Arch Original Article مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۸، دوره ۷۴، شماره ۲، ۲۱۹-۲۲۷
DOI: 10.22059/jvr.2019.244686.2720

بررسی اثر ضد انگلی کوتاه مدت اسید تانیک بر ترونت‌های ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس (*Ichthyophthirius multifiliis*) در شرایط آزمایشگاهی

سید جلیل علوی نیا، سید سعید میرزرگر، هومن رحمتی هولاسو، حسینعلی ابراهیم زاده موسوی

گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۵ آذر ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۸ بهمن ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: ایکتیوفتیریوزیس یکی از مهمترین بیماری‌های انگلی با زیان‌های اقتصادی قابل توجه به صنعت آبزی پروری است که توسط انگل بیماری زای آب شیرین "ایکتیو فتیریوس مولتی فیلیس" (*Ichthyophthiirius multifiliis*) ایجاد می‌شود. اگرچه مالاشیت گرین، سولفات مس، فرمالین و کلرآمین-T به منظور تیمار ایکتیوفتیریوزیس استفاده شده اند، اخیرا هیچ گونه ترکیب شیمیایی ایمن و مؤثری جهت کنترل این بیماری انگلی وجود ندارد. بنابراین، بکارگیری از اجزای طبیعی، ایمن و قوی برای جلوگیری از ایکتیوفتیریوزیس بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

هدف: منظور از پژوهش حاضر، تعیین تعداد اثربخشی کوتاه مدت اسید تانیک بر میزان ترونت‌های انگلی ایکتیو فتیریوس مولتی فیلیس می‌باشد.

روش کار: سمیت حاد اسید تانیک در برابر ترونت‌های ایکتیو فتیریوس مولتی فیلیس در غلظت‌ها (۰-۷ mg/l) و زمان‌های مواجهه (۱-۳ h) مختلف تحت شرایط آزمایشگاهی (in vitro) ارزیابی شد. داده‌های حاصل از لحاظ آماری با یافته‌های بدست آمده از تیمار شاهد و نمونه کنترل مثبت (۱۵ mg/l فرمالین) مقایسه شدند.

نتایج: یک رابطه معنی‌دار و مستقیم بین غلظت اسید تانیک و زمان مواجهه به منظور افزایش نرخ کشندگی ترونت‌های ایکتیو فتیریوس مولتی فیلیس وجود داشت. میزان کشندگی با افزایش غلظت و زمان مواجهه اسید تانیک به طور معنی‌داری تشدید شد ($P<0/05$). ترکیب فنولی مورد استفاده مشابه با ۱۵ mg/l فرمالین منجر به کاهش معنی‌داری در شمار این ترونت‌ها (بیش از ۸۰ درصد) طی ۱ h شد.

نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از یک ترکیب فنلی استاندارد مانند اسید تانیک در غلظت‌های بالاتر و زمان مواجهه طولانی تر می‌تواند به طور بالقوه‌ای تعداد ترونت‌های ایکتیو فتیریوس مولتی فیلیس کاهش داده و ایکتیوفتیریوزیس را کنترل نماید.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، نرخ کشندگی، کارایی ضد انگلی، سمیت حاد، بیماری دانه‌های سفید

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۰۰ نمابر: ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: zargaram@ut.ac.ir

How to Cite This Article

Alavinia, S., Mirzargar, S., Rahmati-Holasoo, H., Mousavi, H. (2019). In vitro Investigation of Short-Term Antiparasitic Effect of Tannic Acid on *Ichthyophthirius multifiliis* Theronts. J Vet Res, 74(2), 219-227. doi: 10.22059/jvr.2019.244686.2720

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری دانه‌های سفید یا ایکتیوفتیریازیس یکی از شایع ترین و مهمترین بیماری‌های انگلی در صنعت آبزی پروری است. این بیماری شناخته شده معمولا توسط تک یاخته مژه‌داری موسوم به \ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس (*Ichthyophthirius multifiliis*) (بـه اختصار ایک) رخ می‌دهد که تاکنون سبب گسـترش تلفات ماهیان زینتی و خسـارات صنعت پرورش ماهیان خوراکی در دامنه وسـیعی شـده اسـت (۲،۲۶،۲۷). پیشتر نیز این انگل مژه‌دار سـبب تلفات جدی در سطح وسـیعی از ماهیان زینتی (۲۶) و صنعت پرورش ماهیان خوراکی (۲) شـده است. ایکتیوفتیریازیس پتانسیل نابـودی تمامی ماهیان یک مزرعه (تا ۱۰۰درصـد) حتی در بین مولدین و ماهیان بازاری را داراست (۳۵). چرخه زندگی انگل \ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس شـامل مراحل: تروفونـت (انگلی)، تومونـت (تولیدمثلی) و ترونت (عفونت زا) می‌باشـد. یکی از اهداف درمانی، شکسته شدن چرخه زندگی انگل بـا حذف یکی از مراحل انگلی می‌باشـد. از این جهت، از بین رفتن حسـاس‌ترین مرحله چرخه زندگی انـگل از درجه اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد (۲۷). دانشمندان اثبات کرده‌اند زمانی که ترونت‌ها در مرحله شنای آزادند، انگل در حسـاس ترین شرایط تکاملی خود قرار دارد، به طوری که که تروفونت‌های واقع در عمق اپیدرم می‌توانند خود را از خطر مواد شیمیایی افزوده شده پنهان سازند (۳۲). بنابراین شناسایی ترکیبات مؤثر ضد انگلی به منظور نابودی ترونت‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

