اثرات ضد انگلی عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در مبارزه با انگل تریکودینا و تاثیر آن بر شاخص‌های خونی تاسماهی ایرانی

سهیل بازاری مقدم [1*]، مهدی معصوم زاده [1]، جلیل جلیل پور [1]

۱- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۲۷

چکیده

امروزه بکارگیری گیاهان دارویی به منظور جایگزینی با مواد شیمیایی در کنترل عوامل ایجاد کننده بیماری از جمله انگل‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشند. این مطالعه با هدف بررسی اثربخشی و تعیین دوز تأثیرگذار عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در مبارزه با انگل تک یاخته-ای خارجی (تریکودینا) انجام پذیرفت. بدین منظور پس از تعیین غلظت‌های کشنده (LC_{50}) این عصاره بر روی بچه تاسماهی ایرانی، نسبت به انجام مطالعات تعیین غلظت‌های تأثیرگذار (EC_{50}) اقدام گردید. در این مطالعه اثرات کاربرد عصاره آویشن شیرازی بر روی گلبول‌های سفید خون نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون در مطالعات تعیین EC_{50} عصاره‌ها، نشاندهنده اختلاف معنی-دارآماری در میزان لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در تیمارهای مختلف بود ($P<0.05$). در این بررسی، غلظت مؤثره عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی بر روی انگل تریکودینا در محدوده غلظت ۲۰۰ تا ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید و غلظت اثر گذار (EC_{50}) طی مدت یک ساعت حمام برابر ۴۳۷/۶ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. دوز موثره، در دسته مواد با سمیت کم طبقه بندی شده و جهت جایگزینی با مواد شیمیایی مناسب می‌باشد. بنابراین این عصاره بمنظور از بین بردن انگل تریکودینا در مزارع پرورش ماهیان خاویاری قابل توصیه خواهد بود.

کلمات کلیدی: عصاره آویشن شیرازی، تاسماهی ایرانی، انگل، تریکودینا.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). soheilbm274@gmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

مقدمه

داروهای طبیعی و گیاهی به دلیل ارزش اقتصادی مناسب و کم هزینه بودن تولید آنها، نداشتن اثرات تخریبی بر محیط زیست، کم بودن عوارض جانبی در مقایسه با داروهای شیمیایی، عدم ایجاد مقاومت نسبی در برابر عوامل بیماری‌زا، منحصر بودن در درمان برخی بیماری‌های خاص و وجود تجربیات مختلف بالینی در این زمینه منجر شده تا این منابع ارزشمند دارویی از جایگاه خاصی درپیشگیری و درمان برخوردار باشند (قاسمی پیر بلوطی و همکاران۱۳۹۰ ; یادگار و همکاران، ۱۳۸۸). بر اساس بررسی‌های صورت گرفته، از مهمترین عوامل تهدید کننده بچه تاسماهیان در محیط‌های پرورشی، آلودگی آنها به انگل‌های تک یاخته ای خارجی است (بازاری مقدم و همکاران، ۱۳۹۷). این گروه از انگل‌ها قادرند سبب ایجاد بیماری و تلفات در بچه ماهیان انگشت قد گردند (Lyholt and Buchmann, 1995). از مهمترین عوامل انگلی تک یاخته‌ای خارجی شایع در بچه ماهیان خاویاری گونه های تریکودینا هستند که علاوه بر ایجاد جراحات پوستی، می توانند زمینه را برای بروز بیماری‌های باکتریایی و قارچی فراهم نمایند (Mohamed *et al.*, 2012). محل زندگی تریکودینا آبشش و پوست ماهی است و این مسئله از دیدگاه آسیب شناسی بسیار حائز اهمیت است (Lyholt and Buchmann, 1995).

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی در طب سنتی ایران و اروپا است. این گیاه علفی معطرکه طول آن حدود ۴۰ سانتی‌متر است دارای خواص دارویی بسیاری است. روغن سفید آویشن، تنتور و عصاره مایع آن بعنوان ترکیبات معطر در فرآورده های غذایی کاربرد دارد. بخش های درمانی این گیاه، شامل سرشاخه‌ها و برگ‌های خشک شده آن می باشند (شریف روحانی و همکاران، ۱۳۹۰).

