جدول ۱: آنالیز عصاره هیدروالکلی سیر مورد استفاده

Test	Method	Standard	Result
Color	Organoleptic	Light brown-Dark brown	Brown
Odor	Organoleptic	Natural odor	Natural odor
Dry residue (100-105° c/2h)	BP2009	2% - 4%	3.03%
Density	BP2009	0.85 – 1	0.98
pH	BP2009	5 – 7	6.36
Alcohol contents	In house	10% - 20%	19%
Identification	TLC	Conform	Conform
Assay	DAB10	85 – 120 mg/100cc	108.2 mg/100cc
Total bacterial count	USP32	Max. 10 <sup>2</sup> per ml	Max. 10 <sup>2</sup> per ml
Total mould and yeasts	USP32	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	USP32	Absent	Absent
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	USP32	Absent	Absent
Salmonella	USP32	Absent	Absent
E. coli	USP32	Absent	Absent

### تعیین غلظت نیمه کشنده انگل (Effective)

#### EC<sub>50</sub>(Concentration)

بدین منظور پس از جمع‌آوری تصادفی بچه تاسماهیان ایرانی از استخرهای خاکی پرورشی، بچه ماهیان مذکور همراه با آب استخر به مخازن نیم‌تنی موجود در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر منتقل شده و سپس نسبت به تعیین درصد شیوع و میانگین شدت انگل تریکودینا مبادرت گردید. پس از این مرحله، بچه‌تاسماهیان ایرانی به آکواریوم‌هایی که به منظور اجرای

با توجه به اینکه در نظر بود دوزها و غلظت‌های مؤثر این عصاره طی مدت یک ساعت تعیین گردد، بدین منظور لزوم تعیین اثرات غلظت‌های کشنده این عصاره‌ها طی مدت یک ساعت نیز وجود داشت. بدین‌منظور آزمایش تعیین غلظت‌های کشنده عصاره‌های هیدروالکلی سیر، بعد از طی مراحل سازگاری و انتقال بچه تاسماهیان ایرانی به تشتک‌های ۳۰ لیتری مجهز به سیستم هوادهی انجام شد. این آزمایشات بر اساس روش استاندارد O.E.C.D (TRC, 1984) صورت گرفت.

بدین منظور نسبت به تهیه لامهای مرطوب از پوست و آبشش با استفاده از روش‌های رایج ( Fernando *et al.*; 1972, Stoskope, 1993) و مطالعه توسط میکروسکوپ نیکون 50i همراه مانیتور متصل به آن برای هر یک از بچه ماهیان اقدام شد. پس از شمارش تعداد انگل‌های تریکودینا در لام‌های مرطوب تهیه شده از پوست و آبشش نسبت به ثبت تعداد انگل‌های شمارش شده هر ماهی در جداول ویژه‌ای اقدام گردید.

بمنظور ارزیابی میزان تأثیرات عصاره‌ها با دوزهای مختلف در تیمارها و تعیین درجه تأثیرگذاری ضد انگلی عصاره‌ها در هر یک از تیمارهای مورد مطالعه، از رابطه زیر استفاده گردید (Yao *et al.*, 2011).

$$E = (C - T) \times 100 / C$$

E = درجه تأثیر ضد انگلی

C = میانگین شدت انگل تریکودینا در شاهد

T = میانگین شدت انگل تریکودینا در هر دوز مورد

استفاده (هر تیمار)

هر چقدر مقدار E در بین تیمارهای مختلف بیشتر باشد میزان تأثیرگذاری آن دوز بیشتر خواهد بود.

پس از خاتمه هر مرحله از آزمایشات و پس از جمع‌آوری داده‌ها، بمنظور تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارهای مربوطه از نرم‌افزارهای SPSS ver 17.0 و Excel 2007 و به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Kolmogorov-smirnov استفاده شد. در این مطالعه از آزمون‌های One Way Anova، آزمون دانکن، آزمون و ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. بمنظور انجام محاسبات غلظت‌های موثره عصاره نیز از روش Probit analysis (Finney, 1971) استفاده شد.