سبزمالاشـیت یکی از مواد شناخته شده شیمیایی مؤثر بر درمان این بیماری می‌باشـد، اما به دلیل ویژگی‌های جهش زایی و سرطان زایی باید در مقدار مصرف آن تحت شرایط ایمنی بالا به دقت عمل شود تاحدی که استفاده از آن در صنعت پرورش ماهیان خوراکی در بیشتر کشورها ممنوع شده اسـت (۳۲). بعلاوه، فرمالین یکی از مهمترین و کاراترین درمان‌های معمول در کنترل آلودگی‌های \ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس در سیستم‌های آبزی‌پروری می‌باشد. با این حال، کارایی مؤثر و قابل توجه این ترکیب تنها در غلظت و تکرارهای زیاد حاصل می‌شود. بعلاوه، استفاده از فرمالین اثرات جانبی نامناسبی نظیر کاهش اکسیژن محلول در آب داشته (۳۴) و از سوی دیگـر تولید موکوس ماهی را به میـزان قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد (۱۱). از بین بردن عفونت \ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس در جمعیت ماهی با غلظت کمی از سـولفات مس در بررسی‌های گوناگون مشخص شده است (۱۹،۳۸،۴۱). با این حال، طولانی شدن زمان مواجهه می‌تواند زمینه را برای بروز مسومیت، آسیب به آبشش و توقف رشد فراهم سازد (۲۹). مقادیر زیاد کلرآمین-T نیز نه تنها سبب آسیب به اپی‌تلیای آبشش می‌شود، بلکه روند رشد کیسه شنا را در بچه‌ماهیان مختل می‌کند (۳۶). پراکساید هیدروژن نیز اکسـید کننده‌ای قوی بوده که از آن تحت شرایط پرورش (استخر ماهی) برای کنترل انگل ایک اسـتفاده می‌شود. بکارگیری مقادیر زیاد پراکساید هیدروژن می‌تواند به ویژه در درجه حرارت‌های بالاتر سبب آسیب به آبشش و نهایتا مرگ ماهیان می‌شود (۳۲).

با توجه به اینکه درمان‌های شـیمیایی مخاطرات سـلامت انسانی و محیط زیسـتی بسیاری دارند، به همین سبب شناسایی و بکارگیری انگل کش‌های جایگزین بر پایه موارد طبیعی امری ناگزیر می‌باشد. پژوهش‌های اخیر نمایانگر مطالعات دقیق و هدفمند بر پایه اثربخشی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات مؤثره آن‌ها بر ترونت‌های انگلی ایک بوده اسـت. نتایج بدست آمده از این تحقیقات دست‌مایه خوبی برای پیشرفت‌های روشن در رسیدن به دارودرمانی بیماری‌های باکتریایی و انگلی گشته است. بکارگیری تعدادی از مواد و ترکیبات طبیعی جدید و جایگزین مانند عصاره‌های گیاهی نظیر سیر، نتایج امیدوارکننده‌ای در سطح آزمایشگاهی در درمان این انگل نشان دادنـد (۱۲). محصولات طبیعی دیگر از قبیـل عصاره‌های خام برگ‌های باقلا سـبز مخملی و دانه‌های پاپایا نیز اثرات موفقیت‌آمیزی بر تومونت و تروفونت‌های انگل ایک تحت شرایط آزمایشگاهی داشته‌اند (۱۷). استفاده از عصاره گیاه وحشی *Macleaya cordata* نیز توانست به میزان بالایی سبب از بین بردن تومونت‌ها و نیز کاهش قابل توجهی در میزان تروفونت‌ها شد (۴۲).

فنل‌ها مجموعه‌ای از پلیمرهای محلول (تانن‌ها) و منومرها (اسیدهای فنلی و فلاوونوئیدها) در بسـیاری از عصاره‌های اسـتخراجی از بافت‌های گیاهی هسـتند. در این بین، تانن‌ها گـروه بزرگی از فنل‌های پلیمریک با وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ کیلودالتون می‌باشـند که می‌توانند با فلزاتی نظیر قلع و مس ایجاد رسوب می‌کند و ترکیب اسیدی موسوم به اسیدتانیک را تشـکیل دهند. این اسید فنولیک به عنوان یک افزودنی مجاز غذایی در طیف وسـیعی از مواد طبیعی نظیر دانه‌های قهوه، پوسـت انار، انگورها و چای وجود دارد (۱). اسـید تانیک (فرمول شیمیایی، $C_{76}H_{52}O_{46}$) یک تانن تجارتی است که از آن در صنایع مختلف استفاده می‌شود. بهترین ماده اولیه اسید تانیک خالص مازو است که در بعضی انواع بلوط وجود دارد. اسید تانیک بعنوان یک پلی فنول طبیعی آبکافت شـونده به طور گسترده‌ای در گیاهان مختلف نظیر چای سـبز، انگورها و بلوط یافت می‌گردد (۱۵). این اسـید آلی یکی از مهمترین گالوتانن‌ها با فعالیت ضد باکتریایی (همچون \اسـتافیلو کو کوس \ورئوس) و ضد انگلی محسوب می‌شـود (۳،۹،۲۰،۳۳). پیشـتر اثرات بازداری اسید تانیک بر بسیاری از باکتری‌های روده‌ای نظیر باکتریودیس فراجیلیس، کلستریدیوم پرفرجنس، \شرشیا کلای و \اتروباکتر کلوآسه نیز گزارش شده بود (۶،۱۳،۱۴،۱۶). اگرچه اثر این ترکیب شیمیایی بر روی انگل \ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس مورد بررسی قرار نگرفته است، اما اسـید تانیک به دلیل عملکردهای زیسـت دارویـی می‌تواند به عنوان ترکیبی ضد میکروبی (۳۷)، ضد اکسیدان (۷،۴۵)، ضد حساسیت (۲۱)، ضد دیابت، ضد سـرطانی و ضد التهابی (۱۴) مورد استفاده واقع شود. بنابراین، ایـن پژوهش با هدف تعیین اثرات ضد انگلی اسـید تانیک بر ترونت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

انگل Ichthyophthirius multifiliis تحت شرایط آزمایشگاهی طرح ریزی گردید.

مواد و روش کار

مواد شیمیایی: ترکیبات مورد استفاده شامل محلول فرمالین ۳۷درصد و اسیدتانیک ۹۹درصد به ترتیب از شرکت دکتر مجللی (ایران) و مرک (آلمان) خریداری گردید.