سوابق تحقیق در زمینه تأثیرات آویشن شیرازی در آبزیان محدود بوده که از آن جمله می توان به مطالعه آهنگرزاده و همکاران (۱۳۸۶) درماهی کپور معمولی، شریف روحانی و همکاران (۱۳۹۰) در ماهی قزل آلای رنگین کمان، سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) در ماهی قزل آلای رنگین کمان، علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) در ماهی برزم، معصوم زاده و همکاران (۱۳۹۵) در تخم تاسماهیان پرورشی، Mousavi و همکاران (۲۰۱۰) بر باکتری های دریا، Lysakowska و همکاران (۲۰۱۱) بر آسه نیتوباکتر و Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۱) در ماهی قزل آلای رنگین کمان اشاره نمود که غالب این مطالعات بر روی اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی و نیز بهبود عملکرد سیستم ایمنی این گیاه بوده است. در این راستا مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیرات ضد انگلی این گیاه در آبزیان انجام نگرفته و تحقیق حاضر، اولین مورد می باشد.

تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به عنوان تنها گونه خاویاری بومی سواحل جنوبی دریای خزر، از جمله ماهیانی به شمار می‌آید که دارای ارزش غذایی و اقتصادی خاصی می باشد (Mohseni *et al.*, 2008). امروزه نظر به اهمیت و لزوم جایگزینی گیاهان دارویی بجای مواد شیمیایی بمنظور کنترل و درمان بیماری‌ها ضروری بود که مطالعه تاثیرگذاری عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در مبارزه با انگل خارجی تریکودینا بر روی این گونه با ارزش آبزی انجام گیرد.

مواد و روش ها

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

پس از انتقال بچه تاسماهیان ایرانی با میانگین وزن ۰/۴۷ ± ۳/۱۴ گرم و میانگین طول کل ۰/۵۹ ± ۸/۹۶ سانتی‌متر از استخرهای پرورشی خاکی به مخازن فایبرگلاس، به منظور تعیین غلظت‌های تاثیرگذار عصاره آویشن شیرازی، ابتدا نسبت به انجام مراحل تعیین غلظت‌های کشنده (LC_{50}) این عصاره اقدام شد. بدین منظور مقادیر مورد نیاز عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی 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).

جدول ۱: آنالیز عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی مورد استفاده

نوع آزمایش	استاندارد	روش آزمایش	نتایج
رنگ	قهوه ای روشن تا قهوه ای تیره	ارگانولپتیک	قهوه ای
عطر و بو	عطر طبیعی	ارگانولپتیک	عطر طبیعی
ماده خشک (۱۰۰ تا ۱۰۵ درجه سانتیگراد طی ۲ ساعت)	۱/۵ تا ۴ درصد	BP2009	۳/۰۳ درصد
چگالی	۰/۹۶ تا ۰/۹۹	BP2009	۰/۹۸
pH	۴/۵ تا ۶/۵	BP2009	۶/۳۶
مقدار الکل	۱۰ تا ۲۰ درصد	BP2009	۱۹ درصد
روش شناسایی	بین المللی	TLC	مورد تائید
مقدار ماده موثره	۸۵ تا ۱۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ سی سی	DAB10	۱۱۱/۱ میلی گرم در ۱۰۰ سی سی
تعداد باکتری	حداکثر 10^2 عدد در میلی لیتر	USP32	حداکثر 10^2 عدد در میلی لیتر

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

در این بررسی، دوزها و غلظت‌های مؤثر این عصاره طی مدت یک ساعت تعیین گردید، لذا آزمایش تعیین غلظت‌های کشنده عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی، بعد از طی مراحل آداپتاسیون و انتقال بچه تاسماهیان ایرانی به تشتک‌های ۳۰ لیتری مجهز به سیستم هوادهی انجام شد. این آزمایشات بر اساس روش استاندارد (TRC,1984) O.E.C.D صورت گرفت.

