



مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر اسانس گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) بر انگل خارجی *Ichthyophthirius multifiliis* در ماهی قرمز (*Carassius auratus*, Linnaeus, 1758)

محمد رهاننده^{۱*}، مهسا رهاننده^۲، مهران آوخ کیسمی^۱، افشار ذوقی^۱

*Rahanandeh1340@gmail.com

۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گیلان، ایران

۲- گروه ژنتیک دانشکده علوم زیستی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۳

چکیده

به تعداد ۵۰ عدد ماهی قرمز (*Carassius auratus*) آلوده به انگل خارجی *Ichthyophthirius multifiliis* با وزن ۲۰-۳۵ گرم در دو آکواریوم شاهد و تحت تیمار به حجم ۱×۱×۲ مترمکعب آب با شرایط دمایی ۲۵-۲۸ درجه سانتی گراد و pH=۷/۲ به طور مساوی با شرایط هوادهی و تغذیه‌ای مناسب قرار گرفتند. ماهیان تحت تیمار با استفاده از عصاره گل میخک بیهوش شدند و میزان آلودگی آنها قبل از آزمایش بررسی گردید. آزمایش نشان داد، با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) و مدت زمان، میزان تلفات تروفونت‌ها بیشتر شد که این تفاوت معنی‌دار بود ($P<0/05$). همچنین آزمایش نشان داد، غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌لیتر از اسانس اسطوخودوس در میزان مرگ‌ومیر لاروهای ماهی تأثیر خوبی دارد. زمانی که لاروهای انگل در مدت ۶۰ دقیقه در مواجهه با غلظت ۰/۵ میلی‌لیتر قرار گرفتند، تقریباً ۱۰۰ درصد آنها از بین رفتند و تفاوت معنی‌دار بوده است ($P<0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد، اسانس اسطوخودوس در از بین بردن انگل بر سطوح خارجی بدن ماهی قرمز تأثیر مناسبی دارد.

کلمات کلیدی: ماهی قرمز، گیاه اسطوخودوس، انگل *Ichthyophthirius multifiliis* درمان

مقدمه

ماهی قرمز (*Carassius auratus*, Linnaeus, 1758) از خانواده کپورماهیان و بومی آسیای شرقی است. این ماهی در کشور اندونزی جایگاه خاصی در بین مردم دارد (Septiara *et al.*, 2012; Apriani *et al.*, 2023). ماهی در آبهای شیرین و ساکن برکه‌ای که دارای بستری نرم و پوشیده از گیاهان آبی هستند، زندگی می‌کند و تکثیر و پرورش آن در بسیاری از کشورها از رونق بالایی برخوردار است (Kottelat and Freyhof, 2008; Rahanandeh *et al.*, 2024). بلوغ جنسی ماهی در سن ۳-۴ سالگی بوده و طول آن به ۲۰-۱۵ سانتی‌متر می‌رسد و هنگامی که مواد غذایی فراوان باشد، در اواخر سن ۲ سالگی به بلوغ می‌رسد و طول عمر آن می‌تواند از ۱۰ سال هم بیشتر شود و به ۵۰ سال نیز برسد (Sattari *et al.*, 2004). با توجه به مقاومت خوب این ماهیان، در مقابل استرس‌های محیطی در آبهای شیرین گسترش زیادی دارند (Filice *et al.*, 2021). ماهی قرمز برای مدت طولانی می‌تواند شرایط بی‌اکسیژنی را تحمل کند که این مکانیسم ناشی از تحلیل فعالیت‌های متابولیک و توانایی فرار از اسیدوز از طریق آبشش صورت می‌گیرد (Filice *et al.*, Bickler and Buck, 2007; 2024). پرورش ماهیان قرمز به صورت متراکم در استخرهای پرورشی به‌ویژه در استخرهای خاکی و آکواریوم‌ها همیشه با چالشی به نام استرس همراه است که می‌تواند وقوع بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عفونی ویروسی، باکتریایی، قارچی یا بیماری‌های انگلی به‌ویژه تک‌پاخته‌های انگلی را دامن بزند، البته بیماری‌های محیطی غیرعفونی مشکل دیگری است که می‌تواند وقوع بیماری و تلفات را در استخرهای ماهیان زینتی ایجاد کند که برای پیشگیری از وقوع بیماری‌های مختلف، مدیریت بهداشتی مناسب و دقیق در طول دوره پرورش باید اجرا گردد. همچنین استرس‌های زیست محیطی شرایط طبیعی بیولوژیک ماهیان مانند تخم ریزی، رشد، تغذیه، ایمنی و بقاء ماهیان را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Syamsunarno and Sunarno, 2016; Fazio *et al.*, 2020b; Rahanandeh and Rahanandeh, 2020; Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur, 2021). یکی از انگل‌هایی که می‌تواند در شرایط استرس‌زا (پرورش متراکم یا تغییرات ناگهانی هیدرو شیمی آب)، شیوع یابد، تک‌پاخته *Ichthyophthirius multifiliis* است. این انگل به پوست و آبشش ماهی می‌چسبد و