تهیه ماهی و افزایش جمعیت انگل: ماهیان سالم (ماهی پنگوسی، *Pangasianodon hypophthalmus* و گرین ترور، *Andinoacara rivulatus*) و آلوده (زبرا دانیو، *Danio rerio*) به انگل Ichthyophthirius multifiliis از یک مرکز معتبر فروش ماهیان آکواریومی در شهر تهران تهیه شد. پس از خریداری، بلافاصله ماهیان به آکواریوم‌های از پیش فراهم شده در آزمایشگاه دکتر مخیر در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال داده شد. جهت افزایش شمار انگل‌ها، عفونت تجربی با تک یاخته Ichthyophthirius multifiliis به روش مجاورسازی یا اضافه نمودن ماهیان به شدت آلوده با انگل به چند آکواریوم حاوی ماهی حساس به انگل انجام گرفت (۱۰،۱۲).

جداسازی انگل: بعد از طی چند روز، ابتدا از بدن ماهیان آلوده به دقت لام سراسری تهیه شد و همه محتویات داخل پتری دیش شستشو شدند. سپس با روش کشتار با ترحم کشته و در یک بشر کوچک حاوی آب مشابه با آب اکواریوم اولیه قرار داده شدند. با گذشت حدود ۱ h، تومونت‌های جدا شده از بدن ماهی به آرامی با شنای آزاد حرکت کرده و در کف بشر قرار گرفتند. سپس محتویات بشر به پتری دیش‌های مجزا انتقال داده شد. تومونت‌ها در نهایت با سمپلر و در زیراستریومیکروسکوپ (۴x) جدا شدند (۱۰،۱۲).

شرایط تهیه ترونت‌های انگل: پتری دیش‌های حاوی تومونت، در دمای ۲۳/۵ درجه سانتی گراد و زمان ۲۲ h گرمخانه گذاری (انکوباتور) شدند. ترونت‌های ریز با ویژگی شنای سریع در آب بعد از طی ۲۲ h قابل تشخیص بودند. تراکم ترونت‌ها به وسیله سانتریفیوژ (با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ min) به حد معین و ثابتی رسید. لازم به ذکر است که به منظور شمارش ترونت‌ها از لام توما یا نئوبار و لام شیشه‌ای استفاده شد (۱۰،۲۴،۳۸).

تهیه و آماده سازی غلظت‌های اسیدتانیک: با توجه به آزمایش‌های اولیه و مرور منابع، ۵ غلظت مختلف از اسید تانیک (۰/۷۵، ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۷ mg/l)، غلظت فرمالین (۱۵ mg/l ، کنترل مثبت) و همچنین یک گروه شاهد بدون اسید تانیک (حاوی آب اکواریوم) به قرار زیر تهیه شد. هفت تیمار مورد بررسی در این پژوهش به شرح زیر می‌باشند: تیمار ۱) شاهد، آب آکواریوم فاقد کلر و اسید تانیک، تیمار ۲) کنترل مثبت حاوی فرمالین با غلظت ۱۵ mg/l ، تیمار ۳) غلظت ۰/۷۵ mg/l اسید تانیک، تیمار ۴) غلظت ۱/۵ mg/l اسید تانیک، تیمار ۵) غلظت ۳ mg/l اسید تانیک، تیمار ۶) غلظت ۴/۵ mg/l اسید تانیک و تیمار ۷) غلظت ۷ mg/l اسید تانیک.

شرایط مواجه ترونت‌ها با غلظت‌های اسید تانیک: ابتدا، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ترونت (۶۰۰ ترونت) در چهار تکرار (چهار گوده) در پلیت‌های ۹۶ گوده ای مطابق تیمارهای هفت گانه فوق ریخته شد. سپس تیمار غلظت‌ها مطابق اعداد مشخص شده در بخش قبل و با حجم ۵۰ میکرولیتر اعمال گردید و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت محاسبه و گزارش شد (۱۱،۲۳).

محاسبه میزان بازماندگی و مرگ و میر ترونت‌ها: با اتمام زمان مواجهه ترونت‌ها، میزان تلفات آن‌ها با روش زیر تعیین گردید. به طور خلاصه، ۱۰ µl از محتویات هر چاهک زیر لامل و روی لام توما قرار داده شد. سپس تعداد ترونت‌های زنده در نه مربع بزرگ لام توما شمارش شده و ۱۰درصد به تعداد آن‌ها اضافه گردید تا تعداد ترونت زنده در میلی متر مکعب به دست آید (۱۲). تعیین مرگ ترونت‌ها بر اساس تغییر مورفولوژی ترونت‌های انگلی از تقریباً استوانه‌ای به حالت گردی-بیضی شکل که به واسطه لیز سلولی تعیین شد. با توجه به تراکم اولیه ۶۰۰ ترونت در ۱۰۰ ml ، نتایج بر پایه تعداد ترونت زنده در هر ۱۰۰ ml محاسبه شد.

بررسی آماری: کلیه آزمایشات در چهار تکرار انجام گرفت و نتایج به صورت میانگین± دامنه تغییرات گزارش شد. آنالیز واریانس یک طرفه گروه‌ها (تیمارها و شاهد) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ (شیکاگو، ایلینویز، امریکا) انجام گرفت. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه تفاوت در میانگین بین تیمارها استفاده شد. سپس مقایسه ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ صورت گرفت.

