DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2015.11926

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۰، شماره ۶، صفحه ۹۲۲-۹۱۵ (۱۳۹۳)

تعیین غلظت کشنده (LC 96h) عصاره هیدروالکلی سیر (*Allium sativum* L.) و اثرات آن بر بافت آبشش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

سهیل بازاری مقدم[۱*]، مصطفی شریف روحانی[۲]، عیسی شریف‌پور[۳]، ذبیحا... پژند[۴]، جلیل جلیل‌پور[۵] و مهدی معصوم‌زاده[۶]

۱*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد شیلات، بخش بهداشت و بیماری‌ها، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت

پست الکترونیک: soheilbm274@gmail.com

۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران

۳- دانشیار، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران

۴- کارشناس ارشد شیلات، بخش اکولوژی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت

۵- کارشناس، بخش بهداشت و بیماری‌ها، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت

۶- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، بخش بهداشت و بیماری‌ها، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۱ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

امروزه اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در مبارزه با بیماری‌های عفونی و غیرعفونی کاملاً آشکار بوده و لزوم جایگزینی آنها با داروهای شیمیایی به‌ویژه در صنعت آبزی‌پروری ضروری به‌نظر می‌رسد. این مطالعه با هدف بررسی و تعیین غلظت کشندگی عصاره هیدروالکلی سیر (*Allium sativum* L.) در بچه تاسماهی ایرانی در راستای اجرای مطالعات کاربردی انجام شد. این تحقیق بر روی بچه تاسماهیان ایرانی با میانگین وزنی ۰/۵۱ ± ۳/۲۲ گرم اجرا شد. به‌منظور مطالعه تأثیرات این عصاره‌ها، ۲۴۰ عدد بچه تاسماهی در ۷ تیمار و یک گروه شاهد (هر تیمار با سه تکرار) در نظر گرفته شد. طی مدت آزمایش، کلیه فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نظیر درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH، نیتریت، نیترات، آمونیوم، هدایت الکتریکی و سختی نیز در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. این آزمایش براساس روش O.E.C.D و در مدت زمان ۹۶ ساعت اجرا گردید. بدین منظور با استفاده از روش محاسباتی Probit Analaysis، نسبت به ترسیم معادله خط رگرسیون و بعد تعیین مقادیر مختلف غلظت‌های کشنده اقدام گردید. در این تحقیق میزان LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} عصاره هیدروالکلی سیر به‌ترتیب معادل ۹۰۹/۹۱، ۱۲۷۹/۹۷ و ۱۸۰۰/۵۲ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی بافت‌های آبشش در تیمارهای مختلف پس از انجام مراحل مختلف بافت‌شناسی، حکایت از وجود ضایعاتی نظیر پرخونی، هیپرپلازی، طویل شدن لاملای ثانویه، نکروز سلولی و چسبندگی لاملای ثانویه به همدیگر داشت.

واژه‌های کلیدی: عصاره هیدروالکلی، سیر (*Allium sativum* L.)، تاسماهی ایرانی، غلظت کشنده، آبشش.

مقدمه

سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی دوساله با پیازی مرکب می‌باشد. ترکیب‌های موجود در سیر به دو گروه عمده ترکیب‌های سولفوره و غیرسولفوره تقسیم می‌شوند و خواص دارویی سیر عمدتاً به‌دلیل حضور ترکیب سولفوره‌ای به نام آلیسین (Allicin) می‌باشد (دهخوارخانی، ۱۳۷۳). سیر به‌طور طبیعی فاقد آلیسین بوده و این ماده از پیش ماده‌ای به نام آلیین ایجاد می‌گردد. آلیین در هنگام خرد شدن و بر اثر بروز یک واکنش آنزیمی توسط آنزیم آلیناز تبدیل به آلیسین، پیروات و آمونیوم می‌شود. آلیسین یک ماده دارویی قدرتمند است که در برابر عوامل پاتوژن مقاومت می‌کند. تاکنون مطالعات متعددی بر روی سیر در زمینه اثرات ضدمیکروبی، اثرات ضدسرطان، کاهش میزان قند خون، تحریک سیستم ایمنی، اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی انجام شده‌است (Delaha & Garangusi,