باعث تحریک و آسیب می‌شود و در صورت عدم درمان، در نهایت می‌تواند منجر به مرگ شود. چرخه زندگی *I. multifiliis* با آزاد شدن مراحل عفونی متحرک، معروف به ترونت، در آب آغاز می‌شود. ترونت‌ها می‌توانند طیف وسیعی از میزبان‌های میانی (سخت‌پوستان، دوزیستان و ماهی‌ها) را آلوده کنند. ترونت‌ها به محض ورود به میزبان، به یک مرحله انگلی به نام تروفونت تبدیل شده و پس از یک دوره رشد و توسعه، میزبان را آزاد می‌کنند و به یک تومونت تبدیل می‌شوند. سپس تومونت‌ها تقسیم می‌شوند و صدها تومیت کوچک را تشکیل می‌دهند و به عنوان ترونت در آب رها می‌شوند تا میزبان قطعی را آلوده و مجدد چرخه را شروع می‌کنند. این انگل باعث خسارات اقتصادی قابل‌توجهی در صنعت آبی‌پروری می‌شود و توسعه درمان‌های مؤثر را حیاتی می‌کند (Rahanandeh, 2021; Huang *et al.*, 2022). درمان *I. multifiliis* در ماهی معمولاً از طریق داروهای ضد انگلی مانند مالاشیت گرین، فرمالین، پراکسید هیدروژن، اسید پراستیک، سدیم پرکربنات، اسید هیومیک، برونوپل و فرات پتاسیم انجام می‌شود (Huang *et al.*, 2022). این درمان‌ها در صورت استفاده صحیح می‌توانند مؤثر باشند، اما باید توجه داشت که Ich یک دوره بسیار مقاوم کیست ژله‌ای تومونتی در محیط دارد. این موضوع باعث می‌شود که ریشه‌کن کردن *I. multifiliis* در یک سیستم آلوده به طور کامل چالش‌برانگیز باشد و معمولاً ماهی‌ها حتی پس از درمان، مجدداً عفونی می‌شوند. اگرچه مالاشیت گرین به طور گسترده برای کنترل *I. multifiliis* استفاده می‌شود، اما مشخص شده است که در اکوسیستم و بافت ماهی تجمع می‌یابد و دارای اثرات سمیت سلولی، سرطان‌زایی و جهش‌زایی است. مقررات جامعه اقتصادی اروپا^۱ به دلیل ممنوعیت گسترده استفاده از مالاشیت سبز، در چند دهه گذشته تحقیقات گسترده‌ای جهت ارائه محصولات جایگزین مؤثر و سازگار با محیط زیست برای کنترل عفونت‌های *I. multifiliis* مطرح کرده است (Zhou *et al.*, 2018; Rahanandeh and Rahanandeh, 2020; Rahanandeh, 2021; Li *et al.*, 2022). گیاهان در دنیا سابقه طولانی و متنوعی دارند که عمیقاً در سنت‌های فرهنگی، شیوه‌های دارویی و هنرهای آشپزی ریشه دارد (Leonti and Verpoorte, 2017). در قلمرو پزشکی، گیاهان دارویی در روش‌های سنتی و مکمل مورد استفاده قرار می‌گیرند. طب

¹ European Economic Community

(Alavinia et al., 2019; Alavinia et al., 2018). تحقیقات متعدد دیگری نشان داده شدند که عصاره گیاهان در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند در کنترل لارو ترونت انگل اکتیوفاژیوس مولتی فلیئس موثر باشد (Yazdani Anaraki et al., 2021; Alijanpour et al., 2022; Rahmati et al., 2024). بر خلاف درمان‌های شیمیایی معمول، به طور کلی، گیاهان دارویی برای محیط زیست ایمن در نظر گرفته می‌شوند و خطری برای سلامت انسان ندارند. علاوه بر این، بسیاری از گیاهان دارویی به راحتی در دسترس و ارزان هستند و آنها را به گزینه‌ای جذاب برای تولیدکنندگان آبی‌پروری تبدیل می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد انگلی اسانس اسطوخودوس (*L. officinalis*) بر ترونت انگل *Ichthyophthirius multifiliis* بود.

مواد و روش کار

به تعداد ۵۰ عدد ماهی قرمز (*C. auratus*) آلوده به انگل *Ichthyophthirius multifiliis* با وزن ۳۵-۲۰ گرم در دو آکواریوم شاهد و تحت تیمار به حجم ۱×۱×۲ مترمکعب آب با شرایط دمایی ۲۵-۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH=۷/۲ به طور مساوی با شرایط هوادهی و تغذیه‌ای مناسب قرار گرفتند. ماهیان تحت تیمار با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰-۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری (نیکون) با بزرگنمایی ۱۰۰-۴۰ میزان آلودگی ماهیان قبل از آزمایش بررسی گردید. تمامی ماهیان آلوده و تعداد تروفونت‌ها در هر فیلد میکروسکوپ بین ۳۰-۴۰ عدد شمارش گردید، سپس تأثیر دارو بر ترونت‌های جدا شده از ماهی و ماهیان آلوده به صورت حمام درمانی تحت تیمارهای مشخص در آکواریوم به کار گرفته شد (Rahanandeh, 2021). اسانس اسطوخودوس^۱ از شرکت دارویی معتبر مرگان شیمی تهیه گردید.

