"مقاله پژوهشی"

ارزیابی اثر ضد قارچی و مقایسه مقاومت ساپرولگنیا جداسازی شده از تخم ماهیان قره‌برون و قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر محلول هوآ سان تی آر۵۰ (Huwa- San TR- 50) در شرایط آزمایشگاهی

مریم قیاسی*[۱]، ابوالفضل سپهداری[۲]، رضا صفری[۱]، محمد بینایی[۱]، فرشیده حبیبی[۱]

۱. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
۲ .موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۴

چکیده

جنس ساپرولگنیا و گونه‌های آن به عنوان یکی از مهمترین عوامل قارچی مسبب تلفات تخم در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان در آب شیرین در سراسر دنیا شناخته شده است. هرچند مالاشیت گرین اثر ضد قارچی خوبی در کنترل تلفات تخم ناشی از ساپرولگنیازیس در هچری‌ها دارد ولی به دلیل اثرات سرطانزایی و سمی مصرف آن منع گردیده است. مطالعات مختلفی تاکنون در خصوص معرفی ترکیبات مناسبی که بتوانند در سطح مزرعه جایگزین مالاشیت گرین گردند، انجام شده است. هدف از این تحقیق ارزیابی اثرات ضد قارچی محلول هوآسان تی آر-۵۰ در شرایط آزمایشگاهی براساس میزان MIC (Minimum Inhibitory Concentaration) آن در مقایسه با مالاشیت گرین بر نمونه ساپرولگنیا جداسازی شده از هچری ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان و قره‌برون بود. برای انجام آزمایشات MIC از دوزهای ppm ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۱۴۰۰، ۱۶۰۰ و ۱۸۰۰ استفاده شد. نتایج میزان MIC برای ساپرولگنیا جداسازی شده از هچری ماهی قره‌برون ppm۱۴۰۰ و برای نمونه قزل‌آلای رنگین‌کمان ppm ۸۰۰ تعیین گردید. این نشان داد که نمونه ساپرولگنیا جدا شده از هچری ماهیان قره‌برون در برابر این دارو مقاومت بیشتری در مقایسه با نمونه جداسازی شده از هچری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته است. بر این اساس به نظر می‌رسد هوآسان تی آر-۵۰ بتواند جایگزین مالاشیت گرین در کنترل قارچ زدگی در هچری ماهیان شود، ولی توفیق در کنترل قارچ زدگی به میزان مقاومت گونه‌های ساپرولگنیا در برابر این ترکیب دارویی دارد.

کلمات کلیدی: ساپرولگنیا، هوآسان، قزل‌آلای رنگین‌کمان، قره برون، هچری

* عهده‌دار مکاتبات (✉). ghiasimaryam4@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