1985؛ Jegede, 2007). تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به‌عنوان گونه‌ای از ماهیان خاویاری بومی سواحل جنوبی دریای خزر، ازجمله ماهیانی به‌شمار می‌آید که دارای ارزش اقتصادی خاصی می‌باشد. با توجه به اهمیت کاربرد گیاهان دارویی در پزشکی و دامپزشکی و نیز لزوم جایگزینی این گیاهان با مواد شیمیایی مورد استفاده در مبارزه با عوامل بیماری‌زا، ضرورت دارد که برخی از گیاهان دارویی بومی ایران ازجمله سیر به‌منظور کنترل و درمان بیماری‌های ماهیان ازجمله ماهیان خاویاری مورد ارزیابی قرار گیرند. در این راستا ضروریست که آزمایش‌های تعیین عیار زیستی (Bioassay) عصاره سیر بر روی این گونه با ارزش نیز انجام شود. بنابراین این تحقیق با هدف تعیین غلظت‌های کشنده (LC) ۹۶ ساعته بر روی بچه تاسماهیان ایرانی و بررسی تأثیرات غلظت کشنده بر بافت‌های آبشش این ماهیان انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه، پس از تهیه و انتقال بچه تاسماهیان ایرانی به وان‌های فایبرگلاس و سپری کردن دوره آداپتاسیون، ۲۴۰ عدد بچه تاسماهی ایرانی با میانگین وزنی ۰/۵۱ ± ۳/۲۲ گرم به‌طور تصادفی انتخاب شدند و در ۷ گروه تیمار (۱۰۰۰، ۱۱۱۶، ۱۲۴۶، ۱۳۹۱، ۱۵۵۴، ۱۷۸۵ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم لیتر) و یک گروه شاهد (هر تیمار با سه تکرار) و هر تکرار با ۱۰ عدد ماهی در تشتک‌های مخصوص با آبگیری به میزان ۳۰ لیتر متصل به سیستم هوادهی قرار گرفتند. محدوده پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی سیر و شاهد در آزمایش‌های عیارسنجی زیستی طی ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد. به‌طوری که دمای آب ۲۳-۲۲/۲ درجه سانتی‌گراد، pH ۸/۲- ۶/۷، اکسیژن محلول (DO) ۹/۱-۶/۲ میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی (Ec) ۹۱۲-۷۲۹ (µs/cm)، سختی کل ۲۴۰-۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر، نیتریت ۰/۰۲۲-۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر، نیترات ۰/۱۷۶-۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر و آمونیاک ۰/۸۶۴-۰/۱۳۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید.

در این مطالعه عصاره هیدروالکلی سیر مورد نیاز از شرکت کشت و صنعت و فرآوری گیاهان دارویی سها جیسا با دارا بودن استانداردهای بین‌المللی ISO 9001، ISO 14001، HACCP و IQnet (سازمان جهانی کیفیت) تهیه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت‌های کشنده عصاره مذکور بر روی بچه تاسماهیان ایرانی از روش استاندارد O.E.C.D (TRC, 1984) استفاده شد. به دلیل دستیابی به دامنه دوزها و به‌منظور تیماربندی بچه تاسماهیان ایرانی، مبادرت به چند مرحله آزمایش اولیه گردید تا اینکه محدوده غلظت کشندگی برای انجام آزمایش‌های نهایی حاصل گردد. سپس برای انجام آزمایش اصلی، دوزهای نهایی در محدوده غلظت‌های بدست آمده به روش لگاریتمی تعیین گردیدند. پس از افزودن عصاره به هر تیمار کلیه علائم حرکتی بچه تاسماهیان ایرانی و همچنین میزان تلفات آنها در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت گردید. داده‌های حاصل توسط برنامه SPSS ver. 17 و با استفاده از روش محاسباتی Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Finney, 1971). بدین منظور پس از ترسیم معادله خط رگرسیون (با سطح اطمینان ۹۵٪) نسبت به محاسبه مقدار x در معادله Y=ax+b (شیب خط: b و عدد ثابت: a) اقدام و با استفاده از محاسبه Antilog x، مقادیر غلظت‌های کشنده در زمان‌های مختلف تعیین گردید. به‌منظور بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره هیدروالکلی سیر در پایان دوره آزمایش، از هر تیمار ۳ عدد بچه ماهی به‌طور تصادفی انتخاب گردید. آبشش بچه تاسماهیان در ظروف حاوی بوئن قرار داده شد. نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه پس از طی مراحل پاساژ بافت، آماده برش‌گیری و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین شده و پس از طی مراحل مختلف به کمک میکروسکوپ مجهز به سیستم تصویربرداری مورد مطالعه قرار گرفتند (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۹۱؛ بهمنی و همکاران، ۱۳۸۴).