کروماتوگرافی اسانس اسطوخودوس

ترکیبات شیمیایی اسانس اسطوخودوس به صورت درصد با استفاده از GC-MS تعیین شد. تجزیه و تحلیل GC-MS با استفاده از کروماتوگرافی گازی سری هیولت پاکارد ۶۸۹۰ (Perkin Elmer (PE) Auto System XL) آمریکایی مجهز به

سنتی مجموعه‌ای از دانش، مهارت و شیوه‌های مبتنی بر نظریه‌ها، باورها و تجربیات بومی فرهنگ‌های مختلف است که در حفظ سلامت و در پیشگیری، تشخیص، بهبود یا درمان بیماری‌های جسمی و روانی استفاده می‌شود (Krsnik and Erjavec, 2024). با این حال، «طب مکمل» یا «طب جایگزین» به مجموعه گسترده‌ای از اقدام مراقبت‌های بهداشتی اطلاق می‌شود که بخشی از سنت یا طب سنتی آن کشور نیست و به طور کامل در سیستم مراقبت‌های بهداشتی غالب ادغام نشده‌اند و در برخی کشورها به جای طب سنتی استفاده می‌شوند (WHO, 2024). اثربخشی و مکانیسم‌های طب سنتی را نمی‌توان همیشه با ابزارهای علمی به طور کامل توضیح داد زیرا می‌تواند بر اساس باورهای فرهنگی باشد. تغییرات گسترده‌ای در طب مکمل در مورد سطح تحقیقات علمی و شواهد برای استفاده از آن وجود دارد. آنها از شیوه‌های به‌خوبی تحقیق شده مانند برخی از مواد گیاهی متفاوت هستند (van Galen, 2014; Hritcu and Cioanca, 2016). ادغام داروهای گیاهی و سنتی در مقیاس جهانی محبوبیت بیشتری پیدا می‌کند. چنین ادغامی اغلب شامل داروهای گیاهی به عنوان یک گزینه درمانی (تغذیه، درمان فیزیکی، یا حرکت درمانی) نیز می‌شود (Kemppainen et al., 2018; Welz et al., 2019). اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) گیاهی پایا و پر ساقه دارای برگ‌های کوچک و گل‌های آبی است و جایگاه اصلی رویش آن در اروپا و امریکا است و در ایران نیز در قسمت‌های جنوب شرقی و در شمال ایران در ارتفاعات منجیل و رودبار می‌روید. ماهیت این گیاه گرم و خشک است و در طب سنتی به دمنوش، شربت عصاره، عرقیات یا از اسانس آن در طب سنتی کاربرد درمانی وسیعی دارد. در فیتوشیمی این گیاه اسانس آن که دارای مهم‌ترین کاربرد در طب بوده که شامل ترکیبات 1,8-cineole, B-ocime, linalyl acetate, linalool, terpinen-4-ol, camphor است (Woronuk et al., 2011; Koulivand et al., 2013). امروزه نشان داده شده است که گیاهان دارویی دارای فعالیت ضد تک‌یاخته‌ای هستند و استفاده از آنها در طب سنتی منجر به توسعه داروهای ضد انگلی جدید شده است. در شرایط آزمایشگاهی تانیک اسید علاوه بر بهبود ایمنی ماهی در کنترل Ich موثر است، همچنین استفاده از یک عامل فنی استاندارد مانند TA در غلظت بالاتر و زمان تماس طولانی‌تر می‌تواند به طور بالقوه تعداد ترونت‌های *I. multifiliis* را کاهش داده و اکتیوفاژی‌زیس را کنترل کند

¹ Lavender essential oil

شد. معنی دار بودن آمار با استفاده از آزمون واریانس ANOVA یک طرفه و مقایسه چندگانه (دانکن) در ($P < 0.05$) تعیین شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی گازی - طیفسنجی جرمی (GC-MS) اسانس اسطوخودوس (*L. officinalis*) در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس اسطوخودوس (*L. officinalis*)

ردیف	درصد ترکیبات	ترکیبات شناسایی شده
۱	۳۲/۶۵	۱،۸- سینئول
۲	۲۲/۹۰	لینالیل استات
۳	۱۵	لینالول
۴	۴/۳۰	بورنئول