بمنظور اجرای آزمایشات تعیین غلظت‌های مؤثره عصاره آویشن شیرازی در مبارزه با انگل تریکودینا (EC_{50})، پس از تعیین میزان شیوع و شدت انگل مذکور، بچه تاسماهیان ایرانی به آکواریوم هایی (هرآکواریوم ۲۰ عدد ماهی) که بدین منظور آبگیری و هوادهی شده بودند، منتقل شدند. سپس نسبت به تیماربندی بر اساس دوزهای تعیین شده که بصورت لگاریتمی محاسبه شده بودند، اقدام گردید.

EC_{50} با روش رسم منحنی دوز-پاسخ و با استفاده از روش آماری Probit Analysis محاسبه شد. 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 آویشن شیرازی طی یک ساعت با استفاده از دستگاه های اندازه گیری صحرائی مدل WTW اندازه گیری شدند.

بر این اساس محدوده دما بین ۲۲/۳-۲۱/۹ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۸۲- ۷/۵۴، اکسیژن محلول (DO)۷/۹- ۷ ، هدایت الکتریکی (EC) ۸۸۰-۷۶۷ (µs/cm)، سختی کل ۳۱۰-۲۸۰، نیتریت ۰/۰۰۰۲-۰، نیترات ۰/۰۱-۰ و آمونیاک ۰/۳۳۴- ۰/۲۳۱ میلی گرم در لیتر تعیین گردیدند.

بمنظور ارزیابی تأثیر عصاره آویشن شیرازی بر روی شاخص‌های خونی در مطالعه تعیین غلظت موثره ضد انگل، 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 ۵۰۰ لیتری، نسبت به نمونه برداری تصادفی از ۵۰ عدد بچه ماهی بمنظور تعیین درصد شیوع و میانگین شدت انگل تریکودینا (بر اساس فرمول‌های ذیل) اقدام گردید.

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

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

های شمارش شده هر ماهی در جداول ویژه‌ای اقدام گردید.

بمنظور ارزیابی میزان تأثیرات عصاره با دوزهای مختلف در تیمارها و تعیین درجه تأثیرگذاری ضد انگلی عصاره در هریک از تیمارهای مورد مطالعه، از رابطه زیر استفاده شد (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 بعد از جمع‌آوری داده‌ها، بمنظور تجزیه و تحلیل آماری و رسم شکل‌های مربوطه از نرم افزارهای SPSS ver 20 و Excel 2016 و نیز 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. بمنظورانجام محاسبات غلظت‌های موثره عصاره نیز از روش Probit analysis (Finney, 1971) استفاده شد.

شکل۱: انگل تریکودینا **scale bar 10 µm , (746X)**

نتایج

در این تحقیق بمنظور یافتن محدوده غلظت کشنده عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی، آزمایشات ابتدایی (pre-LC50) یک ساعته بر روی بچه تاسماهیان ایرانی انجام گرفت و سرانجام محدوده غلظت ۸۵۰۰ تا ۱۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر برای انجام آزمایشات نهایی تعیین گردید. بر اساس محاسبات لگاریتمی ۷ تیمار (۸۵۰۰، ۸۸۷۰، ۹۲۶۰، ۹۶۶۰، ۱۰۱۰۰، ۱۰۵۵۰ و ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم لیتر) در نظر گرفته شد و نسبت به گروه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). بر این اساس میزان LC_{50} این عصاره طی مدت یک ساعت معادل ۹۹۳۳/۴۴ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. همچنین معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی (R^2) حاکی از وجود ارتباط مستقیم (همبستگی قوی و مثبت) بین

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

غلظت‌های مورد بررسی با میزان تلفات بچه تاسماهیان ایرانی می باشد.