مقدمه

ساپرولگنیاها متعلق به رده اوومیست‌ها، گروهی از ارگانیسم‌های هتروتروف هستند که بصورت ساپروفیت و یا انگل در طیف وسیعی از میزبان‌ها در طبیعت زندگی می‌کنند(Robertson *et al.*, 2009; Phillips *et al.*, 2008). مهم‌ترین گونه‌های این جنس که در آبزیان بیماری‌زا شناخته شده‌اند شامل ساپرولگنیا دیکلینا[۱]، ساپرولگنیا فراکس[۲]، ساپرولگنیا استرالیس[۳]، ساپرولگنیا مونوایکا[۴] و ساپرولگنیا پارازیتیکا[۵] هستند(Molina *et al.*, 1995; Hussein *et al.*, 2001; Stueland *et al.*, 2005; Dieguez-Uribeondo *et al.*, 2007; Fernandez-Beneitez *et al.*, 2008; Petrisko *et al.*, 2008; Phillips *et al.*, 2008; Ke *et al.*, 2009; Ghiasi *et al.*, 2010). بطور کلی ساپرولگنیا مونوایکا، مسئول تلفات در هچری ماهیان خاویاری (Phillips *et al.*, 2008) و ساپرولگنیا پارازیتیکا و ساپرولگنیا دیکلینا پاتوژن اصلی مسبب ساپرولگنیازیس در اکثر گونه‌های مختلف ماهیان شناخته شده‌اند(Phillips *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2009; Thoen *et al.*, 2011). تخمین زده می‌شود که این بیماری سبب از بین رفتن یک تخم به ازا هر ۱۰ عدد تخم در هچری ماهیان سردآبی می‌گردد (Hussein & Hatai, 2002). مطالعات Earle و Hintz (۲۰۱۴) نشان داد که ساپرولگنیازیس عامل مرگ و میر ۱۰٪ از تمام لاروهای هچ شده آزاد ماهیان در دنیا است و این امر موجب میشود که تقریبا ۳۰٪ از تولید جهانی ماهی برای مصرف از بین برود. در هچری-ها، ساپرولگنیا از تخم‌های مرده به عنوان محل رشد و تکثیر استفاده کرده و با ایجاد حجم فراوانی از زئواسپورها عفونت را در سطح هچری منتشر می‌کند. در شرایط عادی قارچ قادر به آلوده ساختن تخم زنده نیست ولی محققین معتقدند که ساپرولگنیا با تولید حجم زیادی از میسلیوم در اطراف تخم زنده سبب کاهش دسترسی آن به اکسیژن شده و بدین ترتیب با ایجاد خفگی در تخم زمینه مرگ آنها را فراهم می‌کنند (Espeland & Hansen, 2004). البته بعضی محققین عقیده دارند که نفوذ هایف قارچ به دیواره کوریونیک[۶] سلول تخم تنظیم اسمزی تخم و جنین موجود در آن را به هم زده و در نهایت سبب مرگ تخم می‌شود (Beakes *et al.*, 1994). اولین گزارش در خصوص مصرف مالاشیت گرین در صنعت آبزی پروری در سال ۱۹۳۶ گزارش شد که نشان داد از این ماده به روش حمام و غوطه‌وری برای درمان قارچ زدگی در تخم و ماهی استفاده شده است (Clup and Beland, 1996). چگونگی مکانیسم عملکرد مالاشیت گرین در قارچ کشی چندان روشن نیست ولی عنوان شده که این ماده با مهار آنزیم‌های تنفسی(گروه سیتوکروم اکسیداز) سبب آسیب به سیستم نقل و انتقال انرژی سلولهای قارچی شده و با ممانعت از فعالیت متابولیسمی، در نهایت سبب مرگ سلولهای قارچی می‌شود (Espeland & Hansen, 2004). شاید به دلیل مکانیسم اثر موثر و نیز ارزان بودن آن، مالاشیت گرین به عنوان یک ترکیب شیمیایی بی‌نظیر در کنترل ساپرولگنیازیس در دنیا شناخته شده است (Ali *et al.*, 2015). مطالعات بعدی نشان داد که این ماده در بدن ماهی به لکومالاشیت تبدیل می‌شود (Alderman and Clifton-Hadley, 1993) که اثرات مخربی بر سیستم ایمنی و تولید مثل داشته و مصرف آن عوارض ژنتیکی و سرطان را به همراه دارد و ضروری است تا ترکیبات

[۱] - Saprolegnia diclina
[۲] - S. ferax
[۳] - S. australis
[۴] - S. monoica
[۵] - S. parasitica
[۶] - chorionic membrane

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

کم خطر جایگزین آن شوند (Fernandes *et al.*, 1991; Rao, 1995; Gouranchat, 2000). هواسان یک ماده ضد عفونی کننده برپایه پراکسید هیدروژن است که یک لیتر آن حاوی ۵۷۰ گرم پراکسید هیدروژن و ۰/۳۶ گرم نقره کلوئیدی است که وجود آن سبب افزایش پایداری و افزایش طول عمر و قدرت ضدعفونی کنندگی پراکسید هیدروژن می‌شود. این ترکیب به بار منفی دیواره و غشا خارجی ارگانیسم‌های پروکاریوت و یوکاریوت به راحتی جذب شده و کمپلکس نقره به مولکول‌های آلی دیواره متصل می‌گردد. در چنین وضعیتی یونهای نقره به عنوان یک کاتالیزور در جهت اکسیداسیون مولکول‌های دیواره سلولی توسط پراکسید هیدروژن عمل کرده و رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده سیستم آبشاری از پراکسیداسیون چربی موجود در دیواره سلولی را آغاز می‌کنند. طی واکنش، پراکسید هیدروژن تجزیه شده (آب، اکسیژن و رادیکال آزاد) ولی مولکول نقره طی واکنش‌های مختلف اکسیداسیون – احیا، فعال باقی مانده و به عنوان یک کاتالیزور عمل می‌کند. این ترکیب در دامنه وسیعی از pH فعال بوده و فاقد بو و رنگ است. کاملا محلول در آب و تا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد فعال و در محیط‌های با سطح آلودگی پایین قابلیت پایداری و ضد عفونی کنندگی بیشتری دارد. این ماده مناسب برای کشتن انواع ویروس، باکتری، قارچ، اسپور، آلگ و آمیب‌ها است (Elfeky *et al.*, 2020). منظور از MIC[۱]، یعنی حداقل غلظت یا دوزی از یک ماده ضدعفونی کننده که بتواند مانع رشد قارچ بشود. این آزمایش روش مناسبی برای تعیین اثر بخشی یک ماده بر رشد قارچ و نیز تعیین مقاومت قارچ در برابر ماده مورد نظراست (Liu *et al.*, 2015). هدف از این بررسی ارزیابی اثرات ضد قارچی هوآسان تی آر-۵۰ و نیز تعیین مقاومت نمونه ساپرولگنیا جداسازی شده از هچری ماهیان قره برون و قزل آلای رنگین کمان براساس آزمایش MIC در مواجهه با هوآسان تی آر-۵۰ است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری، جداسازی و خالص سازی قارچ ساپرولگنیا