نتایج

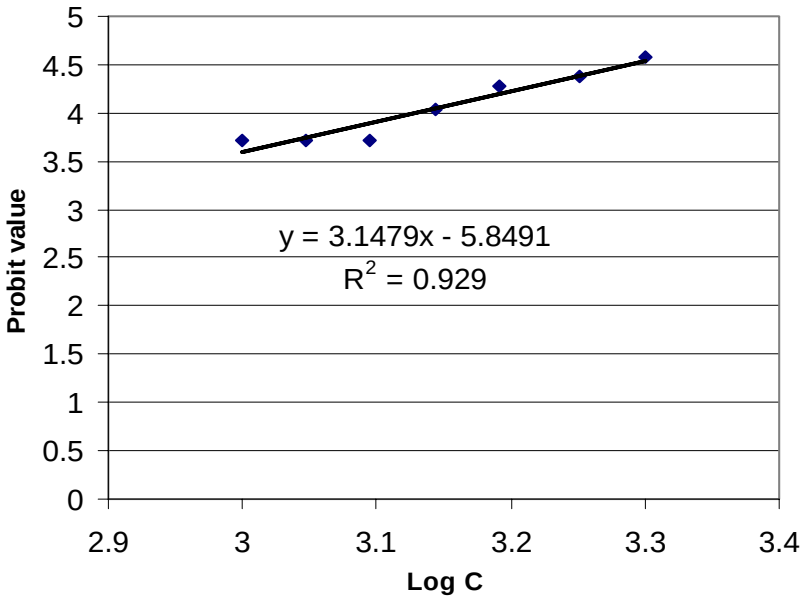
در این تحقیق به منظور یافتن محدوده غلظت عصاره هیدروالکلی سیر آزمایش‌های ابتدایی (pre-LC_{50}) بر روی بچه تاسماهیان ایرانی انجام شد و سرانجام محدوده غلظت ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای انجام آزمایش‌های نهایی تعیین گردید. براساس محاسبات لگاریتمی ۷ تیمار در نظر گرفته شد و نسبت به گروه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). همچنین میزان LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} عصاره هیدروالکلی سیر طی مدت زمان ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه گردید (جدول ۲). بر این اساس میزان LC_{50} این عصاره طی مدت ۴ روز معادل ۱۲۷۹/۹۷ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. همچنین معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی (R^2) حکایت از وجود ارتباط مستقیم (همبستگی قوی و مثبت) بین غلظت‌های مورد بررسی با میزان تلفات بچه تاسماهیان ایرانی داشت (شکل‌های ۱ تا ۴).

ر تیمارهای مختلف عصاره هیدروالکلی سیر بر میزان بازماندگی بچه تاسماهی ایرانی (میانگین ۳ تکرار) در طی ۹۶ ساعت