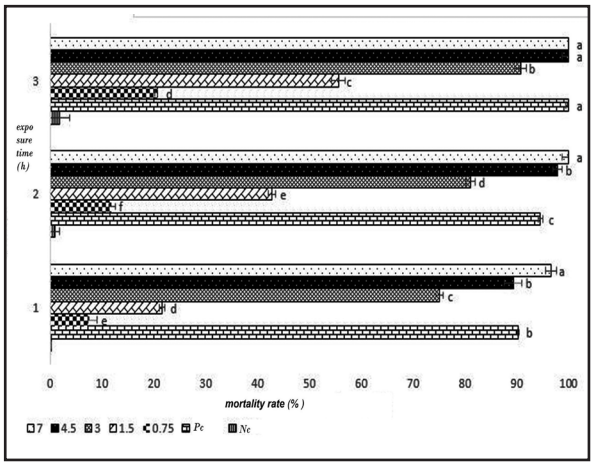
نتایج

تصویر ۱ نتایج حاصل از بررسی آزمایشگاهی اسید تانیک در غلظت‌های مختلف (۰/۷۵-۷ mg/l) در زمان‌های متفاوت آزمایش (۱، ۲ و ۳ h) بر میزان مرگ و میر ترونت‌های انگل Ichthyophthirius multifiliis را نشان می‌دهد. یافته‌های بدست آمده با نتایج حاصل از تیمارهای شاهد و کنترل مثبت (غلظت ۱۵ mg/l فرمالین) مورد مقایسه آماری قرار گرفت. افزایش در نرخ مرگ و میر ترونت‌های انگلی رابطه مستقیم و معنی‌داری با غلظت ترکیب و زمان مواجهه داشت. همان طوری که مشاهده می‌کنید، شمار مرگ و میر ترونت‌های انگلی با افزایش میزان غلظت اسید تانیک از ۰ تا ۷ mg/l به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). تصویر ۱همچنین آشکار می‌سازد که افزایش زمان مواجهه از ۱ تا ۳ h منجر به کاهش معنی‌دار ترونت‌های انگلی گردید ($P>0/05$).

بعلاوه در غلظت‌های بالاتر اسید تانیک در همه زمان‌های مواجهه، مرگ ومیر تقریباً کامل همه ترونت‌های انگلی (۸۰درصد<) به طور

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۱. درصد مرگ و میر ترونت‌های انگل \Dکتیوفتیریوس مولتی فیلیس تابعی از غلظت اسید تانیک (۰/۷۵-۷ mg/l) و زمان مواجهه (۱-۳ h). ۱۵ mg/l فرمالین و آب آکواریوم فاقد هر گونه اسید تانیک به ترتیب به عنوان تیمارهای کنترل مثبت و شاهد در نظر گرفته شد. حروف آماری متفاوت (a-g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵درصد می‌باشد.

معنی‌داری مشاهده شد (تصویر ۱). کوتاه ترین دوره زمانی برای از بین بردن ترونت‌ها تقریباً (۹۰درصد<) در غلظت‌های ۷ و ۴/۵ mg/l اسید تانیک، ۱ h بود، در حالی که طولانی ترین آن در غلظت ۳ mg/l اسید تانیک پس از سپری شدن ۱ h به وقوع پیوست ($P<0/05$). تیمار غلظت mg/l ۰/۷۵ اسید تانیک، قادر به کشتن ترونت‌ها (۲۵درصد <) در طی زمان ۳ h نبود. به طور کلی، تیمار کنترل حاوی ۱۵ mg/l فرمالین حتی در کمترین زمان مواجهه در نظر گرفته شده (۱ h) موفق به کاهش بیش از ۸۰ درصد ترونت‌های انگل \Dکتیوفتیریوس مولتی فیلیس گردید.

بحث

در این مطالعه، اثر اسید تانیک بر ترونت‌های انگلی \Dکتیوفتیریوس مولتی فیلیس تحت شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نرخ مرگ و میر و درصد زنده‌مانی ترونت‌های انگلی بعنوان شاخص‌های تعیین کننده میزان تأثیر انگل‌کش‌ها در طی دوره زمانی متفاوت برگزیده شده است (۲۴،۲۵،۴۳). زمان مواجهه برای کشتن تمام ترونت‌ها، دیگر شاخصی بود که برای ارزیابی پتانسیل انگل‌کش قبلا بکار گرفته شده است، بنابراین در این مطالعه هم در فواصل زمانی نمونه‌گیری بررسی گردید (۴۳). در این مطالعه، زمان کشندگی و نرخ مرگ و میر ترونت‌ها در طی ۳ h مواجهه، به منظور سنجش کارایی ضد انگلی اسید تانیک بر انگل \Dکتیوفتیریوس مولتی فیلیس بررسی شد. به طورکلی بیشتر ترونت‌ها (۹۵/۳درصد) می‌توانند تا ۴۸ h و حتی بیشتر زنده بمانند، و طی این مدت مترصد چسبیدن به ماهی میزبان می‌مانند، خصوصا به هنگامی که ماهیان تحت استرس تراکم هستند. حذف سریع و کامل ترونت‌ها می‌تواند از بروز عفونت در ماهیان میزبان جلوگیری کند. نتایج نشان داد که کمترین غلظت اسید تانیک که توانست در کمترین زمان، کشندگی ۱۰۰ درصدی را پدید آورد؛ تیمار غلظت ۷ mg/l و زمان ۱ h بود.

بررسی مطالعات نشان می‌دهد که ساختار شیمیایی ترکیبات احتمالاً نقش اصلی را در فعالیت ضد انگلی دارند. نتایج بررسی‌هایی که در سال‌های اخیر انجام شده‌اند، خواص سمیت سلولی و همچنین فعالیت ضد میکروبی ترکیبات با گروه‌های هیدروکسیل فنلیک یا ایزوپنتان را پیوسته گزارش کرده‌اند (۴). محققان دلیل این امر را توانایی آن‌ها در نفوذ آسان و راحت در غشای سلولی دانسته‌اند، که نهایتا منجر به پاره شدن، نشت محتویات سلول به بیرون و مرگ سلول می‌شود (۳۱،۳۹،۴۴). اسید تانیک تعداد زیادی گروه هیدروکسیل فنلی داشته که این مورد شاید دلیل آسیب به غشای سلولی ایکتیوفتیریوس مولتی فیلئیس باشد که در ادامه منجر به مرگ سلولی می‌شود. کارایی ضدانگلی اسید تانیک بر ترونت‌های انگل \Dکتیوفتیریوس مولتی فیلیس به نسبت خیلی از ترکیبات طبیعی و شیمیایی مطالعات قبلی بهتر بود. به عنوان مثال، مدت زمان کشتن همه ترونت‌ها در مقایسه با اثر عصاره‌های گیاهی Magnolia officinalis و Sophora alopecuroides که ۳ تا ۴ h و در غلظت ۱۰ mg/l طول کشید؛ کمتر بود (۴۳). زمان مواجهه مؤثر اسید تانیک برای کشتن همه ترونت‌ها، به میزان بسیار زیادی نسبت به عصاره سیر که حدود ۱۵ h (در غلظت ۶۲/۵ میلی گرم بر لیتر) طول کشیده بود؛ کمتر بود (۱۲). همچنین این میزان کشندگی در مقایسه با غلظت بهینه پتاسیم فرات (۲۴ میلی گرم بر لیتر) و سدیم پرکربنات (۱۲/۵ mg/l) که به ترتیب در زمان ۶۰ و ۱۸۰ min طول کشیده بود، کمتر بود (۲۴،۳۸). از این رو می‌توان گفت که اسید تانیک توانست به طور مؤثری ترونت‌های شناور در آب را از بین ببرد. نرخ مرگ و میر ۱۰۰ درصدی ترونت‌ها بوسیله درمان با پنتاگالویل گلوکوز استخراج شده از *Galla chinensis* در غلظت ۲/۵ mg/l (۴۶) و سینامالدهید از *Cinnamomum cassia* در غلظت ۸ mg/l (۲۲) در طی ۴ h گزارش شد. لیانگ و همکاران (۲۳،۲۲) با استفاده از عصاره حاصل از ریشه Morusalba توانست ۱۰۰ درصد ترونت‌های انگلی را در قالب تیماری با غلظت ۲ mg/l و زمان مواجهه ۳۰ min از بین ببرد. بعلاوه، ترکیب تخلیص شده از *Psoralea corylifolia* توانست همه ترونت‌ها را در غلظت ۱/۶ mg/l در طی زمان ۴ h از بین برد (۴۰).