جدول ۲: غلظتهای کشنده عصاره آویشن شیرازی (mg/l) طی یک ساعت روی بچه تاسماهی ایرانی

مقدار LC/ زمان	۳۰ دقیقه	۴۵ دقیقه	۶۰ دقیقه
LC_{10}	۹۴۴۴/۹۵	۸۹۱۶/۶۱	۸۵۲۱/۱۸
LC_{50}	۱۳۱۰۰/۸۶	۱۰۷۶۹/۶۱	۹۹۳۳/۴۴
LC_{90}	۱۸۱۷۱/۸۸	۱۳۰۰۷/۶۸	۱۱۵۸۲/۴۳

به منظور تعیین غلظت‌های نیمه کشنده عصاره آویشن شیرازی و تعیین MATC value (حداکثر غلظت مجاز) با استفاده از روابط لگاریتمی نسبت به تعیین دوزهای مناسب مطالعات EC_{50} اقدام گردید. بر اساس محاسبات لگاریتمی ۸ تیمار (۲۰۰، ۲۳۵، ۲۷۵، ۳۲۰، ۳۷۵، ۴۴۰ ، ۵۱۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم لیتر) و هر تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد و نسبت به گروه شاهد مورد ارزیابی قرارگرفت. بر این اساس مقادیر EC_{10}، EC_{50} و EC_{90} عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی طی مدت زمان ۶۰ دقیقه محاسبه گردید (جدول۳). نتایج نشان داد که میزان EC_{50} این عصاره طی مدت یک ساعت حمام برابر ۴۳۷/۶ میلی‌گرم در لیتر می باشد.

جدول۳: غلظت‌های مؤثره عصاره آویشن شیرازی (mg/l) بر انگل تریکودینا در بچه تاسماهی ایرانی(طی ۶۰ دقیقه)

مقدار EC	تکرار ۱	تکرار ۲	تکرار ۳
EC_{10}	۲۱۵/۰۸	۲۴۹/۹۲	۲۴۵/۲۹
EC_{50}	۳۹۲/۱	۴۲۳/۷۴	۴۱۶/۲۹
EC_{90}	۷۱۴/۸۳	۷۱۸/۴۶	۷۰۶/۹۷

نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون برای هریک از انواع گلبول‌های سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) به شرح جدول ۴ بوده است.

مقایسه مقادیر لنفوسیت خون ماهیان مورد بررسی بر اساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که بین تیمار ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<0.05$). مقایسه بین گروه‌ها با یکدیگر بر اساس آزمون دانکن، حاکی از افزایش میزان لنفوسیت خون بچه ماهیان در دوزهای مختلف آویشن شیرازی نسبت به شاهد بوده است. اما میزان مونوسیت خون ماهیان مورد بررسی بین تیمارها، بر اساس آزمون مذکور، اختلاف معنی دار آماری را نشان نداد ($P>0.05$). مقادیر نوتروفیل خون ماهیان نیز بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه مقایسه گردید، بطوریکه اختلاف معنی‌دارآماری مابین تیمارها مشاهده گردید ($P<0.05$).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

بر اساس آزمون دانکن به منظور مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان نوتروفیل در تمامی تیمارها کمتر از شاهد بوده و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (P<0.05). میزان ائوزینوفیل خون ماهیان مورد بررسی، حاکی از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها بود (P<0.05). بر اساس آزمون دانکن این میزان در شاهد بیش از سایر تیمارها بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی داری مشاهده گردید(P<0.05).

جدول ۴: میانگین شمارش افتراقی گلبول های سفید خون در تیمارهای مختلف در اندازه گیری مقادیر EC_{50}