مراحل مختلف آزمایش تعیین غلظت‌های مؤثره آماده شده بودند، منتقل و نسبت به تیمار بندی بر اساس دوزهای تعیین شده که بصورت لگاریتمی محاسبه شده بودند، اقدام گردید.

EC50 با روش رسم منحنی دوز- پاسخ و با استفاده از روش آماری Probit Analysis تعیین گردید. در این تحقیق، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب همچون اکسیژن محلول (DO)، دمای آب، pH بطور روزانه و در مرحله تعیین غلظت موثره عصاره هیدرو الکلی سیر طی یک ساعت با استفاده از دستگاه‌های اندازه‌گیری صحرایی مدل WTW اندازه‌گیری شد.

بطوریکه محدوده دما بین ۲۱/۹-۲۲/۳ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۵۴-۷/۸۲، اکسیژن محلول (DO) ۷/۹-۷، هدایت الکتریکی (EC) ۷۶۷-۸۸۰ (μs/cm)، سختی کل ۲۸۰-۳۱۰ و نیتريت ۰/۰۰۰۲-۰، نترات ۰/۰۱-۰ و آمونیاک ۰/۳۳۴-۰/۲۳۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید.

بمنظور ارزیابی تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی سیر بر فاکتورهای خونی در مطالعه تعیین غلظت موثره ضد انگل، با توجه به کوچک بودن سائز بچه تاسماهیان ایرانی مورد مطالعه (حدود ۳ گرم)، امکان خونگیری توسط سرنگ از طریق سیاهرگ دمی امکانپذیر نبود. لذا عملیات خونگیری از طریق قطع ساقه دمی انجام شد. با توجه به مقدار خون بسیار کم جمع‌آوری شده از هر ماهی، امکان انجام مطالعات سرولوژیک مهیا نگردید و فقط به شمارش افتراقی گلبولهای سفید (عامری مهابادی، ۱۳۷۸) بسنده شد.

پس از انتقال بچه تاسماهیان ایرانی از استخرهای پرورشی خاکی و تخلیه بچه-تاسماهیان همراه با آب استخرهای محل پرورش آنها در مخازن نیم تنی، نسبت به نمونه برداری تصادفی از ۵۰ عدد بچه ماهی بمنظور تعیین درصد شیوع و میانگین شدت انگل تریکودینا اقدام گردید.

سرانجام محدوده غلظت ۱۲۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ میلی گرم در لیتر برای انجام آزمایشات نهایی تعیین گردید. بر اساس محاسبات لگاریتمی ۷ تیمار (۱۲۰۰۰، ۱۲۳۰۰، ۱۲۶۲۰، ۱۲۹۵۰، ۱۳۲۸۰، ۱۳۶۲۰ و ۱۴۰۰۰ میلی گرم لیتر) در نظر گرفته شد و نسبت به گروه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). بر این اساس، میزان LC<sub>50</sub> این عصاره طی مدت یکساعت معادل ۱۲۶۲۴/۰۸ میلی گرم در لیتر تعیین شد. همچنین معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی ( $R^2$ ) حاکی از وجود ارتباط مستقیم (همبستگی قوی و مثبت) بین غلظت‌های مورد بررسی با میزان تلفات بچه تاسماهیان ایرانی می باشد.



تصویر ۱؛ انگل تریکودینا (746X)، Scale bar 10  $\mu$ m

### نتایج

در این تحقیق بمنظور یافتن محدوده غلظت کشنده عصاره هیدروالکلی سیر، آزمایشات ابتدایی (pre-LC<sub>50</sub>) یکساعته بر روی بچه تاسماهیان ایرانی انجام گرفت و

جدول ۲؛ غلظت‌های کشنده عصاره سیر (mg/l) طی یک ساعت روی بچه تاسماهی ایرانی

مقدار LC/ زمان	۳۰ دقیقه	۴۵ دقیقه	۶۰ دقیقه
LC <sub>10</sub>	۱۲۲۰۶/۷۴	۱۱۸۹۳/۲۳	۱۱۷۴۸/۹۷
LC <sub>50</sub>	۱۳۷۴۳/۵۸	۱۳۰۵۵/۶۹	۱۲۶۲۴/۰۸
LC <sub>90</sub>	۱۵۴۷۷/۴۷	۱۴۳۳۵/۰۷	۱۳۳۲۶

گردید. براساس محاسبات لگاریتمی ۸ تیمار (۵۰، ۷۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۶۵، ۲۲۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم لیتر) و هر تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد و نسبت به گروه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس مقادیر EC<sub>50</sub> عصاره هیدروالکلی سیر طی مدت زمان ۶۰ دقیقه محاسبه گردید (جدول ۳).