اثر ضد انگلی اسانس اسطوخودوس در شرایط آزمایشگاهی

آزمایش نشان داد با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس میزان تلفات تروفونت‌ها بیشتر و این تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). علاوه بر این، هر چقدر تروفونت انگل *Ichthyophthirius multifiliis* در طولانی مدت در غلظت بالای اسانس اسطوخودوس قرار گرفت، تمامی لاروها از بین رفت و تلفات انگل‌ها تقریباً به ۱۰۰ درصد رسید (شکل ۱). نتایج همچنین نشان داد، غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی لیتر از اسانس اسطوخودوس در میزان مرگ‌ومیر لاروها تأثیر مناسبی داشت و زمانی لاروها در مدت ۶۰ دقیقه در مواجهه با غلظت ۰/۵ میلی لیتر قرار گرفتند، تقریباً ۱۰۰ درصد لاروهای انگل از بین رفت که این تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). کنترل منفی حاوی ۱٪ DMSO باعث مرگ‌ومیر تروفونت‌ها نشد در حالی که تمام تروفونت‌ها در فرمالدئید ۰/۱ میلی لیتر که به عنوان یک کنترل مثبت در نظر گرفته شد، طی ۳۰ دقیقه تمامی لاروها کشته شدند. در شرایط آزمایشگاهی زمانی که ماهیان آلوده اکواریوم تحت سه تیمار اسطوخودوس قرار گرفتند، تمامی انگل‌های Ich در مقایسه با گروه شاهد در اکواریوم از بین رفتند و این تفاوت تلفات انگل در ماهیان اکواریوم تحت تیمار در مقایسه با ماهیان اکواریوم گروه شاهد، اختلاف معنی‌دار را نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۱ و جدول ۲).

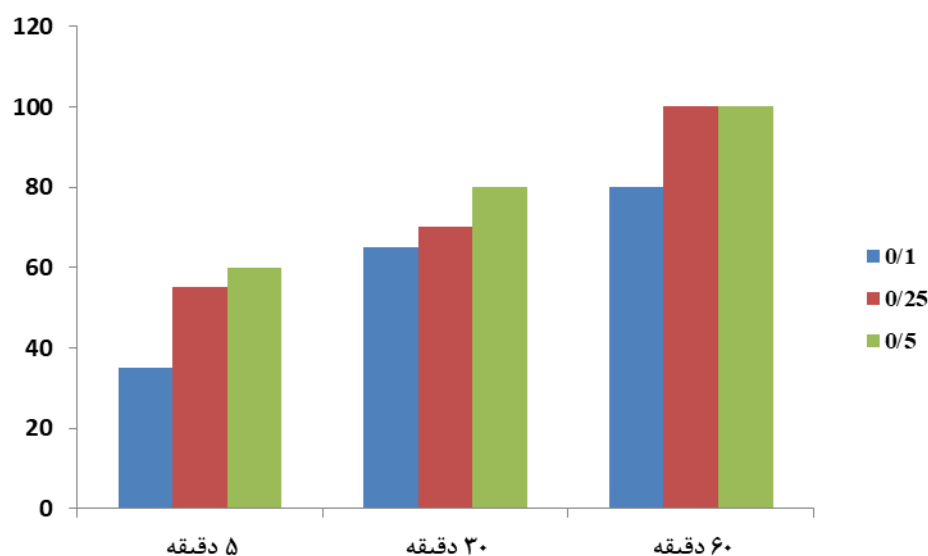
ستون مویرگی، CPWax 52 CB به طول ۵۰ متر، قطر ۹۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. شرایط عملیاتی به صورت برنامه دمای GC در دمای ۶۰-۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و سپس در دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگه داشته شد، گاز حامل هلیوم بود و سرعت جریان ۴۰ میلی لیتر در دقیقه، دمای انژکتور و آشکارساز ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد، حجم تزریق نمونه ۱ میکرولیتر و نسبت تقسیم ۲۰/۱ میلی لیتر در دقیقه بود. مقادیر درصد نسبی از کروماتوگرام به وسیله Turbo Crom محاسبه شد. پس از تزریق اسانس اسطوخودوس به دستگاه و به دست آوردن کروماتوگرام، مقدار درصد نسبی هریک از ترکیبات موجود در اسانس با استفاده از دستگاه توربوکروم مشخص و شناسایی گردید.

فعالیت ضد انگلی دارو در شرایط آزمایشگاهی در دو مرحله

مرحله اول پوست و کمان‌های آبشش ماهیان آلوده در یک پتری دیش استریل حاوی ۵ میلی لیتر آب مقطر خراشیده شدند و تروفونت‌های متحرک فعال با استفاده از فور جمع‌آوری شدند. آزمون آزمایشگاهی بر روی ۴ چاهک آزمایشگاهی انجام شد. ابتدا اسانس در دی متیل سولفوکسید (DMSO) حل شد و سپس غلظت مختلفی از محلول به مقدار (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۲۵) میلی لیتر آماده گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر آب با ۹۰ تروفونت و محلول اسانس ۱۰۰ میکرولیتری به هر چاهک اضافه شد و انگل‌ها به مدت زمانی ۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انکوبه شدند. تروفونت‌ها در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ($\times 100$) مورد بررسی قرار گرفتند. سلول‌های تروفونت بی حرکت و لیز شده و مرده مشاهده شدند (Ling et al., 1993). برای گروه‌های کنترل منفی از آب مقطر استریل شده حاوی DMSO استفاده شد در حالی که گروه‌های کنترل مثبت با استفاده از فرمالدئید (۰/۱ میلی لیتر در لیتر) در معرض ۳۰ دقیقه آماده شدند. تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. در مرحله بعد ماهیان آلوده در اکواریوم تحت سه تیمار مذکور قرار گرفتند تا با گروه شاهد از ماهیان اکواریوم مقایسه گردد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمام داده‌های تجربی به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین بیان شد و با استفاده از برنامه بسته آماری SPSS نسخه ۲۰ ارزیابی