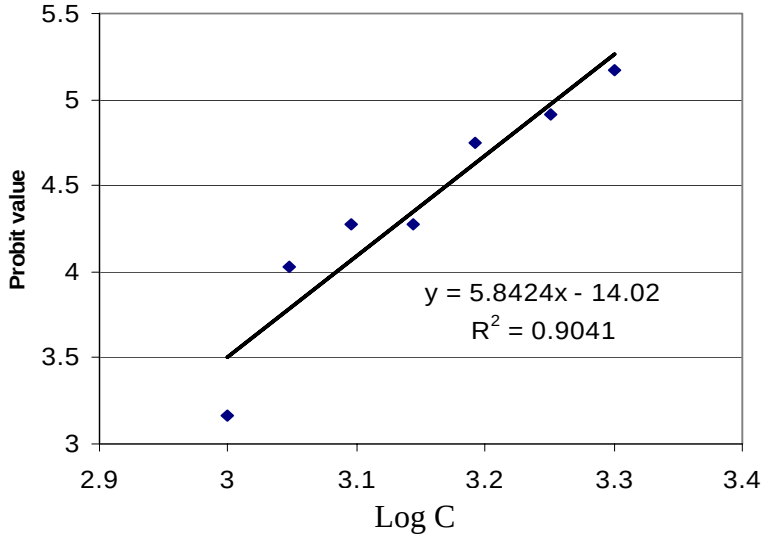
Probit value (عدد)				لگاریتم غلظت عصاره سیر	تغییرات نسبت به شاهد (٪)				۹۶ ساعت		۷۲ ساعت		
۹۶ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت		۹۶ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	زنده	مرده	زنده	مرده	ده
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	۱
۳/۸۸۷۷	۳/۵۰۱۵	۳/۱۶۱۶	۰	۳/۰۰۰۰	−۱۳/۳	−۶/۷	−۳/۳	۰	۸/۶۷	۱/۳۳	۹/۳۳	۰/۶۷	۹/
۴/۶۶۰۲	۴/۳۷۸۱	۴/۰۳۳۹	۳/۷۱۸۴	۳/۰۴۷۷	−۳۶/۷	−۲۶/۷	−۱۶/۷	−۱۰	۶/۳۳	۳/۶۷	۷/۳۳	۲/۶۷	۸/
۵/۰۰۰۰	۴/۵۶۸۴	۴/۲۷۱۰	۳/۷۱۸۴	۳/۰۹۵۵	−۵۰	−۳۳/۳	−۲۳/۳	−۱۰	۵	۵	۶/۶۷	۳/۳۳	۷/
۵/۳۳۹۸	۴/۸۳۱۳	۴/۲۷۱۰	۴/۰۳۳۹	۳/۱۴۳۳	−۶۳/۳	−۴۳/۳	−۲۳/۳	−۱۶/۷	۳/۶۷	۶/۳۳	۵/۶۷	۴/۳۳	۷/
۵/۷۲۹۰	۵/۱۶۸۷	۴/۷۴۶۷	۴/۲۷۱۰	۳/۱۹۱۵	−۷۶/۷	−۵۶/۷	−۴۰	−۲۳/۳	۲/۳۳	۷/۶۷	۴/۳۳	۵/۶۷	۶
۵/۹۶۶۱	۵/۳۳۹۸	۴/۹۱۷۲	۴/۳۷۸۱	۳/۲۵۱۶	−۸۳/۳	−۶۳/۳	−۴۶/۷	−۲۶/۷	۱/۶۷	۸/۳۳	۳/۶۷	۶/۳۳	۵/
۶/۸۳۸۴	۵/۹۶۶۱	۵/۱۶۸۷	۴/۵۶۸۴	۳/۳۰۱۰	−۹۶/۷	−۸۳/۳	−۵۶/۷	−۳۳/۳	۰/۳۳	۹/۶۷	۱/۶۷	۸/۳۳	۴/

جدول ۲- غلظت‌های کشنده عصاره هیدروالکلی سیر طی ۴ روز روی بچه تاسماهی ایرانی (میلی‌گرم در لیتر)