گلبول سفید / تیمار (ppm)	لنفوسیت	منوسیت	نوتروفیل	ائوزینوفیل
	خطای استاندارد ± میانگین	خطای استاندارد ± میانگین	خطای استاندارد ± میانگین	خطای استاندارد ± میانگین
شاهد (۰)	۶۲/۲۵ ± ۶ /۹۴^{a}	۸/۵ ± ۱/۸۴^{a}	۱۹/۷۵ ۲±/۱۷^{c}	۹/۵ ۱±/۰۷^{b}
۲۰۰	۷۸/۸۷ ۲±/۵۵^{bc}	۵/۲۵ ± ۰/۹۴^{a}	۱۲/۵ ۱±/۹۷^{abc}	۳/۳۷ ۱±/۱۴^{a}
۲۳۵	۷۷ ۲±/۱۱^{bc}	۶/۵ ± ۰/۹۵^{a}	۹/۲۸ ۱±/۲۲^{ab}	۴/۴۳ ۱±/۰۴^{a}
۲۷۵	۸۳/۲۳ ۱±/۵^{c}	۶/۴۵ ± ۰/۸۷^{a}	۵/۶ ۱±/۱۸^{a}	۵/۲ ۱±/۰۶^{a}
۳۲۰	۸۰ ± ۱/۷۸^{bc}	۵/۵ ± ۰/۴۴^{a}	۵ ۱±/۱۲^{a}	۶/۵۸ ۱±/۱^{ab}
۳۷۵	۷۵/۲۵ ± ۷ /۲۷^{bc}	۶/۵ ± ۰/۸۴^{a}	۱۱/۲۵ ۲±/۲^{abc}	۷ ۰±/۱۲^{ab}
۴۴۰	۷۹ ۱±/۳۵^{bc}	۵ ± ۰/۴^{a}	۱۲ ۱±/۰۸^{abc}	۴ ۰±/۵۷^{a}
۵۱۰	۷۳/۵ ± ۲/۰۹ ^{bc}	۷/۵ ± ۰/۳^{a}	۱۳/۵ ۱±/۳۲^{abc}	۵ ۰±/۰۴^{a}
۶۰۰	۷۱/۵ ± ۳/۵۲^{b}	۷/۷۵ ± ۰/۵۴^{a}	۱۶/۵ ۱±/۵۵^{bc}	۴/۲۵ ۱±/۰۳^{a}

مقادیرلنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در خون بچه ماهیان بین تیمار های مختلف اختلاف معنی دار آماری نشان داد (P<0.05).

بحث

اثرات انگل‌ها در ماهیان با ایجاد عوارضی نظیرکاهش وزن، لاغری، کاهش بازده تولید مثلی یا عقیمی، کوری، رفتارهای غیر طبیعی، زخم‌های جلدی و نارسایی آبششی می‌تواند امنیت سرمایه گذاری در حوزه آبزی پروری را به مخاطره انداخته و بدنبال آن ضرر و زیان اقتصادی زیادی را برای پرورش دهندگان به همراه داشته باشد. مهمترین انگل تک یاخته خارجی شایع در ماهیان خاویاری، انگل تریکودینا بوده که می تواند علاوه برایجاد آسیب‌های مستقیم، در ایجاد عفونت‌های ثانویه نیز نقش داشته باشند(Lyholt and Buchmann, 1995 ; Dahbi *et al*., 2010). افزایش مواد آلی محلول در آب، رشد بیش از حد گیاهان در استخر و غذادهی بیش از حد از جمله عواملی هستند که شرایط فیزیکی و شیمیایی آب را به هم زده و رشد و تکثیر این مژه‌داران را افزایش می‌دهند (پیغان، ۱۳۸۰).

امروزه مواد ضدعفونی‌کننده شیمیایی به منظورکنترل و حذف عوامل بیماری‌زا در آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند لذا انتقال ترکیبات شیمیایی به محیط زیست و نیز لزوم خروج ارز ازکشور به منظور واردات و در نهایت تاثیرات سوء بر مصرف کنندگان از جمله مسائلی هستند که کاربرد این مواد را با مسائل و مشکلات جدی روبرو ساخته است. این در حالی

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

است که بمنظور مبارزه با انگل تریکودینا مواد شیمیایی مختلفی از جمله فرمالین، کلر و پرمنگنات پتاسیم معرفی گردیده اند (Madsen *et al*., 2000a and b; Eissa, 2004). لذا با توجه به مشکلات و خطرات استفاده از مواد شیمیایی لزوم بررسی جایگزین‌های طبیعی برای این مواد ضد عفونی کننده بیش از پیش احساس می گردد (Yao *et al*., 2011).