شکل ۱: مقایسه میزان مرگ و میر تروفونت‌های انگل *Ichthyophthirius multifiliis* پس از قرار گرفتن در معرض غلظت‌های مختلف اسانس گیاه دارویی اسطوخودوس

جدول ۲: مقایسه میزان درصد تلفات لارو تروفونت در سه غلظت ۰/۱، ۰/۲۵، و ۰/۵ میلی لیتر از اسانس اسطوخودوس در زمان‌های ۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه

مدت زمان درمان (دقیقه)	۵	۵	۵	۳۰	۳۰	۳۰	۶۰	۶۰	۶۰
غلظت دارو	۰/۱	۰/۲۵	۰/۵	۰/۱	۰/۲۵	۰/۵	۰/۱	۰/۲۵	۰/۵
درصد تلفات لاروها	۳۵±۱	۵۵±۱	۶۰±۱	۶۵±۲	۷۰±۱	۸۰±۱	۸۰±۲	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰

بحث

ماهی قرمز (*C. auratus*) به دلیل افزایش تکثیر و پرورش آن در جهان، در دسترس بودن آسان و مقاوم بودن در شرایط زیستی آکواریوم آزمایشگاهی، زمینه‌های مختلف تحقیقاتی از جمله کاربرد داروهای گیاهی به منظور پیشگیری، کنترل و درمان بیماری‌های مختلف عفونی را برای محققین فراهم کرده که در مطالعه حاضر نیز از همین گونه استفاده شده است (Al-Khalafah et al., 2020; Rehanandeh, 2021; Huang et al., 2022).

از مواد شیمیایی و داروهای متفاوتی برای درمان آلودگی‌های انگلی در کشورهای مختلف در استخرها یا آکواریوم‌های ماهیان زینتی استفاده می‌گردد. به کارگیری آنها هرچند ممکن است موفقیت‌آمیز باشد، ولی ممکن است علاوه بر آلودگی‌های زیست محیطی، مخاطراتی برای عامل به کارگیرنده دارو داشته باشد. برای مثال، مالاشیت گرین که در کنترل و درمان انگل‌های تک‌یاخته بسیار مطلوب بوده ولی برای ماهی و به کارگیرنده دارو به دلیل سمیت و سرطان‌زایی بسیار مخاطره‌آمیز است (Bora et al., 2024).

(al., 2024). امروزه از عصاره گیاهان به‌ویژه اسانس گیاهان دارویی برای درمان عفونت‌ها، تحریکات فیزیولوژیک، تغذیه، ترمیم زخم‌ها و درمان بیماری‌های انگلی در ماهیان به‌کار گرفته شده است و محققین گزارش‌ها مثبتی از کارایی آنها را گزارش کرده‌اند (Fu et al., 2014; Kareem et al., 2016; Zhou et al., 2018; Rahanandeh and Rahanandeh, 2020; Rahanandeh, 2021; Huang et al., 2022). این تحقیق نیز از اسانس گیاه اسطوخودوس در درمان و کنترل انگل‌های تک‌یاخته‌ای ماهیان قرمز *C. auratus* استفاده شده و کارایی مثبتی داشته است. انگل *Ichthyophthirius multifiliis* از خطرناک‌ترین تک‌یاخته‌های عفونی در گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی به‌ویژه در ماهیان زینتی در شرایط متراکم پرورشی است که می‌تواند باعث تلفات در آنها شود (Rahanandeh and Rahanandeh, 2020). انگل شرایط زیستی و بیولوژیک پیچیده‌ای در محیط زیست ماهیان دارد که محققین مختلف در دنیا سعی دارند تا راه کار مناسبی برای مبارزه با این انگل پیدا کنند تا علاوه بر تاثیرگذاری مناسب بر انگل، خطرات جانبی نداشته باشد (Bora et al., 2024).

مشاهده گردید که با افزایش غلظت دارو و افزایش طول مدت زمان رابطه مستقیم دارد و تلفات انگل‌ها در ماهیان با افزایش غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر در مدت یک ساعت ۱۰۰ درصد انگل‌ها را از بین می‌برد و این اختلاف در مقایسه با سایر زمان‌ها و غلظت‌های دارو معنی‌دار بوده است بدون این‌که در ماهیان ایجاد مسمومیت یا تلفات در مقایسه با گروه شاهد نماید (شکل ۱).

نتیجه‌گیری

این تحقیق برای اولین بار با هدف میزان تأثیرگذاری اسانس اسطوخودوس بر انگل خارجی تک‌یاخته *I. multifiliis* در آبشش و پوست ماهیان قرمز (*C. autatus*) در استان گیلان به کار گرفته شد و نتایج نشان داد، دارو می‌تواند تأثیرگذاری مناسبی بر انگل‌های مذکور در ماهیان زینتی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم بخش خصوصی شرکت اندیشه نوین کوشان وارنا، آقای مهندس پسندیده و مدیریت محترم بخش شیلات مرکز آموزش شیلات میرزاکوجک گیلان، که در انجام تحقیق حاضر مساعدت نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Alavinia, S. J., Mirzargar, S. S., Rahmati-Holasoo, H. and Mousavi, H. E., 2018. The in vitro and in vivo effect of tannic acid on *Ichthyophthirius multifiliis* in zebrafish (*Danio rerio*) to treat ichthyophthiriasis. *Journal of fish Diseases*, 41(12), 1793-1802. DOI: 10.1111/jfd.12886
- Alavinia, S.J., Mirzargar, S.S., Rahmati-Holasoo, H. and Mousavi, H., 2019. In vitro investigation of short-term antiparasitic effect of tannic acid on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *journal of veterinary research*, 74(2). 219-227. DOI: 10.22059/jvr.2019.244686.2720