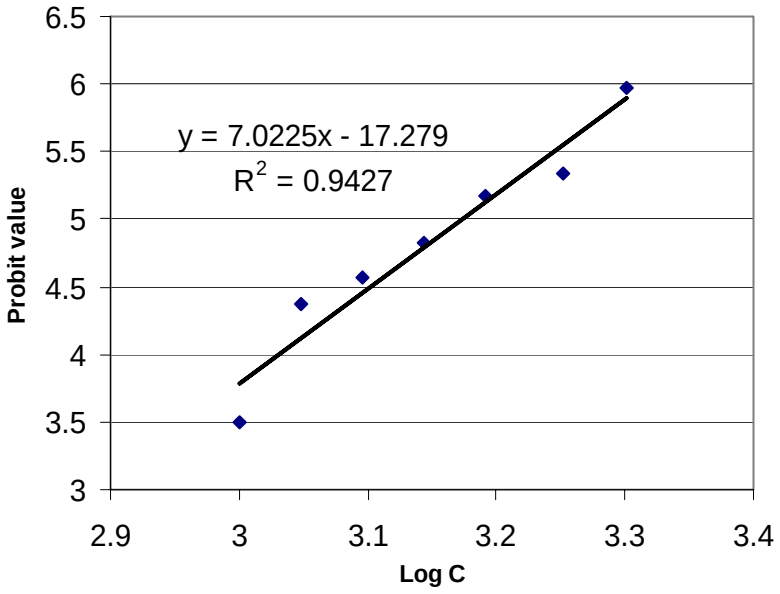
نام ماده	مقدار LC	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
عصاره هیدروالکلی سیر	LC_{10}	۱۰۹۴/۷۶	۱۰۸۶/۶۷	۹۷۷/۲۳	۹۰۹/۹۱
	LC_{50}	۲۷۹۵/۱۱	۱۸۰۰/۹۴	۱۴۸۷/۶۴	۱۲۷۹/۹۷
	LC_{90}	۷۱۳۶/۷۴	۲۹۸۴	۲۲۶۴/۶۴	۱۸۰۰/۵۲



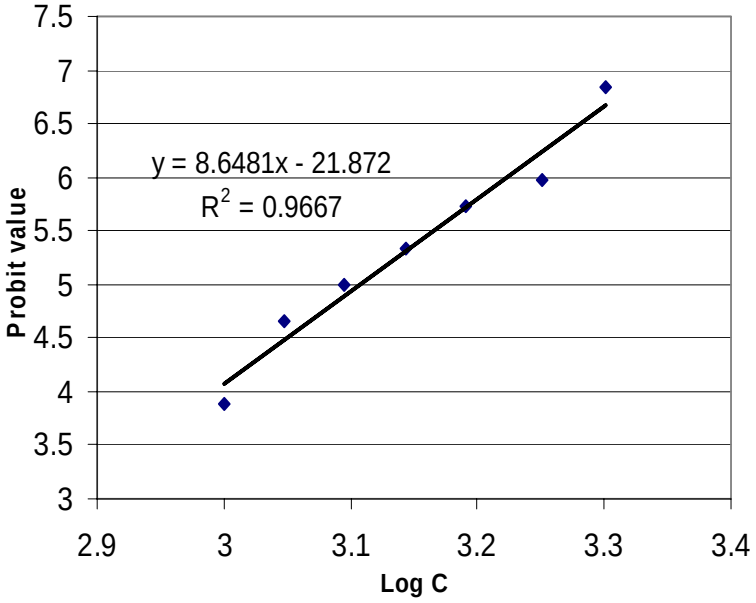
شکل ۱- معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی **probit value** با لگاریتم غلظت سیر بر روی بچه تاسماهیان ایرانی در ۲۴ ساعت



شکل ۲- معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی **probit val ue** با لگاریتم غلظت سیر بر روی بچه تاسماهیان ایرانی در ۴۸ ساعت



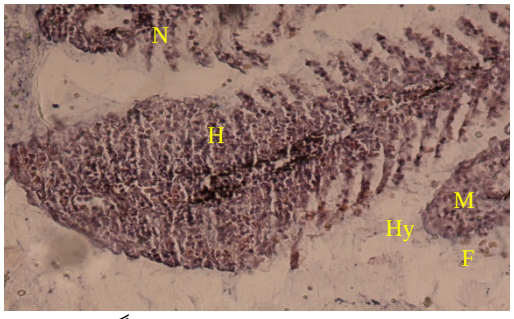
شکل ۳- معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی probit value با لگاریتم غلظت سیر بر روی بچه تاسماهیان ایرانی در ۷۲ ساعت