تأثیر مونومرهای حاصل از تانن‌های کندانس شده گیاهی (پرودلفنیدین و پروسیانیدنین) بر دو گونه انگلی *Haemonchus contortus* و *Trichostrongylus colubriformis* مورد بررسی قرار گرفت (۸). نتایج نشان داد که مونومرهای پرودلفنیدین در مقایسه با انواع پروسیانیدنین خاصیت ضد انگلی بیشتری داشت. مشتقات گالویل بهترین خاصیت بازداری انگلی را از خود نشان داد. محققان اشاره کردند که تعداد گروه‌های هیدروکسیل مونومرهای تاننی نقش کلیدی در برهم کنش‌های غیرفعال سازی لاروهای انگلی دارد. بعلاوه، بسته به نوع گونه، حساسیت انگلی متفاوت می‌باشد که این موضوع می‌تواند در ارتباط با ترکیب پروتئینی

www.SID.ir

Archive of SID

غلاف‌های آن‌ها می‌باشد (۸). اثر مونومرهای حاصل از تانن‌های کندانسه شده بر دو مدل انگلی مهم یعنی *Teladorsagia circumcincta* و *H. contortus* نیز بررسی گردید. نتایج حاکی از وجود یک رابطه منطقی بین دوز/غلظت مونومرهای تاننی و نیز ساختار با درصد بازداری انگلی بود. مقایسه اثرات مونومرهای پرودلفنیدینی و پرو آنتوسیانیدینی و نیز مشتقات تاننی بر پایه گالویل نیز نشان داد که مونومرهای پرو آنتوسیانیدینی از پتانسیل کمتری به منظور کاهش لاروهای انگلی برخوردار بوده است (۹). اثرات تانن‌های کندانس شده استخراجی از گونه‌های مختلف گیاهی را روی میزان تفریخ و توسعه لاروی *T. circumcincta* مورد بررسی قرار دادند (۲۹). انکوباسیون لاروهای انگلی با ۲۰۰ µg تانن‌های کندانس شده از گیاهان مورد آزمایش منجر ۴ تا ۱۵درصد در توسعه لاروی شد. این در حالی بود که تنها ۱درصد توسعه لاروی با استفاده از ۴۰۰ µg از این تانن‌ها اتفاق افتاد. از طرف دیگر استفاده از عصاره‌های گیاهی حاوی تانن‌های کندانس شده سبب مرگ لاروهای توسعه نیافته گردید، به طوری که این میزان نرخ مرگ مابین ۴۸ تا ۹۳درصد برای انواع مختلف گیاهی بین مرحله اول و دوم لاروی در نوسان بود. به طور کلی آن‌ها نتیجه گرفتند که تانن‌های کندانس شده گیاهی سبب نابودی سیکل زندگی انگلی می‌شوند (۲۹).