برای جداسازی نمونه قارچ از هچری یک مرکز تکثیر قزل آلا در منطقه دو هزار(تنکابن) و هچری ماهیان قره برون در مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی(ساری) نمونه برداری گردید. تخم-های قارچ زده با استفاده از پنس به ظروف درب دار حاوی آب مقطر استریل منتقل و در آزمایشگاه تخم‌ها با آب مقطر استریل شستشو داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد(منطبق با دمای هچری) در ظروف حاوی آب مقطر استریل و آنتی بیوتیک(ممانعت از رشد عوامل باکتریایی) گرمخانه گذاری گردید. پس از آن تخم‌ها مجددا با آب مقطر استریل شستشو داده شده و بصورت تلقیحی در محیط گلوکز یست اکستراکت آگار[۲](YGC) کشت داده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری-گردید (Ghiasi *et al.*, 2010). برای خالص‌سازی پرگنه از حاشیه پرگنه‌های رشدکرده با استفاده از اسکالپل استریل نمونه‌برداری و مجددا پاساژ داده شد و با تهیه لام میکروسکوپی و مشاهده ساختار میکروسکوپی هایف، اسپورانژیوم و گما تولید شده و اطمینان از خلوص پرگنه کشت نهایی انجام و نمونه خالص تهیه‌گردید. لازم به

[۱] - Minimum Inhibitory Concentration

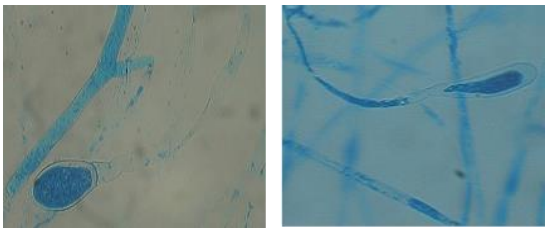
[۲]- Glucose Yeast exteract chloramphenicol Agar

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

ذکر است که در این مطالعه شناسایی قارچ ساپرولگنیا در حد جنس انجام شد (Dayal, 2001) (شکل۱و ۲) .



شکل۱: نمای سطح و پشت کلنی خالص ساپرولگنیا



شکل۲ : نمای میکروسکوپی از نمونه خالص ساپرولگنیا

انجام آزمایشات MIC

در تعریف، MIC یعنی حداقل غلظت یا دوزی از یک ماده ضدعفونی‌کننده که بتواند مانع رشد قارچ شود. برای انجام کار دوزهای ppm ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۱۴۰۰، ۱۶۰۰ و ۱۸۰۰ از هواسان تی آر-۵۰ به محیط کشت YGC آگار افزوده شد. به این ترتیب که برای هر دوز ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت استریل تهیه و دوز مورد نظر به آن افزوده و محیط در پلیت (برای هر دوز سه پلیت) تقسیم گردید و از کشت خالص ساپرولگنیا به قطر ۴ میلی‌متر به پلیت تلقیح شد (شکل ۳) (Liu *et al.*, 2015).