### انجام آزمایشات تعیین EC<sub>50</sub>:

بمنظور اجرای آزمایشات تعیین غلظت‌های نیمه مؤثره عصاره سیر در مبارزه با انگل تریکودینا، پس از تعیین میزان شیوع و شدت انگل مذکور، بچه تاسماهیان ایرانی (با میانگین وزنی  $0.47 \pm 3/14$  گرم و میانگین طولی  $0.59 \pm 1/96$  سانتیمتر) به آکواریوم‌هایی (در هر آکواریوم ۲۰ عدد بچه تاسماهی ایرانی) که بدین منظور آبیگری و هوادهی شده بودند، منتقل شدند. با توجه به تعیین غلظت‌های کشنده عصاره سیر و تعیین MATC value (حداکثر غلظت مجاز) با استفاده از روابط لگاریتمی نسبت به تعیین دوزهای مناسب مطالعات EC<sub>50</sub> اقدام

جدول ۳: غلظت نیمه کشنده عصاره سیر (mg/l) بر روی انگل تریکودینا در بچه تاسماهی ایرانی (طی ۶۰ دقیقه)

مقدار EC	تکرار ۱	تکرار ۲	تکرار ۳	میانگین سه تکرار
EC <sub>50</sub>	۱۵۸/۵۶	۲۵۰/۶۷	۱۸۳/۲۷	۱۷۲/۵

نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون برای هریک از انواع گلبول‌های سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) به شرح ذیل بوده است:

جدول ۴: میانگین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون در تیمارهای مختلف

گلبول سفید تیمار (ppm)	لنفوسیت خطای استاندارد $\pm$ میانگین	مونوسیت خطای استاندارد $\pm$ میانگین	نوتروفیل خطای استاندارد $\pm$ میانگین	ائوزینوفیل خطای استاندارد $\pm$ میانگین
شاهد (۰)	۷۸/۲۰ $\pm$ ۱/۴۹	۲/۹ $\pm$ ۰/۴۰	۱۳ $\pm$ ۱/۶۰	۸/۲ $\pm$ ۰/۴۷ <sup>ab</sup>
۵۰	۷۹/۷۵ $\pm$ ۱/۷۹	۱/۷۵ $\pm$ ۰/۸۵	۱۱ $\pm$ ۰/۹۱	۶/۵ $\pm$ ۱/۵۵ <sup>b</sup>
۷۰	۸۵ $\pm$ ۰/۰۶	۱/۷۵ $\pm$ ۰/۹۴	۹/۷۵ $\pm$ ۳/۷۷	۴/۱ $\pm$ ۰/۴ <sup>ab</sup>
۹۰	۸۳/۲۸ $\pm$ ۴/۸۵	۲/۷۰ $\pm$ ۰/۰۸	۱۰/۲۵ $\pm$ ۲/۴۹	۴/۱ $\pm$ ۰/۵۵ <sup>ab</sup>
۱۲۰	۸۱/۵ $\pm$ ۱/۳۲	۲/۷ $\pm$ ۰/۷۵	۱۰/۷۵ $\pm$ ۰/۲۵	۴/۸ $\pm$ ۰/۵۶ <sup>b</sup>
۱۶۵	۸۰/۵ $\pm$ ۲/۵۹	۲/۵ $\pm$ ۰/۲۸	۱۰/۲۵ $\pm$ ۱/۳۸	۴/۹ $\pm$ ۰/۵۵ <sup>b</sup>
۲۲۰	۸۵ $\pm$ ۱/۸۲	۲/۵ $\pm$ ۰/۵۰	۹/۸ $\pm$ ۱/۳۲	۵ $\pm$ ۰/۴ <sup>ab</sup>
۳۰۰	۸۲ $\pm$ ۱/۱۲	۲/۵ $\pm$ ۰/۶۴	۱۱ $\pm$ ۱/۴۷	۴/۷۵ $\pm$ ۱/۷۵ <sup>ab</sup>
۴۰۰	۸۴/۷۵ $\pm$ ۳/۱۹	۲/۲۵ $\pm$ ۰/۸۵	۱۱/۲۵ $\pm$ ۲/۲۱	۶ $\pm$ ۱/۰۳ <sup>a</sup>