اثر یک گیاه گرمسیری غنی از تانن با نام *Lysiloma latisiliquum* بر جمعیت انگل‌های بالغ نیز مورد ارزیابی واقع شد. نتایج این محققان آشکار نمود که استفاده از این گیاه طی یک دوره زمانی کوتاه به واسطه حضور محتوای بالای اسید تانیک می‌تواند به طور مستقیم بر بیولوژی *H. contortus* بالغ (اندازه کرم‌های انگلی و باروری انواع ماده) اثر گذارد (۲۸). اثرات مستقیم و غیرمستقیم لگوم‌های غنی از تانن کشت شده در مناطق معتدل و گرمسیری بر تعدادی از انگل‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۲۰). پژوهشگران بیان داشتند که ماهیت برهم کنش‌های مابین پروتئین‌های انگلی و پلی فنول‌ها به ویژه تانن‌ها نقش ویژه‌ای در کاهش شمار انگلی خواهد داشت. بعلاوه، آن‌ها خاطر نشان کردند که کاهش جمعیت انگلی بسته به نوع گونه‌های انگلی، غلظت تانن‌ها، نوع و ماهیت تانن مورد استفاده و نیز مرحله لارو انگلی دارد (۲۰). بررسی خصوصیات ضد انگلی عصاره دو گیاه بومی مناطق جنوبی آفریقای جنوبی حاوی مقادیر بالای ترکیبات فلاوونوئیدی و تانن‌ها (*Newbouldia laevis* و *Zanthoxylum zanthoxyloïdes*) در سطوح سه گانه بر *H. contortus* و *T. colubriformis* نیز آشکار نمود که نوع گیاه و انگل مورد استفاده اثرات معنی‌داری بر میزان بازداری از رشد انگلی داشتند. یک رابطه خطی میان شمار انگل‌های مورد اشاره و دوز/غلظت *N. laevis* وجود داشت در حالی که این رابطه برای عصاره‌های گیاهی *Z. zanthoxyloïdes* مصداق نداشت (۵). اخیرا اثرات ضد انگلی عصاره‌های استون/آبی و تانن‌های خالص شده گیاه اسپرس (*Onobrychis viciifolia*) بر علیه لاروهای *Cooperia oncophora* و *Ostertagia ostertagi* تحت شرایط آزمایشگاهی مطالعه شد (۳۳). نتایج نشان داد که همه عصاره‌های اسپرس سبب بازداری معنی‌داری در مرحله لاروی نخست در مقایسه کنترل شد. درصد مونومر پرودلفنیدین و اندازه پلیمر تانن کندانس شده استخراجی از این گیاه نقش مهمی در کاهش جمعیت لاروهای انگلی داشت. فکور و مشگی (۱۸) تأثیر ضد کرمی عصاره گیاه بلوط بومی استان کردستان (*Quercus robur*) علیه نماتودهای گوارشی گوسفند ارزیابی کردند. نتایج این تحقیق آشکار کرد که عصاره حاصل از میوه گیاه بلوط احتمالاً بواسطه محتوای بالای ترکیبات تاننی و نیز بواسطه فراهمی تولید اسید تانیک در محیط عصاره آبی از کارایی بالایی جهت درمان آلودگی‌های کرمی در مجرای گوارشی گوسفند برخوردار بود. لذا این محققین استفاده از عصاره بلوط سرشار از تانن و اسید تانیک را بعنوان داروی زیست فعال طبیعی برای برخی عوارض احتمالی در نشخوارکنندگان پیشنهاد کردند.

نتیجه گیری: از آنجایی که استفاده از ترکیبات شیمیایی مالاشیت گرین و فرمالین در درمان ماهیان خوراکی مبتلا به ایکتیوفتیریازیس به دلیل سرطان زایی ممنوع شده است، بنابراین مطالعات گسترده‌ای جهت معرفی روش‌های جایگزین ایمن و مؤثر جهت کنترل این بیماری پیشنهاد شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت اسید تانیک و نیز زمان مواجهه ترونت‌های انگلی با این ترکیب در محدوده مورد بررسی، ویژگی‌های ضد انگلی به میزان معنی‌داری مشاهده گردید، به طوری که بیشترین اثر ضد ترونتی (کاهش ۱۰۰ درصدی) در ۷ mg/l و زمان مواجهه ۱ h فراهم شد. از آنجایی حذف کامل ترونت‌های انگلی در زمان‌های مواجه کمتر و غلظت‌های اسید تانیک پایین تر نیز یافت شد، لذا پیشنهاد می‌شود تا با بکارگیری روش‌های بهینه سازی نسبت به تعیین شرایط ایده آل برای حذف کامل ترونت‌ها اقدام نمود. نتایج کلی حاکی از قدرت کشندگی بالای اسید تانیک در از بین بردن ترونت‌ها بود. البته بررسی آزمایش‌های تکمیلی سمیت در سطوح کشندگی و زیرکشندگی در ماهی‌ها شرط لازم و پیش‌نیاز آن برای طراحی و ساخت داروهای ترکیبی قابل اعتماد جهت کنترل ایکتیوفتیریازیس در صنعت آبزی پروری است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از آقای مهندس احمدپور و همچنین مهندس رستمی، کارشناسان آزمایشگاه گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند. همچنین از جناب آقای مهندس سیدجواد غلامی سیدکلایی، سیدکاظم غلامی سیدکلایی و همچنین خانم مهندس فیروزه علی نژاد که در رفع پاره‌ای از نواقص و فراهمی نمونه‌ها مساعدت شایان نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Abdollahzadeh, S., Mashouf, R.Y., Mortazavi, H., Moghaddam, M.H., Roozbahani, N., Vahedi, M. (2011). Antibacterial and antifungal activities of Punica granatum peel extracts against oral pathogens. J Dentist, Tehran Univ Med Sci, 8, 1-6. PMID: 21998800
2. Aguilar, A., Alvarez, M., Leiro, J., Sanmartin, M. (2005). Parasite populations of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) in the rivers Ulla and tea (Galicia, northwest Spain). Aquaculture, 249, 85-94. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.052
3. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother, 48, 487-491. https://doi.org/10.1093/jac/48.4.487
4. Alavinia, S.J., Mirzargar, S.S., Rahmati-Holasoo, H., Mousavi, H.E. (2018). The in vitro and in vivo effect of tannic acid on *Ichthyophthirius multifiliis* in zebrafish (*Danio rerio*) to treat ichthyophthiriasis. J Fish Dis, 41(12), pp.1793-1802. https://doi.org/10.1111/jfd.12886
5. Azando, E.V.B., Hounzangbé-Adoté, M.S., Olounladé, P.A., Brunet, S., Fabre, N., Valentin, A., Hoste, H. (2011). Involvement of tannins and flavonoids in the in vitro effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. Vet Parasitol, 180: 292-297. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.010
6. Bag, A., Bhattacharyya, S.K., Chattopadhyay, R.R. (2013). Isolation and identification of a gallotannin 1, 2, 6-tri-O-galloyl-β-d-glucopyranose from hydroalcoholic extract of *Terminalia chebula* fruits effective against multidrug-resistant uropathogens. J Appl Microbiol, 115, 390-397. https://doi.org/10.1111/jam.12256
7. Bouki, E., Dimitriadis, V.K., Kaloyianni, M., Dailianis, S. (2013). Antioxidant and pro-oxidant challenge of tannic acid in mussel hemocytes exposed to cadmium. Mar Environ Res, 85, 13-20. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.005
8. Brunet, S., Hoste, H. (2006). Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. J Agric Food Chem, 54, 7481-7487. https://doi.org/10.1021/jf0610007
9. Brunet, S., Jackson, F., Hoste, H. (2008). Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract and monomers of condensed tannins on the association of abomasal nematode larvae with fundic explants. Int J Parasitol, 38, 783-790. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.10.018
10. 10. Buchmann, K. Sigh, J., Nielsen, C.V., Dalguard, M. (2001). Host responses against the fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. Vet Parasitol, 100, 105-116. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00487-3
11. Buchmann, K., Bresciani, J., Jappe, C. (2004). Effects of formalin treatment on epithelial structure and mucous cell densities in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), skin. J Fish Dis, 27, 99-104. https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2003.00519.x
12. Buchmann, K., Jensen, P., Kruse, K. (2003). Effects of sodium percarbonate and garlic extract on *Ichthyophthirius multifiliis* theronts and tomocysts: in vitro experiments. North Am J Aquacult, 65, 21-24. https://doi.org/10.1577/1548-8454(2003)065<0021:EOSPAG>2.0.CO;2
13. Chung, K.T., Stevens, S.E., Lin, W.F., Wei, C.I. (1993). Growth inhibition of selected food borne bacteria by tannic acid, propyl gallate and related compounds. Lett Appl Microbiol, 17, 29-32. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1993.tb01428.x
14. Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W., Lin, Y. (1998). Tannins human health: a review. Crit Rev Food Sci Nutr, 38, 421-464. https://doi.org/10.1080/10408699891274273
15. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. (2009) Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Prod Rep, 26, 1001-1043. https://doi.org/10.1039/B802662A
16. Ekambaram, S.P., Perumal, S.S., Balakrishnan, A. (2016). Scope of hydrolysable tannins as possible antimicrobial agent. Phytother Res, 30,