شکل۳ : مراحل تلقیح پرگنه قارچ ساپرولگنیا به تیمارهای مختلف

پلیت فاقد محلول هواسان تی آر-۵۰ به عنوان کنترل منفی و پلیت حاویppm ۲ مالاشیت گرین به‌عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت. پس از این مرحله پلیت‌ها به مدت ۶ روز در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری‌شده و در روزهای ۳ و ۶ آزمایش هاله

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

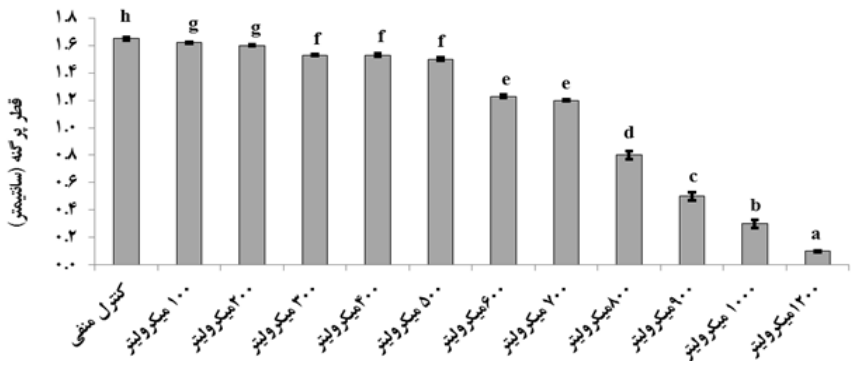
رشد قارچ مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت (Liu *et al.*, 2015).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۰ و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تعیین‌گردید (Zar, 2007)(P<۰/۰۵).

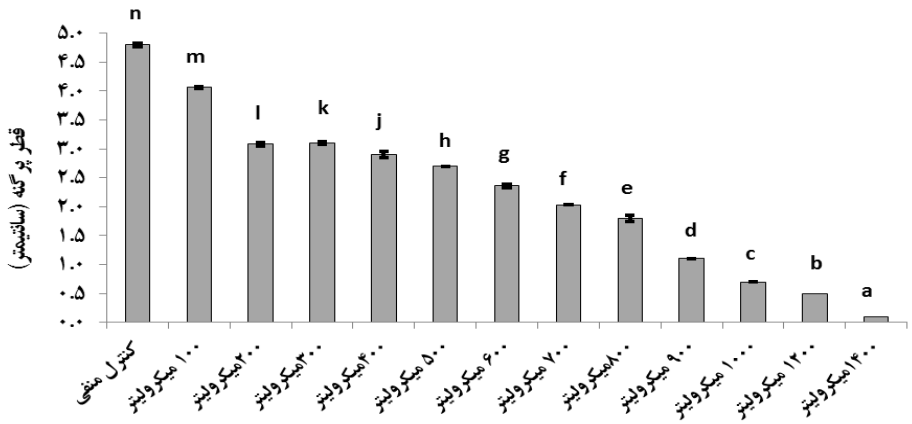
نتایج

بر اساس نتایج قطر هاله رشد در نمونه جداسازی شده از هچری ماهی قره برون در روز ۶ کشت، در دوز ppm ۱۴۰۰ و نمونه جداسازی‌شده از هچری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ppm ۸۰۰ در حدود صفر بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین قطر هاله رشد نشان داد که در روز ۳ آزمایش در نمونه‌های ساپرولگنیا جداسازی شده از تخم قره برون میانگین قطر هاله رشد در پلیتهای حاوی هوآسان تی آر-۵۰ در مقایسه با کنترل منفی از کاهش معنی‌داری برخوردار بوده (P<۰/۰۵) و تنها در دوز ppm ۱۰۰ این تفاوت علی‌رغم کاهش عددی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). همچنین قطر هاله رشد در این زمان در دو دوز ppm ۷۰۰ و ۶۰۰ و نیز در بین دوزهای ppm ۵۰۰، ۴۰۰ و ۳۰۰ تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین قطر هاله رشد در روز ۶ آزمایش نشان داد که کاهش قطر پرگنه تابعی از دوز مصرفی بوده و در روز ۶ آزمایش کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد منفی و نیز در بین دوزهای مختلف وجود داشت (P<۰/۰۵) (شکلهای۴ تا ۶). نتایج مقایسه میانگین قطر هاله رشد نشان داد که در روز ۳ آزمایش در نمونه‌های ساپرولگنیا جداسازی شده از قزل‌آلای رنگین‌کمان میانگین قطر هاله رشد در پلیت‌های حاوی هوآسان تی آر-۵۰ در مقایسه با کنترل منفی (بدون هیچ ترکیب ضد قارچ) از کاهش معنی‌داری برخوردار بودند و این تفاوت در بین دوزهای مختلف نیز دیده‌شد (P<۰/۰۵). نتایج روز ۶ آزمایش نشان داد که کاهش قطر پرگنه تابعی از دوز مصرفی بوده و در این زمان کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد منفی و نیز در بین دوزهای مختلف وجود داشت (P<۰/۰۵) (شکل‌های ۷ تا ۹).