می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که عوامل بیماری‌زای انگلی از جمله عوامل تهدید کننده ماهیان خاویاری محسوب می‌گردند (شناور ماسوله و همکاران، ۱۳۸۸). انگل‌ها از جمله عوامل مهمی هستند که در مراحل و سنین مختلف رشد ماهیان می‌توانند باعث کاهش وزن، لاغری، کاهش بازده تولید مثلی یا عقیمی، کوری، رفتارهای غیر طبیعی، زخم‌های جلدی، نارسایی آبششی و علائمی از این قبیل باشد که خود می‌تواند ضرر و زیان اقتصادی زیادی را به دنبال داشته باشد. مهمترین انگل تک یاخته خارجی شایع در ماهیان خاویاری، انگل تریکودینا بوده که می‌تواند علاوه بر ایجاد آسیب‌های مستقیم، در ایجاد عفونت‌های ثانویه نیز نقش داشته باشند (Lyholt and Buchmann, 1995). افزایش مواد آلی محلول در آب، رشد بیش از حد گیاهان در استخر و غذادهی بیش از حد از جمله عواملی

مقادیر ائوزینوفیل در خون بچه ماهیان بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ). بطوریکه مشخص گردید که ائوزینوفیل در تیمارها از روند کاهشی برخوردار بوده است و کمترین میزان ائوزینوفیل در خون بچه ماهیان در تیمارهای ۷۰ ppm و ۹۰ ppm مشاهده شده است و به لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌دار در تیمارهای ۷۰ ppm تا ۳۰۰ ppm با شاهد و سایر تیمارها مشاهده می‌گردد ( $P < 0.05$ ).

### بحث

نظر به توسعه پرورش ماهیان خاویاری و لزوم توجه به امر بازسازی ذخایر در کشور، اهتمام جدی در خصوص توجه به عوامل تهدیدکننده سلامت این ماهیان ضروری

با توجه به اینکه امروزه داروهای شیمیایی نظیر پرمنگات پتاسیم در مبارزه با انگل‌های خارجی مورد استفاده قرار می‌گیرند لذا در بکارگیری این ماده بایستی به میزان سمیت و مقادیر کشندگی آن توجه نمود. درمان‌های درازمدت با پرمنگات پتاسیم در استخرهای نگهداری ماهیان با غلظت ۰/۳-۰/۶ میلی گرم در لیتر در زمان ۱۲ ساعت انجام می‌شود. این در حالیست که مقادیر درمانی پرمنگات پتاسیم خیلی نزدیک به غلظت‌های کشنده برای ماهی است (اسوبودوا، ۱۹۹۵).

طی انجام مطالعات تعیین غلظت‌های کشنده عصاره سیر، مشاهده رفتارهای غیرطبیعی شامل افزایش تحریک-پذیری، تعادل کم، انقباض شدید عضلات و انحنای ستون فقرات در غلظت‌های زیاد این عصاره کاملاً مشهود بوده که با یافته‌های شریف روحانی و همکاران (۱۳۹۰)، Mitchell در سال ۱۹۸۴ و Jegede در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد.

تاکنون تأثیرات ضد انگلی سیر بر روی انگل تریکودینا توسط محققین در کشورهای مختلف انجام گردیده است. بطوریکه Madsen و همکاران در سال ۲۰۰۰، دوز ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره سیر را طی چندین روز در زدودن انگل تریکودینا در مارماهی ( *Anguilla* ) مؤثر دانست. Noor-El Deen و همکاران در سال ۲۰۰۹ عنوان نمودند که افزودن ۸۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سیر به غذای ماهی تیلپیا می‌تواند در حذف تریکودینا و هم آئروموناس هیدروفیلا مؤثر می‌باشد.