مطالعه حاضر نشان داد که غلظت کشنده (LC_{50}) عصاره آویشن شیرازی بر روی بچه تاسماهی ایرانی طی ۹۶ ساعت معادل ۷۶۶/۶۵ میلی‌گرم در لیتر بوده است. با توجه به اینکه در نظر بوده تأثیرات این عصاره در حمام کوتاه مدت بمنظور حذف انگل خارجی تریکودینا ارزیابی گردد، لذا تعیین غلظت‌های کشنده این عصاره طی مدت یک ساعت نیز ضروری می‌نمود بر این اساس و با توجه به نتایج آزمایشات، مقدار LC_{50} یک ساعته عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی معادل ۹۹۳۳/۴۴ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید. در مطالعاتی، معصوم زاده و همکاران (۱۳۸۹) و شریف روحانی و همکاران (۱۳۹۰) به تعیین غلظت نیمه کشنده اسانس آویشن شیرازی طی ۹۶ ساعت به ترتیب بر روی بچه تاسماهی ایرانی و بچه قزل آلای رنگین کمان پرورشی پرداختند که مقادیر LC_{50} آنها بترتیب ۱۲/۱۱ و ۱۳/۶ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید که با توجه به نوع ترکیب و میزان ماده مؤثره در اسانس، مقادیر آن با بررسی حاضر متفاوت می‌باشد.

طی انجام مطالعات تعیین غلظت‌های کشنده عصاره آویشن شیرازی (LC_{50})، 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 (۱۹۸۴) و Jegede (۲۰۰۷) مطابقت دارد.

پس از انجام مطالعات تعیین غلظت‌های کشنده عصاره آویشن شیرازی، نسبت به انجام مطالعات تعیین غلظت‌های تأثیرگذار(EC_{50}) عصاره مذکور درمبارزه با انگل تک یاخته‌ای تریکودینا اقدام گردید. بر این اساس میزان EC_{50} عصاره مذکور طی مدت یک ساعت معادل ۴۳۷/۶ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد.

با توجه به اینکه مطالعه‌ای در خصوص تأثیرات آویشن شیرازی بر انگل تریکودینا انجام نگرفته بود لذا امکان مقایسه نتایج غلظت مؤثره آویشن شیرازی بر تریکودینا با نتایج دیگران امکانپذیر نگردید.

در مطالعه حاضر، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون در مبارزه با تریکودینا نشان داد که میزان لنفوسیت در تیمارهای مختلف عصاره آویشن شیرازی نسبت به شاهد تا حدودی روند افزایشی داشته، بطوریکه استفاده از این عصاره بعنوان عاملی در کاهش میزان استرس عمل نموده و بعنوان فاکتوری مثبت تلقی می‌گردد (Berlin *et al*., 2008; Roberts,1989). ائوزینوفیل نیز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار آماری را نشان داد ($P<0.05$). بطوریکه در مقایسه با شاهد دارای مقادیر کمتری بود. نظر به اینکه مقادیر نوتروفیل و ائوزینوفیل در مطالعه تعیین غلظت‌های مؤثر بر حذف انگل تریکودینا نسبت به شاهد کاهش یافته، لذا می‌تواند بعنوان شاخصی مثبت و ایجاد کننده آرامش در این ماهیان محسوب گردد. در مطالعه Alishahi و Mesbah (۲۰۱۰) بر روی شاخص‌های ایمونولوژی *Astronatus ocellatus* نتایجی بدست آمد که تا حد زیادی با نتایج شمارش گلبولهای سفید

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

تعیین غلظت مؤثره عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی مطابقت دارد.

طی انجام مطالعه تعیین غلظت‌های مؤثره (EC_{50}) عصاره آویشن شیرازی، هیچگونه 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 ضدعفونی‌کننده تابع پیچیده‌ای از چندین متغیر، همچون نوع و مقدار ماده مورد نظر، نوع و غلظت میکروارگانیسم‌ها، مدت زمان تماس و کیفیت آب است، بنابراین در بسیاری از موارد بهترین روش برای انتخاب ماده ضدعفونی کننده مناسب، مطالعات آزمایشگاهی بوده که در آن کیفیت آب 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 بوده‌اند.