Huang و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که عصاره گیاه berberine بر انگل *I. multifiliis* موثر هست. وی گزارش کرد، غلظت‌های متنوع از berberine می‌تواند لاروهای عفونی این انگل را از بین ببرد. Liu و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که عصاره *Curcuma longa* در غلظت‌های متنوع در فاصله زمانی مشخص توانسته انگل *I. multifiliis* را در ماهیان از بین ببرد، ولی به کارگیری آن در ماهیان قرمز باعث مسمومیت شدید و تلفات می‌شود. Shan و همکاران (۲۰۱۴) اثر متانولی عصاره گیاه *Toddalia asiatica* را بر انگل *I. multifiliis* در ماهیان قرمز بررسی و گزارش کردند این عصاره بر ترونت انگل *I. multifiliis* موثر است، ولی برای ماهیان قرمز ایجاد مسمومیت می‌کند. Ekanem و همکاران (۲۰۰۴) اثرات عصاره متانولی گیاه را بر انگل‌های ترونت در ماهیان قرمز بررسی کرده و گزارش کردند که دارو در غلظت‌های ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر توانست در حمام درمانی، ۹۰ درصد انگل‌های *I. multifiliis* را در ماهیان از بین ببرد. در این مطالعه غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر ماهیان آلوده به *I. multifiliis* در مقایسه با گروه شاهد و پس از جداسازی انگل از قسمت‌های خارجی ماهی و قرار دادن در سرم فیزیولوژی، تأثیر غلظت‌های مختلف دارو بر آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این عصاره بر انگل، بسیار تأثیرگذار بوده است، بدون آن‌که دارو با تیمارهای مختلف در ماهیان ایجاد مسمومیت یا تلفات نماید. در مطالعه Yao و همکاران (۲۰۱۱) دو ماده Dihydrosanguinarine و Hydrochlorothiazide موجود در گیاه *Macleaya microcarpa* به ترتیب در غلظت‌های ۷ و ۱۰ میلی گرم در لیتر پس از ۴ ساعت، تروفونت‌های *I. multifiliis* را به طور ۱۰۰٪ در ماهیان گرمابی از بین می‌برد. Chica و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که عصاره آبی برگ *Moringa oleifera* می‌تواند تروفوزوئیت *I. multifiliis* را در بدن و آبشش گربه ماهی در غلظت‌های ۱۵۰۰، ۲۵۰۰، ۳۵۰۰ و ۴۵۰۰ میلی گرم در لیتر پس از یک ساعت کاهش دهد. همچنین سایر محققین مشخص کردند که کاهش تعداد تروفونت‌های موجود در بدن گونه‌های مختلف ماهیان به غلظت و زمان وابسته است که در این تحقیق نیز نشان داده شد که وقتی ماهیان در مدت زمان طولانی‌تری با اسانس گیاه مواجه می‌شوند، تأثیرگذاری بر لاروهای انگل بیشتر است. در مطالعه حاضر، تأثیرگذاری اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر در زمان‌های ۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر انگل *I. multifiliis* مورد مطالعه قرار گرفت و