Mohamed و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی سیر به دو صورت روغن سیر (3 ppt) و سیر له شده (۳۰۰ میلی-گرم در لیتر) به صورت حمام طولانی مدت (۵، ۱۵ و ۳۰ روزه) در کنترل تریکودینازیس بر روی ماهی تیلپای نیل پرداختند. نتایج نشان داد که به ترتیب ۵۵ درصد و ۶۸ درصد در درمان تریکودینازیس مؤثر بوده اند. Yao و همکاران در سال ۲۰۱۱ به مطالعه سه نوع آکالوئید (Chelidone، Chelerythrine و Sanguinarine) استخراج شده از گیاه مامیران (*Chelidonium majus*) در مبارزه با انگل تریکودینا پرداختند. نتایج حاکی از تأثیر

هستند که شرایط فیزیکی و شیمیایی آب را به هم زده و لذا رشد و تکثیر این مژه‌داران را افزایش می‌دهند (پیغان، ۱۳۸۰).

با توجه به اینکه امروزه مواد ضد عفونی کننده شیمیایی به منظور کنترل و حذف عوامل بیماریزا در آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، لذا آلودگی‌های زیست محیطی، امکان بروز تلفات گسترده در ماهیان تحت درمان، وسعت زیاد استخرهای ماهیان پرورشی، لزوم خروج ارز از کشور به منظور واردات و در نهایت تأثیرات سوء بر مصرف کنندگان از جمله مسائلی هستند که کاربرد این مواد را با مسائل و مشکلات جدی روبرو ساخته است. این در حالیست که بمنظور مبارزه با انگل تریکودینا مواد شیمیایی مختلفی از جمله فرمالین، کلر و پرمنگات پتاسیم معرفی گردیده‌اند ( Madsen *et al.*, 2000; Eissa, 2004). با توجه به مشکلات و خطرات استفاده از مواد شیمیایی لزوم بررسی جایگزین‌های طبیعی برای این مواد ضد عفونی کننده بیش از پیش احساس می‌گردد (Yao *et al.*, 2011). در این میان نظر به ماهیت طبیعی و تأثیرات گیاهان دارویی در کنترل عوامل بیماریزا سبب گردیده که امروزه گرایش به استفاده از گیاهان دارویی در پزشکی و دامپزشکی از جمله در بهداشت و بیماریهای آبزیان بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد. در این تحقیق ضمن تعیین اثر غلظت‌های نیمه کشنده عصاره هیدروالکلی سیر بر بچه تاسماهی ایرانی، به بررسی اثر بخشی و تعیین دوزهای تأثیرگذار عصاره مذکور در کنترل انگل تک یاخته ای تریکودینا پرداخته شد.

این مطالعه نشان داد که مقدار LC<sub>50</sub> عصاره هیدروالکلی سیر بر روی بچه تاسماهی ایرانی طی مدت یکساعت معادل ۱۲۶۲۴/۰۸ میلی گرم در لیتر بوده است. ضمن اینکه در مطالعه‌ای که توسط Mohamed و همکاران در سال ۲۰۱۲ بمنظور بررسی تأثیر روغن سیر (Garlic oil) در مبارزه با انگل تریکودینا در ماهی تیلپای نیل (*Oreochromis niloticus*) انجام گرفت، دوز نیمه کشنده روغن سیر معادل ۸۶/۶۱ ppt اعلام گردید.

نیز کنترل شده باشد (چالکشی امیری، ۱۳۷۶). با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، تمامی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی اندازه گیری شده در محدوده مناسب آزمایشات بوده اند.