بر اساس نتایج بدست آمده، در مقایسه با سایر ترکیبات ضدعفونی کننده به منظور حذف انگل تریکودینا، با توجه به اینکه که میزان غلظت مؤثره (EC_{50}) عصاره آویشن شیرازی در محدوده ۴۰۰ میلی-گرم در لیتر بوده، لذا در دسته ترکیبات با سمیت کم برای آبزیان قرارگرفته 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) می‌تواند مبنایی برای قضاوت سلامت مواد محسوب گردد (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص درمانی عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی معادل ۷۳/۱۵ بوده که درمقایسه با مطالعه انجام شده توسط ابطحی و همکاران (۱۳۸۴) در خصوص شاخص درمانی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم (بترتیب ۰/۹۹ ، ۲/۲۵ و ۵/۳۷)، این عصاره از سلامتی بسیار بالاتری برای ماهی برخوردار است. بر اساس نتایج این مطالعه، می‌توان جایگزینی این گیاه دارویی را با سایر ترکیبات شیمیایی توصیه نمود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مساعدت کارشناسان محترم موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر در انجام این تحقیق سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱. ابطحی، ب.، نظری، ر.، رسولی، ع.، شفیع زاده، پ.، ۱۳۸۴. مقایسه شاخص‌های درمانی داروهای ضد قارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاسماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی. ۶۷، ۴۹-۴۲.

۲. آهنگرزاده، م.، شریف روحانی، م.، سید مرتضایی، س. ر.، هوشمند، ح.، کر، ن. م.، ۱۳۸۶. بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر روی تعداد کل باکتری و قارچ در مرحله انکوباسیون تخم ماهی کپور. پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران. صفحه ۱۲۷.

۳. بازاری مقدم، س.، جلیل پور، ج.، معصوم زاده، م.، علیزاده، م.، ۱۳۹۷. کاربرد عصاره هیدروالکلی سیر در مبارزه با انگل تک یاخته ای خارجی در بچه

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

تاسماهی ایرانی. دوفصلنامه ترویجی ماهیان خاویاری. ۱(۱)، ۵۵-۴۵.

۴. پیغان، ر.، ۱۳۸۰. انگلها و بیماریهای انگلی ماهی، انتشارات نوربخش، صفحات۳۶-۳۵.

۵. چالکشی امیری، م. ۱۳۷۶. اصول تصفیه آب . نشر ارکان. ۴۲۸ صفحه.

۶. سلطانی، م.، ظریف منش، ط.، ذریه زهرا، ج.، ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. ۲۱(۲)،۲۳-۱۳.

۷. شریف روحانی، م.، حقیقی، م. و عصاییان، ح.، ۱۳۹۰. غلظت نیمه کشنده اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران. ۲۰(۲)، ۸۹ تا ۹۵.

۸. عامری مهابادی، م.، ۱۳۷۸. روش های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، شماره ۲۴۴۷. ۱۲۶ صفحه.

۹. علیشاهی، م.، پور مهدی بروجنی، م.، عبدی، ا.، ۱۳۹۱. مقایسه اثر برخی محرک های ایمنی و عصاره های گیاهی بر فاکتورهای رشد و مقاومت ماهی برزم در برابر استرس های محیطی. مجله دامپزشکی ایران. ۸، ۶۷-۵۹.

۱۰. قاسمی پیر بلوطی، ع.، پیر علی. ا.، پیشکار. غ. ر.، جلالی، س. م. ع.، رئیسی. م.، جعفریان دهکردی. م.، حامد. ز. ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان فصلنامه داروهای گیاهی. ۲، ۱۵۵-۱۴۹.

۱۱. معصوم زاده، م.، شریف روحانی، م.، شناورماسوله، ع.، بازاری مقدم، س.، جلیل پور، ج.، علیزاده، م.، حقیقی، س.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، ۱۳۸۹. بررسی کاربرد اسانس آویشن شیرازی درکنترل آلودگی‌های قارچی تاسماهی ایرانی. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۹۴ صفحه.

۱۲. معصوم زاده، م.، شریف روحانی، م.، شناورماسوله، ع.، علیزاده، م.، جلیل پور، ج.، بازاری مقدم، س.، ۱۳۹۵. تاثیرات ضد باکتریایی عصاره های سیر و آویشن شیرازی بر باکتری آئروموناس هیدروفیلا جداسازی شده از تاسماهیان پرورشی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴)، ۱۳۲-۱۲۵.