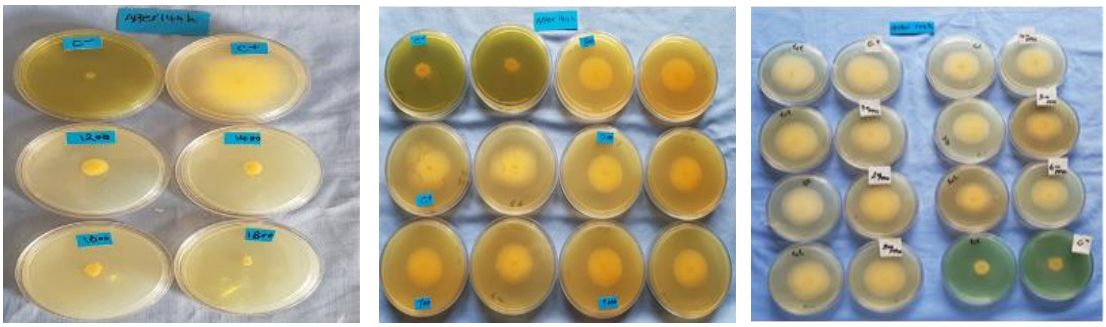


شکل ۴: مقایسه میانگین قطر هاله رشد ساپرولگنیا (از تخم ماهی قره‌برون) در مواجهه با محلول هوآسان تی¬آر-۵۰ در روز ۳ آزمایش

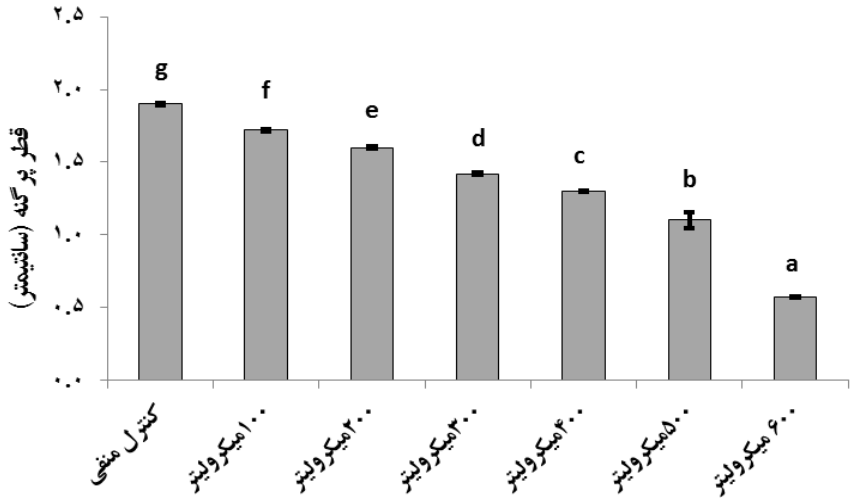
[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]



شکل۵: مقایسه میانگین قطر هاله رشد ساپرولگنیا (از تخم ماهی قره‌برون) در مواجهه با محلول هوآسان تی‌آر-۵۰ در روز ۶ آزمایش