براساس نتایج بدست آمده، در مقایسه با سایر ترکیبات ضد عفونی کننده به منظور حذف انگل تریکودینا، با توجه به اینکه که میزان غلظت نیمه کشنده ( $EC_{50}$ ) عصاره سیر بیش از ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بوده لذا در دسته ترکیبات با سمیت بسیار کم برای آبیان محسوب شده و در مقایسه با سایر ترکیبات شیمیایی، استفاده از این ترکیب بی خطر خواهد بود (Carty et al, 1998). اصولاً تعیین شاخص درمانی (Therapeutic index) می تواند مبنایی برای قضاوت سلامت مواد محسوب گردد (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص درمانی عصاره هیدرو الکلی سیر معادل ۷۳/۱۵ بوده که در مقایسه با مطالعه انجام شده توسط ابطحی و همکاران در سال ۱۳۸۴ در خصوص شاخص درمانی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم (بترتیب ۰/۹۹، ۲/۲۵ و ۵/۳۷)، عصاره هیدرو الکلی سیر از سلامتی بسیار بالاتری برای ماهی برخوردار است. بر اساس نتایج این مطالعه، می توان به سلامتی بسیار بالاتر عصاره سیر و لزوم جایگزینی این گیاه دارویی با مواد شیمیایی تأکید نمود.

### توصیه ترویجی

با بکارگیری عصاره سیر در دوره پرورش، انگل خارجی تک یاخته (تریکودینا) در ماهیان خاویاری از بین رفته، که در نتیجه در ادامه دوره پرورش، رشد مطلوب ماهی را به همراه خواهد داشت. لذا با مصرف این عصاره گیاهی از تاثیرات سوء مواد شیمیایی ضد عفونی کننده در محیط زیست و نیز مصرف کنندگان ماهی جلوگیری خواهد گردید. بدین منظور، لازم است که ماهیان انگشت قد خاویاری آلوده به انگل خارجی تریکودینا را در حوضچه هایی با ابعاد کوچک جمع آوری نموده و نسبت به حمام دهی این ماهیان با استفاده از عصاره هیدرو الکلی سیر به همراه هوادهی اقدام گردد.

کامل بر انگل تریکودینا بوده است بطوریکه میزان  $EC_{50}$  آنها بترتیب ۰/۶، ۰/۳۳ و ۰/۳۲ میلی گرم در لیتر تعیین گردید.

در مطالعه حاضر، شمارش افتراقی گلبول های سفید خون در مبارزه با تریکودینا نشان داد که میزان لنفوسیت در تیمارهای مختلف عصاره سیر نسبت به شاهد تا حدودی روند افزایشی داشته، بطوریکه استفاده از این عصاره ها بعنوان عاملی در کاهش میزان استرس و بعنوان فاکتوری مثبت تلقی گردد (Roberts, 1989; Brelin et al, 2008). ائوزینوفیل نیز در تیمارهای مختلف عصاره اختلاف معنی دار را نشان داد بطوریکه در مقایسه با شاهد دارای مقادیر کمتری بود. نظر به اینکه مقادیر نوتروفیل و ائوزینوفیل (گرانولوسیت ها) در مطالعه تعیین غلظت های مؤثر سیر در تیمارهای درمانی نسبت به گروه شاهد کاهش یافته، لذا این امر می تواند بعنوان شاخصی مثبت در ایجاد آرامش در این ماهیان نقش تلقی گردد. نتایج شمارش گلبول های سفید بچه فیل ماهیان پرورشی در مطالعه تنگستانی و همکاران در سال ۱۳۹۰ که بمنظور بررسی تأثیر اسانس سیر بر شاخص های خونی در فیل ماهی انجام شده بود موید نتایج تحقیق حاضر بر روی بچه تاسماهیان ایرانی می باشد. ضمناً در مطالعه Alishahi و Mesbah در سال ۲۰۱۰ بر روی شاخص های ایمونولوژی ماهی *Astronatus ocellatus* نتایجی بدست آمد که تا حد زیادی با نتایج شمارش گلبول های سفید در مطالعه تعیین غلظت های مؤثره سیر مطابقت دارد. طی انجام مطالعه تعیین غلظت های نیمه کشنده ( $EC_{50}$ ) عصاره سیر، رفتار غیرطبیعی در بچه تاسماهیان ایرانی مشاهده نگردید که خود حاکی از عدم وجود شرایط استرس زا و تحریک کننده بوده است.