www.SID.ir

Archive of SID

1035-1045. https://doi.org/10.1002/ptr.5616
17. Ekanem, A., Obiekezie, A., Kloas, W., Knopf, K. (2004). Effects of crude extracts of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. Parasitol Res, 92, 361-366. https://doi.org/10.1007/s00436-003-1038-8
18. Fakour, Sh., Meshgi, B. (2016). Evaluation of the anthelminitic effects of *Quercus robur* extract against ovine gastrointestinal nematodes. J Vet Res, 71, 389-394. https://doi.org/10.22059/JVR.2016.59994
19. Goodwin, A.E., Straus, D.L. (2006). Solid and liquid formulations of copper sulfate: efficacy at high and low alkalinities. North Am J Aquacult, 68, 359-363. https://doi.org/10.1577/A06-001.1
20. Hoste, H., Martinez-Ortiz-De-Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquauxd, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. (2012). Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. Vet Parasitol, 186, 18-27. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.042
21. Kim, Y.H., Yoshimoto, M., Nakayama, K., Tanino, S., Fujimura, Y., Yamada, K., Tachibana, H. (2013). Tannic acid a higher galloylated pentagalloylglucose, suppresses antigen-specific IgE production by inhibiting germline transcription induced by STAT6 activation. FEBS Open Bio, 3, 341-345. https://doi.org/10.1016/j.fob.2013.07.008
22. Liang, J.H., Fu, Y.W., Zhang, Q.Z., Xu, D.H., Wang, B., Lin, D.J. (2015). Identification and effect of two flavonoids from root bark of Morus alba against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. J Agric Food Chem, 63, 1452-1459. https://doi.org/10.1021/jf505544e
23. Liang, J.H., Zhang, Q.Z., Fu, Y.W., Wang, B. (2014). Effect of cinnamaldehyde from Cinnamomum cassia on killing *Ichthyophthirius multifiliis* in vitro. J Fish China, 38, 457-463. https://doi.org/ 10.3724/SP.J.1231.2014.48888
24. Ling, F., Wang, J.G., Liu, Q.F., Li, M., Ye, L.T., Gong, X.N. (2010). Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in goldfish (*Carassius auratus*) by potassium ferrate (VI) treatment. Vet Parasitol, 168, 212-216. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.009
25. Ling, F., Wang, J.G., Lu, C., Wang, G.X., Lui, Y.H., Gong, X.N. (2012). Effects of aqueous extract of *Capsicum frutescens* (Solanaceae) against the fish ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*. Parasitol Res, 111, 841-848. https://doi.org/10.1007/s00436-012-2907-9
26. Ling, K., Sin, Y., Lam, T. (1991). A new approach to controlling ichthyophthiriasis in a closed culture system of freshwater ornamental fish. J Fish Dis, 14, 595-598. https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00616.x
27. Maceda-Veiga, A., Salvadó, H., Vinyoles, D., De Sostoa, A. (2009). Outbreaks of *Ichthyophthirius multifiliis* in Redtail Barbs Barbus haasi in a Mediterranean stream during drought. J Aquat Animal Health, 21, 189-194. https://doi.org/10.1577/H08-054.1
28. Martínez-Ortíz-de-Montellano, C., Vargas-Magañad, J. J., Canul-Ku, H.L., Miranda-Soberanis, R., Capetillo-Leal, C., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J. (2010). Effect of a tropical tannin-rich plant Lysiloma latisiliquum on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. Vet Parasitol, 172, 283-290. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.040
29. Molan, A.L., Faraj, A.M. (2010). The effects of condensed tannins extracted from different plant species on egg hatching and larval development of *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae). Folia Parasitol, 57, 62-68. https://doi.org/10.14411/fp.2010.008
30. Moore, J.M. (2005). Comparison of copper toxicity to channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and blue catfish, *I. furcatus*, fingerlings. J Appl Aquacult, 17, 77-84. https://doi.org/10.1300/J028v17n01_06
31. Mun, S.H., Joung, D.K., Kim, S.B., Park, S.J., Seo, Y.S., Gong, R., Choi, J.G., Shin, D.W., Rho, J.R., Kang, O.H., Kwon, D.Y. (2014). The mechanism of antimicrobial activity of sophoraflavanone B against methicillin-479 resistant Staphy-

www.SID.ir

Archive of SID

lococcus aureus. Foodborne Pathogen Dis, 11, 234-239. https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1627