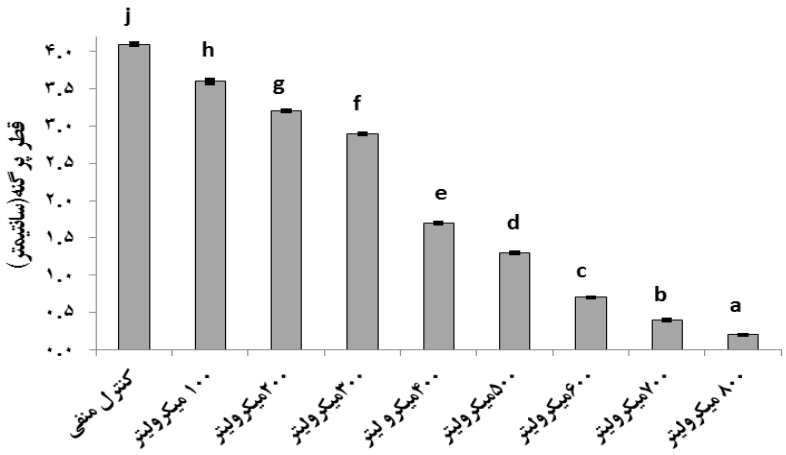


شکل ۶: نتایج کشت شش روزه دوزهای ppm ۱۰۰ تا ۶۰۰ (راست)، دوزهای ppm۷۰۰ تا ۱۰۰۰ (وسط) و دوزهای ppm۱۲۰۰تا ۱۸۰۰ (چپ) نمونه قارچ ساپرولگنیا تهیه شده از هچری ماهی قره‌برون در مواجهه با هوآسان تی آر-۵۰

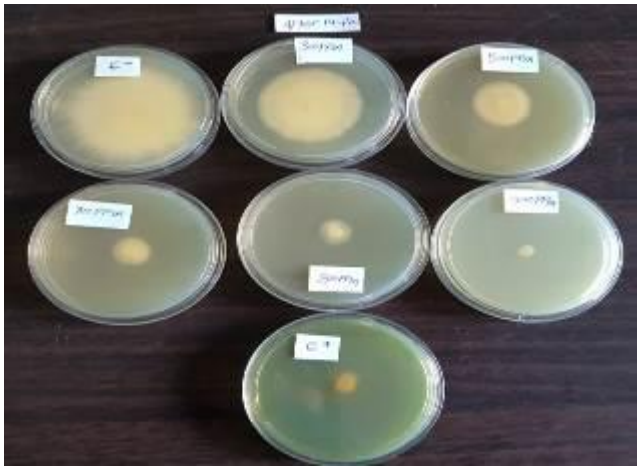


شکل ۷: مقایسه میانگین قطر هاله رشد ساپرولگنیا (از تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان) در مواجهه با محلول هوآسان تی آر-۵۰ در روز ۶ آزمایش

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]



شکل ۸ : مقایسه میانگین قطر هاله رشد ساپرولگنیا (از تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان) در مواجهه با محلول هوآسان تی آر-۵۰ در روز ۶ آزمایش



شکل ۹: نتایج کشت شش روزه ppm ۳۰۰ تا ۸۰۰ نمونه قارچ ساپرولگنیا تهیه شده از هچری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با هوآسان تی آر-۵۰

بحث

امروزه در صنعت آبزی‌پروری، پیشگیری و درمان بیماریهای عفونی به صورت یک اصل حیاتی درآمده است. به همین دلیل تلاش می‌شود تا مناسب‌ترین ترکیبات دارویی و ضد عفونی به این صنعت معرفی شود (Hu *et al.*, 2013). ساپرولگنیازیس بیماری قارچی رایج و عامل تلفات در تخم ماهیان خصوصا در مرحله انکوباسیون است که عوامل ایجادکننده آن گونه‌های متعلق به جنس ساپرولگنیا هستند که بصورت فلور طبیعی در منابع آبی تامین کننده آب مراکز تکثیر و پرورش