- Al-Khalaifah, H., Khalil, A.A., Amer, S.A., Shalaby, S.I., Badr, H.A., Farag, M.F., Altohamy, D.E. and Abdel Rahman, A.N., 2020. Effects of Dietary Doum Palm Fruit Powder on Growth, Antioxidant Capacity, Immune Response, and Disease Resistance of African Catfish, *Clarias gariepinus* (B.). *Animals*, 10, 1407:1-18. DOI:10.3390/ani10081407
- Apriani, S. A., Junaidi, M. and Marrzuki, M., 2023. Analisa Keragaman Warna Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) Persilangan Strain Ranchu, Black Moor Dan Oranda. *Journal Ruaya*, 11(1):1-12. DOI:10.29406/jr.v11i1.4686
- Bickler, P.E. and Buck, L.T., 2007. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: life with variable oxygen availability. *Annual Review of Physiology*, 69(1):145-70. DOI: 10.1146/annurev.physiol.69.031905.162529
- Bora, R., Rasid, S.S. and Hussain, M.A., 2024. Toxicological impact of malachite green on freshwater fish, *UPJOZ*, 45:659-668. <http://doi.org/10.56557/upjoz/2024/v45i174411>
- Chika, I.B., Onyekachi. O.J., Chioma, I.F., Emmanuel, A., Rose, O.N. and Bernard, M.O., 2020. Antiparasiticide potential of aqueous leaves extract of *Moringa oleifera* against *Ichthyophthirius multifiliis* infestation on *Clarias gariepinus*. *JAHP*, 8(3):113-121. DOI:10.17582/journal.jahp/2020/8.3.113.121
- Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur. 2021. Buku Statistik Budaya. In e-ISSN 2622-1934, p-ISSN: 2302-6049.
- Ekanem, A.P., Obiekezie, A., Kloas, W. and Knopf, K., 2004. Effects of crude extracts of *Mucuna pruriens* (Fabacea) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitology Research*, 92(5):361-366. DOI:10.1007/s00436-003-1038-8
- Fazio, F., Saoca, C., Fortino, G., Piccione, G. and Zumbo, A., 2020b. Seasonal biochemical changes in two aquaculture species *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 and *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19:1757–1769. DOI:10.22092/ijfs.2019.119854
- Filice, M., Leo, S., Mazza, R., Amelio, D., Garofalo, F., Imbrogno, S., Carmela Cerra, M. and Gattuso, A., 2021. The heart of the adult goldfish, *Carassius auratus* as a target of Bisphenol A: a multifaceted analysis. *Environmental Pollution*, 269, 116177. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116177>
- Filice, M., Gattuso, A., Imbrogno, S., Mazza, R., Amelio, D., Caferro, A., Agnisola, C., Icardo, J.M. and Carmela Cerra, M., 2024. Functional, structural, and molecular remodelling of the goldfish (*Carassius auratus*) heart under moderate hypoxia. *Research Gate*, 50(2):1-19. DOI:10.1007/s10695-024-01297-7
- Fu, Y.W., Zhang, Q.Z., Xu, D.H., Liang, J.H. and Wang, B., 2014. Antiparasitic Effect of Cynatratoside-C from *Cynanchum atratum* against *Ichthyophthirius multifiliis* on Grass Carp. *J Agric Food Chem*, 62(29):7183-7189. DOI:10.1021/jf5018675
- Hritcu, L. and Cioanca, O., 2016. Herbal Medicine in Depression: Traditional Medicine to Innovative Drug Delivery. pp.135-181. Springer International Publishing Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14021-6_5
- Huang, K., Guangran, H., Runqiu, w., Qingwen Z., Wenxiang, L., Hong, Zo., Shangong, Wu.,

- Guitang, W. and Ming, Li., 2022. In vitro assessment of Berberine against *Ichthyophthirius multifiliis* in Goldfish. *Pathogens*, 11(10):1207. DOI:10.3390/pathogens11101207
- Kareem, Z.H., Abdelhadi, Y.M., Christianus, A., Karim, M. and Romano, N., 2016. Effects of some dietary crude plant extracts on the growth and gonadal maturity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their resistance to *Streptococcus agalactiae* infection. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42:757–769. DOI:10.1007/s10695-015-0173
- Kemppainen, L.M., Kemppainen, T., Reippainen, J.A., Salmenniemi, S.T. and Vuolanto, P.H., 2018. Use of complementary and alternative medicine in Europe: health-related and sociodemo-graphic determinants. *Scand. J. Public Health.*, 46(4):448-455. DOI:10.1177/1403494817733869
- Kottelat, M. and Freyhof, J., 2008. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin:646. DOI:10.1007/s10228-007-0012-3.
- Koulivand, P.H., Khaleghi Ghadiri, M. and Gorji, A., 2013. Lavender and the nervous system. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 681304. DOI:10.1155/2013/681304
- Krsnik, s. and Erjavec, k., 2024. Factors influencing use of medicinal herbs. *Journal of Patient Experience*, 11:1-8. DOI:10.1177/23743735241241181
- Leonti, M. and Verpoorte, R., 2017. Traditional mediterranean and European herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacological*, 6(199):161-167. DOI: 10.1016/j.jep.2017.01.052
- Li, M., Bastos Gomes, G., Zhao, W., Hu, G., Huang, K., Yoshinaga, T., Clark, T.G., Li, W., Zou, H., Wu, Sh. and Wang, G., 2022. Cultivation of fish ciliate parasites: Progress and prospects. *Reviews in Aquaculture*, 15(1):142-162. DOI:10.1111/raq.12708
- Ling, K.H., Sin, Y.M. and Lam, T.J., 1993. Effect of copper sulphate on ichthyophthiriasis (white spot disease) in goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture*, 118(1-2):23-35. DOI:10.1016/0044-8486(93)90277-6
- Liu, Y.M., Zhang, Q.Z., Xu, DH., Fu, Y.W., Lin, D.J., Zhou, Sh.Y. and Li, J.P., 2017. Antiparasitic efficacy of curcumin from *Curcuma longa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. *Veterinary Parasitology*, 236:128-136. DOI:10.1016/j.vetpar.2017.02.011
- Rahanandeh, M. and Rahanadeh, M., 2020. Practical effect of calcium oxide and sodium chloride on the control and treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* in Gold fish (*Carassius auratus*) farms. *Sustainable Aquaculture and Health Management Journal*, 6(1): 44-53. <http://dx.doi.org/10.29252/ijaah.6.1.44>
- Rahanandeh, M., 2021. Apractical Guide for fish health and diseases, Noorbakhsh Publications, first edition, pp. 193-194.
- Rahanandeh, M., rahanandeh, M., Tizkar, B. and Zoughi shalmani, A., 2024. The effect of hydroalcoholic extract of olive leaf on macroscopic experimental wounds caused in red fish (*Carassius auratus*, Linnaeus, 1758). *Journal of Ornamental Aquatics*, 11(1):1-9. <http://ornamentalaquatics.ir/article-1-347-fa.html>
- Rahmati-Holasoo, H., Asadi, A., Nassiri, A., Ebrahimzadeh Mousavi, H. and Nabian, S., 2024. In vitro Study of Effects of Alcoholic Extract of Pomegranate Peel on *Ichthyophthirius*