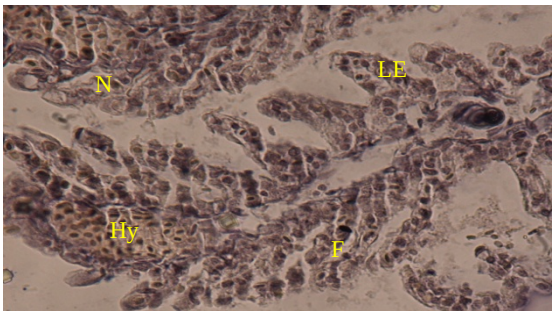
شکل ۴- معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی probit value با لگاریتم غلظت سیر بر روی بچه تاسماهیان ایرانی در ۹۶ ساعت

ماهیان مورد مطالعه در طول اجرای آزمایش تعیین غلظت‌های کشنده عصاره هیدروالکلی سیر از لحاظ رفتاری علائمی نظیر افزایش تعداد دفعات باز و بسته شدن سرپوش آبششی در مراحل اولیه آزمایش (به‌ویژه از تیمار ۳ به بعد) از خود نشان می‌دادند. ضمناً بیشترین تجمع بچه ماهیان در کف تشتک‌ها (گاهی به‌صورت وارونه) و تشکیل موکوس روی پوست به‌ویژه در تیمارهای ۶ و ۷ مشاهده گردید.

نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی بافت آبشش حکایت از مشاهده ضایعات هیستوپاتولوژیک نظیر هیپرپلازی (شکل ۵)، پرخونی (شکل ۶)، طویل شدن لاملای ثانویه، حجیم شدن غضروف‌های پشتیبان در رشته‌های آبششی، نکروز سلولی، ترشحات موکوسی، ادم لاملا و چسبندگی لاملای ثانویه به همدیگر داشته است. به‌طوری که در تیمار ۱ تغییرات بافتی متفاوتی با شاهد مشاهده نگردید، ولی در تیمارهای ۲ و ۳ به‌تدریج ضایعات هیستوپاتولوژیک در آبشش تاسماهیان مشهود بود؛ و از تیمار ۴ به بعد پرخونی ترشحات موکوسی، چسبنگی لاملای ثانویه و نکروز سلولی بسیار شدید مشاهده شده که احتمالاً این عوارض می‌توانند سبب کاهش میزان اکسیژن‌رسانی و در نهایت خفگی ماهیان گردد.



شکل ۵- هیپرپلازی (**H**)، پرخونی (**Hy**)، رنگدانه‌های ملانین (**M**)، چسبندگی رشته‌های آبششی (**F**) و نکروز سلولی (**N**) بافت آبشش در تیمار ۷ (**20 H&E, X**)



شکل ۶- پرخونی (**Hy**)، ادم لاملا (**LE**)، چسبندگی رشته‌های آبششی (**F**) و نکروز سلولی (**N**) بافت آبشش در تیمار ۳ (**40 H&E, X**)