با توجه به اینکه عملکرد یک ماده ضد عفونی کننده تابع پیچیده ای از چندین متغیر، همچون نوع و مقدار ماده مورد نظر، نوع و غلظت میکروارگانیزم ها، مدت زمان تماس، کیفیت آب و ... می باشد. بنابراین، در بسیاری از موارد بهترین روش برای انتخاب ماده ضد عفونی کننده مناسب، مطالعات آزمایشگاهی بوده که در آن کیفیت آب



**تشکر و قدردانی**

بدینوسیله از مساعدت ریاست محترم و معاونت پژوهشی موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر و نیز از همکاران مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سپاسگزاری می‌گردد.

**منابع**

- ابطحی، ب.، نظری، ر.، رسولی، ع.، شفیعی زاده، پ. ۱۳۸۴. مقایسه شاخص‌های درمانی داروهای ضد قارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاسماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۷. صفحات ۴۹-۴۲.
- اسوبودوا، ز.، ویکسوا، ب. ۱۹۹۵. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماریها و مسمومیت‌های ماهی، ترجمه شریف روحانی ۱۳۷۴، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران. ۲۵۶ صفحه.
- پیغان، ر. ۱۳۸۰. انگلها و بیماریهای انگلی ماهی، انتشارات نوربخش، صفحات ۳۶-۳۵.
- تنگستانی، ر.، علیزاده، ا.، ابراهیمی، ع.، زارع، پ. ۱۳۹۰. اثر اسانس گیاه سیر بر شاخص‌های هماتولوژیک فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶. شماره ۳. ۲۱۶-۲۰۹.
- چالکشی امیری، م. ۱۳۷۶. اصول تصفیه آب. نشر ارکان ۴۲۸. صفحه
- شریف روحانی، م.، حقیقی، م. و عصایان، ح. ۱۳۹۰. غلظت نیمه کشنده اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران. سال بیستم. شماره ۲. صفحات ۸۹ تا ۹۵.
- شناور ماسوله، ع. سعیدی، ع. رستمی، ح. پورکاظمی، م. بازاری مقدم، س. جلیل پور، ج. معصوم زاده، م. علیزاده، م. پوردهقان، م. کاظمی، ر. صادقی راد، م. حقیقی، س. ۱۳۸۸. گزارش نهایی طرح ملی بررسی وضعیت بهداشتی مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۳۹۰ صفحه.
- عامری مهابادی، م. ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، شماره ۲۴۴۷. ۱۲۶ صفحه.
- یادگار، ع.، ستاری، م.، بیگدلی، م.، بختیاری، ف.، ۱۳۸۸. بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی برگ، گل و ریشه آویشن شیرازی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین. فصلنامه گیاهان دارویی. صفحات ۵۸-۶۵.
- Alishahi, M. and Mesbah, M., 2010. Comparison of the effect of some immunostimulants and herbal extracts on hematological parameters of *Astronatus ocellatus*. 1st Conference on Ornamental fish. Iran.
- Brelin. D.2008. Stress coping strategies in brown trout (*Salmo trutta*): ecological significance a ranching, Acta Universities Upsaliensis Upsala.68p.
- Carty, G., O'Leary, G., Donlon, B. and Henry, M. 1998. Waste water treatment manuals. Characterization of industrial waste water environmental protection agency. Wexford, Ireland. 61p.
- Diab, A.S., El-Nagar, G.O., Abd-El-Hady, Y.M. 2002. Evaluation of *Nigella sativa* L (black seeds; Baraka), *Allium sativum* (garlic). and Biogen as feed additives on growth performance and immunostimulants of *O. niloticus* fingerlings. Suez Canal Vet. Med. J. 13: 745-75.
- Eissa, I.A.E., 2004. Parasitic Fish Diseases in Egypt. Dar El-Nahdda El-Arabia. Publishing, 32 Abd El-Khalek Thrwat St., Cairo, Egypt, pp. 13-18.
- El-Deen, A.E.N., 2010. Green tea extract role in removing the *Trichodina* sp. On *Oreochromis niloticus* fry in the Egyptian fish hatcheries. Report and Opinion. 2 (8), 77-81.
- Fernando, CH., Furtado, JL., Gussev, AV., Hanek, G. and Kakong, SA. 1972. Methods