- multifiliis* Theronts. *Journal of Medicinal plants and By-Products*, 13(3), 644-652. DOI: 10.22034/jmpb.2024.366214.1713
- Sattari, M., Shahsavani, D. and Shafii, S., 2004.** Ichthyology (systematics). Vol 2. Haghshenass publication. 520 P.
- Septiara, I., Maulina, I. and Buwono, I. D., 2012.** Analisis Pemasaran Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) di Kelompok Pembudidaya Ikan Kelapa Ciung Kecamatan Cimalaka Kabupaten Sumedang. *Journal Perikanan dan Kelautan*, 3 (3):69-73.
- Shan X.F., Meng, Q.F., Kang Y.H., Bian Y., Gao Y.h., Wang W.L., Qian A.D., 2014.** Isolation of active compounds from methanol extracts of *Toddalia asiatica* against *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish (*Carassius auratus*). *Veterinary Parasitology*, 199(3-4):250-254. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.021>
- Syamsunarno, M.B. and Sunarno, M.T., 2016.** Budidaya ikan air tawar ramah lingkungan untuk mendukung keberlanjutan penyediaan ikan bagi masyarakat. In, Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan 2016.
- van Galen E., 2014.** Traditional herbal medicines worldwide, from reappraisal to assessment in Europe. *Journal of Ethnopharmacology*, 158:498-502. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.013>
- Welz, A.N, Emberger-Klein, A. and Menrad K., 2019.** The importance of herbal medicine uses in the German health-care system: prevalence, usage pattern, and influencing factors. *BMC Health Services Research*, 19:952. DOI:10.1186/s12913-019-4739-0
- WHO, 2024.** Traditional medicine. Accessed February 2, <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>, 2-7.
- Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M. and Mahmoud S., 2011.** Biosynthesis and therapeutic properties of Lavandula essential oil constituents. *Planta Medica*, 77(1):7-15. DOI:10.1055/s-0030-1250136
- Yao, J.U., Zhou, Z.M., Li, X.L., Yin, W.L., Ru, H.S., Pan, X.Y., Hao, G.J., Xu, Y. and Shen, J.Y., 2011.** Antiparasitic efficacy of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine from *Macleaya microcarpa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in richadsin (*Squaliobarbus curriculus*). *Veterinary Parasitology*. 183(1-2): 8-13. DOI:10.1016/j.vetpar.2011.07.021
- Yazdani Anaraki, E., Mirzargar, S. S., Rahmati Holasoo, H., Sharifzade, A. and Ebrahimzade Musavi, H. A., 2021.** In vitro study of short-term antiparasitic effect of alcoholic extract of *Terminalia catappa* L. leaves on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 20(4): 1138-1148. DOI: 10.22092/ijfs.2021.124565
- Zhou, S.Y., Liu, Y.M., Zhang, Q.Z., Fu, Y.W. and Lin, D.J., 2018.** Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Polygonum cuspidatum* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. *Veterinary Parasitology*, 253:22-25. DOI:10.1016/j.vetpar.2018.02.005

Effect of lavender essential oil (*Lavandula officinalis*) on the external parasite *Ichthyophthirius Multifiliis* in goldfish (*Carassius auratus*, Linnaeus, 1758)

Rahanandeh M.^{1*}, Rahanandeh M.², Avakh keysami M.¹, Zoughi Shalmani A.¹

*Rahanandeh1340@gmail.com

1- Department of Aquatics and Fisheries Research, Guilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

2- Genetics Group, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University of Iran, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

A total of 50 goldfish (*Carassius auratus*) infected *Ichthyophthirius multifiliis*, weighing between 20-35 grams were placed in two control and treated aquariums with a volume of $1 \times 1 \times 2 \text{ m}^3$ aeration of water with temperature conditions between 25-28 °C and pH = 7.2 with appropriate and nutritional conditions. The treated fish were anesthetized using clove extract and their contamination levels were checked before the experiment. The experiment showed that with increasing lavender essential oil concentration and duration, the rate of trophont losses was higher, and this difference was significant ($p < 0.05$). The experiment also showed that concentrations of 0.1 and 0.25 ml of lavender essential oil had good effects on larval mortality. When larvae were exposed to a concentration of 0.5 ml for 60 minutes, almost 100% of the parasite larvae were killed, and the difference was significant ($p < 0.05$). The results of this study showed that lavender essential oil is effective in eliminating parasites on the external surfaces of goldfish.

Keywords: Goldfish, Lavender plant, Parasite *ichthyophthirius multifiliis*, Treatment