بحث

با توجه به اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی و... گیاه سیر و نظر به اهمیت و کاربرد این گیاه، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص سمّیت و کشندگی آن بر روی بچه تاسماهی ایرانی انجام نشده بود (Prasad *et al*., 1982؛ Shalaby *et al*., 2006). بنابراین این بررسی با هدف تعیین غلظت‌های کشنده عصاره هیدروالکلی سیر بر روی این گونه ماهی انجام گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) در مدت زمان ۹۶ ساعت معادل ۱۲۷۹/۹۷ میلی‌گرم در لیتر بود. در مطالعه‌ای که توسط Abd El-Galil و Aboelhadid (۲۰۱۲) بر روی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) انجام شد میزان LC_{50} روغن سیر معادل ۶۱۸۶۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین گردید که بیشتر از مقادیر مطالعه حاضر بوده که خود می‌تواند به‌دلیل نوع ترکیب سیر مورد استفاده، گونه ماهی و شرایط محیطی در تحقیق مذکور باشد. بررسی حاضر نشان داد که طی زمان‌های ۲۴ تا ۹۶ ساعت، مقادیر LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} کاهش یافته است. به‌طوری که غلظت ۲۷۹۵/۱۱ میلی‌گرم در لیتر عصاره هیدروالکلی سیر می‌تواند ۵۰٪ از بچه تاسماهیان را در مدت ۲۴ ساعت تلف نموده و این مقدار طی ۹۶ ساعت به ۱۲۷۹/۹۷ میلی‌گرم در لیتر خواهد رسید. مقادیر LC_{10} و LC_{90} نیز به‌ترتیب از ۱۰۹۴/۷۶ و ۷۱۳۶/۷۴ میلی‌گرم در لیتر در ۲۴ ساعت به ۹۰۹/۹۱ و ۱۸۰۰/۵۲ میلی‌گرم در لیتر ۹۶ ساعت تنزل پیدا کرد. این بدان معنی است که مقاومت ماهی‌ها در مدت زمان کوتاه بیشتر بوده و توانایی تحمل غلظت بالاتری از عصاره را دارا می‌باشند ولی با گذشت زمان مقاومت بچه تاسماهیان ایرانی کاهش می‌یابد. میزان ترشح موکوس در سطح پوست بدن بچه تاسماهی ایرانی نیز با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت، به‌طوری که این افزایش ترشح در تیمارهای ۵، ۶ و ۷ آشکارتر بود. این مطالعه نشان داد که هر چقدر غلظت عصاره هیدروالکی سیر و نیز زمان مجاورت بچه ماهی با آن کمتر باشد، به همان نسبت میزان ترشح موکوس و عوارض ناشی از آن کمتر ملاحظه می‌گردد. چنین نتیجه‌ای نیز در مطالعه Sharif Rohani و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به‌منظور تعیین غلظت نیمه کشنده بدست آمد. از لحاظ هیستوپاتولوژیکی، تغییرات