- Roberts, R.J. Fish pathology.1989. Second ed., Baillier tinndal, 467p.
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*). and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.12: 172-201.
- Shalaby, A.M., Tab, Y.A. and Abdel, R., 2006. effect of garlic and Chloramphenicol on growth performance. physiological parameters and survival of Nile tilapia, pp: 58-71.
- Stoskoppe, M. K., 1993. Fish Medicen. W. B. Saunders Company, London, England. pp.132-148.
- TRC, 1984. O.E.C.D. Guideline for testing of chemicals, section 2. Effects on biotic systems. pp: 1-39.
- Yao, J.Y., Shen, J.Y., Li, X.L., Xu, Y., Hao, G.J., Pan, X.Y., Wang, G.X., Yin, W.L., 2011. Isolation of bioactive components from *Chelidonium majus* L. with activity against *Trichodina* sp. Aquaculture. Journal. 318, 235–238.
- for the study of freshwater fish parasites. 1st Edn., University of Waterloo, Biology Series. P: 76.
- Finney, DJ. 1971. Statistical methods in biological assay, 2nd Ed Hafner Publishing Company, New York; N. Y. Cambridge University Press, London, England, p. 68.
- Finney, D. J., 1971. Statistical methods in biological assay, 2<sup>nd</sup> Ed Hafner Publishing Company, New York; N. Y. Cambridge University Press, London, England, p.68.
- Jegede, T., 2007. Acute- toxicity of Sodium chloride (NaCl) on *Oreochromis niloticus* fingerlings. Journal of Fisheries International. 2. (4): 292-294.
- Lyholt, H.C.K., Buchmann, K., 1995. Infestations with the skin parasite *Trichodina jadratica* Raabe, 1958 (Ciliophira: Trichodinidac) in Danish ell farms. Bull. Scand. Soc. Parasit. 5 (2), 97.
- Madsen, H.C.K., Buchmann, K., Mellergaard, S., 2000a. Association between trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) and water quality in recirculation. Aquaculture 187: 275–281.
- Madsen, H. C. K., Buchmann, K. and Mellergaard, S. 2000b. Treatment of Trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark; alternatives to formaldehyde. Journal of Aquaculture. 186: 221-231.
- Mitchell, A. J., 1984. Parasites and diseases of Striped Bass. In: J.P. Mc Craren (Ed.), the aquaculture of Striped Bass: A proceeding. UMSGM P8401. University of Maryland, College Park, us. pp: 177-204.
- Mohamed A.A. Abd El-Galil, Shawky M. Aboelhadidb. 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic . Veterinary Parasitology. 185 (2012) 57–63.

---

## Using Garlic (*Allium sativum*) hydroalcoholic extract to eliminate the protozoan ectoparasite (Trichodina) in Persian sturgeon fingerlings

Soheil Bazari Moghaddam\*, Jalil Jalilpour, Mehdi Masoumzadeh, Mehdi Alizadeh

International Sturgeon Research Institute, Agriculture research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

### Abstract

Considering the development of sturgeon farming in the country, the need to pay attention to the health of aquatic animals and the use of natural sources in fighting the pathogenicity of these fish is considered essential. In this regard, the use of medicinal plants is important for control of the disease-causing agents, including parasites, rather than chemicals. This study was conducted to evaluate the efficacy and effective dose of garlic hydroalcoholic extract in the fight against external protozoan parasite (Trichodina). For this purpose, after determination of the lethal concentrations (LC<sub>50</sub>) of this extract on Persian sturgeon, a study was conducted to determine the effective dose (EC<sub>50</sub>). In this study, the effects of garlic extract on white blood cells were also investigated. The results of differential white blood cells count in studies of EC<sub>50</sub> extracts showed no statistically significant differences in the level of lymphocyte, monocyte and neutrophil in different treatments (P>0.05). The effective concentration of garlic hydroalcoholic extract on Trichodina sp. was determined in the concentration range of 50 to 400 mg/L and this semi effective dose was calculated as 172.5 mg/L for one hour of bath time. This dose was classified in the category of substances with low toxicity and substitution Suitable chemicals. Therefore, this extract is recommended to remove Trichodina parasite in sturgeon fish farms.

**Keywords:** Persian sturgeon fingerling, Garlic extract, Parasite, Trichodina,

---

\*Corresponding author: soheilbm274@gmail.com