32. Noga, E.J. (2011) Fish Disease: Diagnosis and Treatment. John Wiley & Sons. New York, USA.
33. Novobilský, A., Stringano, E., Hayot Carbonero, C., Smith, L.M.J., Enemark, H.L., Mueller-Harvey, I., Thamsborg, S.M. (2013) In vitro effects of extracts and purified tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against two cattle nematodes. Vet Parasitol, 196, 532-537. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.024
34. Pillay, T. V. R., Kutty, M. N. (2005). Aquaculture: Principles and Practices. Blackwell Publishing Ltd.Oxford, UK.
35. Rintamäki-Kinnunen, P., Valtonen, E.T. (1997) Epizootiology of protozoans in farmed salmonids at northern latitudes. Int J Parasitol, 27, 89-99. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)00162-2
36. Sanabria, C., Diamant, A., Zilberg, D. (2009) Effects of commonly used disinfectants and temperature on swim bladder non-inflation in freshwater angelfish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein). Aquaculture, 292, 158-165. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.015
37. Scarbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875-3883. https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L
38. Schlenk, D., Gollon, J.L., Griffin, B.R. (1998) Efficacy of copper sulfate for the treatment of ichthyophthiriasis in channel catfish. J Aquat Anim Health, 10, 390-396. https://doi.org/10.1577/1548-8667(1998)010<0390:EOCSFT>2.0.CO;2
39. Sohn, H.Y., Son, K.H., Kwon, C.S., Kwon, G.S., Kang, S.S. (2004) Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent Sophora flavescens Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. Phytomedicine, 11, 666-672. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.09.005
40. Song, K.G., Ling, F., Huang, A.G., Dong, W.J., Liu, G.L., Jiang, C., Zhang, Q.Z., Wang, G.X. (2015) In vitro and in vivo assessment of the effect of antiprotozoalcompounds isolated from Psoralea corylifolia against *Ichthyophthirius multifiliis*in fish. Int J Parasitol: Drug Drug Resist, 5, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.04.001
41. Straus, D.L. (2008) Comparison of copper sulfate concentrations to control ichthyophthiriasis in fingerling channel catfish. J Appl Aquacult, 20, 272-284. https://doi.org/10.1080/10454430802498245
42. Yao, J.Y., Zhou, Z.M., Li, X.L., Yin, W.L., Ru, H.S., Pan, X.Y., Hao, G.J., Xu, Y., Shen, J.Y. (2011) Antiparasitic efficacy of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine from *Macleaya microcarpa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in richadsin (*Squaliobarbus curriculus*). Vet Parasitol, 183, 8-13. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.021
43. Yi, Y.L., Lu, C., Hu, X.G., Ling, F., Wang, G.X. (2012) Antiprotozoal activity of medicinal plants against *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish (*Carassius auratus*). Parasitol Res, 111, 1771-1778. https://doi.org/10.1007/s00436-012-3022-7
44. Yin, S., Fan, C.Q., Wang, Y., Dong, L., Yue, J.M. (2004) Antibacterial prenylflavone derivatives from *Psoralea corylifolia*, and their structure-activity relationship study. Bioorg Med Chem, 12, 4387-4392. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.06.014
45. Yugarani, T., Tan, B. K. H., Das, N. P. (1993). The effects of tannic acid on serum and liver lipids of RAIF and RICO rats fed on high-fat diet. Comp Biochem Physiol, 104A, 339-343. https://doi.org/10.1016/0300-9629(93)90326-Y
46. Zhang, Q., Xu, D. H., Klesius, P. H. (2013). Evaluation of an antiparasitic compound extracted from Gallachinensis against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. Vet Parasitol, 198, 45-53. https://doi.org/ 10.1016/j.vetpar.2013.08.019

www.SID.ir

In vitro Investigation of Short-Term Antiparasitic Effect of Tannic Acid on *Ichthyophthirius multifiliis* Theronts

Seyed Jalil Alavinia, Seyed Saeed Mirzargar, Homan Rahmati-Holasoo, Hoseinali Ebrahimzadeh Mousavi

Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
(Received 26 November 2018, Accepted 28 January 2019)

Abstract:

BACKGROUND: Ichthyophthiriasis induced by a freshwater teleost pathogen "*Ichthyophthirius multifiliis*" is one of the most important parasitic diseases with substantial economic losses to the aquaculture industry. Although malachite green, copper sulphate, formalin, and chloramine-T have been used to treat ichthyophthiriasis, there are no chemicals that can be used safely and effectively to control this parasitic disease. As a result, application of natural, safe and strong components to prevent ichthyophthiriasis is of great importance.

OBJECTIVE: The aim of the present research is to determine the short-term effectiveness of tannic acid (TA) on the parasite theronts of *I. multifiliis*.

METHODS: In this study, TA as a main phenolic acid at different concentrations (0.0-7.0 mg/L) was applied to determine its acute toxicity against *I. multifiliis* theronts in various exposure times (1-3 h). The results were also statistically compared to the findings obtained from the control treatment and the positive control sample (15mg/L formalin).

RESULTS: There was a significant and direct correlation between TA concentration and exposure time in order to enhance the mortality rate of *I. multifiliis* theronts. An increase in levels of TA and exposure time in the studied ranges can significantly intensify the mortality number (P<0.05). The used natural phenolic constituent similar to 15 mg/L formalin led to a significant reduction in number of these theronts (> 80%) at 60 min.

CONCLUSIONS: Use of a standard phenolic agent such as TA at higher concentration and longer exposure time can potentially decrease the number of *I. multifiliis* theronts and control ichthyophthiriasis.

Keyword:

Phenolic compounds, Anti, Mortality rate, Antiparasitic efficacy, Acute toxicity, White spot disease

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Effect of Tannic Acid (TA) concentrations (0.75, 1.5, 5, 7 ppm), formalin (Positive control, 15 ppm) and Negative control, Nc, (lack of TA) on the mortality rate (%) of *Ichthyophthirius multifiliis* theronts under in vitro experiment conditions (1, 2, 3 h). Values (mean ± SD, n = 4) in each concentration followed by different letters are significantly different (P< 0.05).

***Corresponding author's email: zargaram@ut.ac.ir, Tel: 021-61117000, Fax: 021-66933222**

www.SID.ir