ایجاد شده در بافت آبشش شامل پرخونی، هیپرپلازی و طویل شدن لاملای ثانویه، ترشحات موکوسی و چسبندگی لاملای ثانویه مشاهده گردید که این تغییرات با نتایج Jegede (۲۰۰۷) مطابقت دارد. مشاهده رفتارهای غیرطبیعی شامل افزایش تحریک‌پذیری، تعادل کم، انقباض شدید عضلات و انحنای ستون فقرات در غلظت‌های زیاد این عصاره کاملاً مشهود بوده که با یافته‌های Sharif Rohani و همکاران (۲۰۱۱)، Mitchell (۱۹۸۴) و Jegede (۲۰۰۷) مطابقت دارد. مقادیر غلظت‌های کشنده هیچگاه یک مقدار ثابت و مطلق نبوده، به دلیل اینکه فاکتورهای زیادی نظیر اختلافات فردی، سنی، جنسی، وزنی، عوامل محیطی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب، نحوه تجویز و سایر فاکتورهای دیگر در تعیین LC_{50} مؤثر می‌باشند (میرستاری، ۱۳۸۱). با توجه به غلظت‌های مختلف مورد استفاده این عصاره در تیمارهای مختلف و نتایج حاصل از میزان مرگ و میر بچه تاسماهیان، به نظر می‌رسد که دامنه تغییرات تأثیرگذاری این عصاره نسبتاً کم باشد. بنابراین می‌توان در صورت استفاده از این عصاره با توجه به خواص درمانی مناسب سیر، دامنه خطرپذیری کمی را برای بچه تاسماهیان ایرانی متصور بود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مساعدت جناب آقای دکتر محمود بهمنی (ریاست محترم) و جناب آقای دکتر شهرام عبدالملکی (معاونت محترم تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر) و نیز از پرسنل بخش پرورش مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر شهید دکتر بهشتی، تشکر بعمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، شریف‌پور، ع. و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۴. بررسی بافت‌شناسی آبشش، گناد، کبد، کلیه و دستگاه گوارش در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۶۹ صفحه.
- دهخوارخانی. ب. ۱۳۷۳. بررسی اثر عصاره سیر (Garlic) بر فلور عمده باکتریهای روده حیوان آزمایشگاهی. پایان‌نامه دکترای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ۲۱۲ صفحه.
- شریف‌پور، ع.، حلاجیان، ع. و کاظمی، ر.، ۱۳۹۱. روشهای آزمایشگاهی بافت‌شناسی. مرکز جامع علمی کاربردی. ۲۱۲ صفحه.
- میرستاری، ق.، ۱۳۸۱. اصول زهرشناسی (ترجمه). مرکز دانشگاهی، تهران، ۲۹۲ صفحه.
- Abd El-Galil, M.A.A. and Aboelhadid, S.M., 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. Veterinary Parasitology, 185(2-4): 57-63.
- Delaha, E.C. and Garangusi, V.F., 1985. Inhibition of mycobacteria by garlic extract (*Allium sativum*). Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 27(4): 485-486.
- Finney, D.J., 1971. Statistical Methods in Biological Assay. Hafner Publishing Company, New York, 668p.
- Jegede, T., 2007. Acute-toxicity of Sodium chloride (NaCl) on *Oreochromis niloticus* fingerlings. Journal of Fisheries International, 2(4): 292-294.
- Mitchell, A.J., 1984. Parasites and Diseases of Striped Bass: 177-204. In: McCraren, J.P., (Ed.). The Aquaculture of Striped Bass: A Proceeding, Maryland Sea Grant Publication, University of Maryland, 262p.
- Prasad, G., Sharma, V.D. and Kumar, A., 1982. Effect of garlic (*Allium sativum*) therapy against experimental dermatophytosis in rabbits. The Indian Journal of Medical Research,75: 465-467.
- Shalaby, A.M., Tab, Y.A. and Abdel, R., 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 Toxins including Tropical Disease, 12(2): 172-201.
- Sharif Rohani, M., Haghighi, M. and Assaeian, H., 2011. The lethal concentration (LC_{50}) of *Zataria multiflora* essential oil in fries of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 20(2): 89-95.
- TRC, 1984. OECD guideline for testing of chemicals, Section 2. Effects on biotic systems, 1-39.

Determination of lethal concentration (LC96h) of hydroalcoholic extract of garlic (*Allium sativum* L.) and its effects on gill tissue of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerlings

S. Bazari Moghaddam[1*], M. Sharif Rohani[2], I. Sharifpour[2], Z. Pajand[3], J. Jalilpour[3] and M. Masoumzadeh[3]

1*- Corresponding author, International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran, E-mail: soheilbm274@gmail.com
2- Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran
3- International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran

Received: November 2012 Revised: June 2013 Accepted: September 2013

Abstract

Today, the importance of using herbal drugs for campaigning against infectious and non infectious diseases is completely obvious and the need to replace them with chemical ones, particularly in the aquaculture industry, seems essential.This study was carried out to determine the lethal concentration (LC96h) of hydroalcoholic extract of garlic (*Allium sativum* L.) in Persian sturgeon (*Acipenser persicus)* fingerlings. Fingerlings were 3.22±0.51g in weight. In order to study the effects of these extracts, 240 fingerlings were selected in seven treatments and one control group with three replications for each treatment. During the experiment, all water physicochemical parameters including the temperature, dissolved oxygen, pH, nitrite, nitrate, ammonium, electric conductivity and water hardness were measured. This experiment was carried out according to O.E.C.D method within 96h. In this regard, the linear regression equation was drawn using probit analysis, and then different values of lethal concentrations were estimated. In this survey, according to probit analysis, the LC_{10}, LC_{50} and LC_{90} of hydroalcoholic extract of *Allium sativum* were recorded to be 909.91, 1279.97, 1800.52 mg/l, respectively. The results of microscopic histology of gill samples in different treatments revealed some damages such as hyperemia, hyperplasia, elongation of secondary lamellae, cell necrosis and adhesion of secondary lamellae.

Keywords: Hydroalcoholic extract, *Allium sativum* L., Persian sturgeon, lethal concentration, gill.