۱۳. یادگار، ع.، ستاری، م.، یگدلی، م.، بختیاری، ف.، ۱۳۸۸. بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی برگ، گل و ریشه آویشن شیرازی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین. فصلنامه گیاهان دارویی. ۶۵-۵۸.

14. Alishahi, M., Mesbah, M., 2010. Comparison of the effect of some immunostimulants and herbal extracts on hematological parameters of *Astronatus*

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

23. Jegede, T., 2007. Acute- toxicity of Sodium chloride (NaCl) on *Oreochromis niloticus* fingerlings. Journal of Fisheries International, 2(4), 292-294.
24. Lysakowska, M., Denys, A., Sienkiewicz, M., 2011. The activity of thyme essential oil against Acinetobacter spp., Cent. Euro. Journal of Biology, 6(3), 405-413.
25. Lyholt, H.C.K., Buchmann, K., 1995. Infestations with the skin parasite *Trichodina jadranica* Raabe, 1958 (Ciliophira: Trichodinidac) in Danish ell farms. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 5 (2), 97.
26. 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.
27. Madsen, H. C. K., Buchmann, K., 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.
28. 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. 177-204.
29. Mohseni, M., Ozório, R.O.A., Pourkazemi, M., Bai, S.C., 2008. Effects of dietary L-Carnitine supplements on growth and body composition in beluga, *H. huso*, juveniles. Journal of Applied Ichthyology, 24, 646-649.
30. Mohamed A. A., Abd El-Galil, Shawky, Aboelhadidb, M., 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic . Veterinary Parasitology, 185, 57–63.
31. Mousavi, S. M., Wilson, G., Raftos, D., Mirzargar, S. S., Omidbaigi, R., 2011. *ocellatus*. 1st Conference on Ornamental fish. Iran. 185-192.
15. Brelin, D., 2008. Stress coping strategics in brown trout (*Salmo trutta*): ecological significance aranching, Acta Universitatis Upsaliensis Upsala. 68 p.
16. Carty, G., O'Leary, G., Donlon, B., Henry, M. 1998. Waste water treatment manuals. Characferisation of industrial waste water environmental protection agency. Wexford, Ireland. 61p.
17. Dahbi, A., Bellete, B., Flori, P., Hssaine, A., Elhachimi, Y., Raberin, H., Chait, A., Tran Manh Sung, R., Hafid, J., 2010. The effect of essential oils from *Thymus broussonetii* Boiss on transmission of *Toxoplasma gondii* cysts in mice, Parasitology Researches, 107, 55-58.
18. Eissa, I. A. E., 2004. Parasitic Fish Diseases in Egypt. Dar El-Nahdda El-Arabia. Publishing, 32 Abd El-Khalek Thrwat St., Cairo, Egypt. 13–18.
19. 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.
20. Fernando, CH; Furtado, JI., Gussev, AV., Hanek, G., Kakong, SA., 1972. Methods for the study of freshwater fish parasites. 1st Edn., University of Waterloo, Biology Series. 76 p.
21. Finney, D. J., 1971. Statistical methods in biological assay, 2nd Ed Hafner Publishing Company, New York; N. Y. Cambridge University Press, London, England. 68 p.
22. Ghasemi Pirbalouti, A., Nikobin Broujeni, V., Momeni, M., Poormalek, F. Hamedi, B., 2011. Antibacterial activity of Iranian medicinal planets against *Streptococcus iniae* isolated from rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*), Archives of Biological Science, 63, 59-66.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]

Antibacterial activities of a new combination of essential oils against marine bacteria, Aquaculture. International, 19, 205-214.

32. Roberts, R.J., 1989. Fish pathology. Secend ed., Baillier tinndal, 467p.
33. 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*). Journal of Venomous Animals and and Toxins including Tropical Diseases. 12, 172-201.
34. Stoskope, M. K., 1993. Fish Medicen. W. B. Saunders Company, London, England. 132-148.
35. TRC, 1984. O.E.C.D. Guideline for testing of chemicals, section 2. Effects on biotic systems. 1-39.
36. 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. Journal of Aquaculture, 318, 235–238.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-29]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.4.7.1]