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

ماهیان وجود دارند (Ghiasi *et al.*, 2010; Shahbazian *et al.*, 2010; Sarowara *et al.*, 2013). با توجه به مکانیسم عمل و تاثیر مناسب مالاشیت گرین در کنترل قارچ زدگی هچری‌ها، برای مدتها این ماده به عنوان موثرترین ترکیب ضد قارچی در صنعت آبزی-پروری مورد استفاده قرار گرفت، تا اینکه پس از شناخت عوارض ناشی از آن مصرف این ترکیب از سوی مراجع بهداشتی بین المللی از سال ۲۰۰۲ ممنوع اعلام گردید (Earle and Hintz, 2014). بتدریج تلاش برای معرفی ترکیبات ضد قارچی دیگر که بتوانند در این صنعت جایگزین مالاشیت گرین گردند افزایش یافت بطوریکه ۳۰ ماده شیمیایی در این خصوص مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت (Hu *et al.*, 2013). قدرت ضد عفونی کنندگی هواسان تی آر-۵۰ در حذف و غیرفعال کردن طیف وسیعی از عوامل میکروبی را اثبات شده و به یک ضدعفونی کننده کارآمد در پزشکی و دامپزشکی تبدیل شده است (Elfeky *et al.*, 2020). آنچه که مسلم است انجام آزمایشات MIC برای سنجش قدرت و ارزیابی توان یک ترکیب شیمیایی در کنترل و مهار میکروارگانیسمها امری ضروری‌است. در واقع نتایج این آزمایشات تعیین کننده دوزی است که بواسطه آن قدرت کنترل و مهار میکروارگانیسم توسط ترکیب مورد نظر سنجیده می‌شود (Hu *et al.*, 2013). براساس نتایج حاصل از این بررسی میزان MIC برای دو نمونه قارچ جداسازی شده از هچری ماهی قره برون و قزل آلای رنگین کمان به ترتیب ۱۴۰۰ppm و ۸۰۰ بود. همچنین براساس نتایج آنالیز آماری مشخص شد که این ترکیب با افزایش دوز بطور معنی‌داری در روز ۶ آزمایش در نمونه ساپرولگنیا جداسازی شده از تخم قره‌برون و نمونه جداسازی شده از تخم قزل‌آلای رنگین کمان مانع رشد قارچ شده است. به نظرمی‌رسد گونه‌های مختلف ساپرولگنیا مقاومت‌های متفاوتی در برابر ترکیبات ضدعفونی کننده از خود نشان می‌دهند. Rezinciuc و همکاران (۲۰۱۴) بر روی ۲۰۰۰ نمونه ساپرولگنیا جداسازی شده از هچری ماهیان قزل‌آلای قهوه‌ای تحقیق کردند و با استفاده از روش مولکولی اقدام به شناسایی این نمونه‌ها نمودند. نتایج این بررسی نشان داد که بیشترین گونه‌های ساپرولگنیا از گونه‌های استرالیس و فراکس بودند. در ارزیابی تاثیرات ماده ضد عفونی کننده برونوپول بر روی این نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی مشخص شدکه گونه فراکس نسبت به این ترکیب از حساسیت بیشتر و مقاومت کمتری در مقایسه با گونه استرالیس برخوردار است. به نظر می‌رسد که مقاومت در برابرترکیبات ضد قارچی در اوومیست‌ها به موتاسیونهای اختصاصی در نواحی مشخص ژنی می‌تواند مرتبط باشد (Blum *et al.* 2010; 2011). از آنجایی که شناسایی نمونه قارچ مورد استفاده در این مطالعه در حد جنس بوده است لذا وجود تفاوت در دوز بدست آمده در آزمایش MIC احتمالا می‌تواند ناشی از تفاوت گونه‌ای بین دو نمونه قارچ مورد بررسی باشد. از سوی دیگر باید توجه داشت که حساسیت زئواسپور گونه‌های ساپرولگنیا در برابر ترکیبات ضد قارچی بیشتر از میسلیوم قارچ است. Kitancharoen و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که پراکسید هیدروژن با غلظت μgml^{-1} ۵۰۰ به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد مانع از رشد زئواسپور و غلظت μgml^{-1} ۱۰۰۰ طی ۶۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سبب توقف رشد هایف در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ‌های ساپرولگنیا پارازیتیکا، ساپرولگنیا دیکلینا، ساپرولگنیا فراکس و ساپرولگنیا هیپوژینا می‌گردد. بنابراین این احتمال وجود دارد با

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

افزودن هوآسان تی آر-۵۰ به آب هچری که بیشتر زئواسپور در آن است بتوان با دوزی کمتر از میزان MIC بدست آمده در این بررسی از هواسان تی آر-۵۰ آلودگی در هچری را کنترل کرد. از مهمترین مواردی که در خصوص معرفی یک ترکیب دارویی یا ضدعفونی کننده مورد توجه است سهولت در استفاده است. باتوجه به اینکه ترکیب هواسان تی آر-۵۰ به آسانی در آب محلول است (Elfeky *et al.*, 2020) می-توان از این ترکیب به آسانی در صنعت آبزی‌پروری استفاده نمود ولی از آنجایی که ترکیب پایه این ماده پراکسید هیدروژن است ضروری است مواردی که در حین استفاده از پراکسید هیدروژن مورد توجه قرار می-گیرد در خصوص این ترکیب نیز اعمال شود که از جمله می‌توان به دما، pH و سختی آب اشاره کرد (Wagner *et al.*, 2010; Heydarnejad, 2012). پراکسیدهیدروژن ترکیبی ناپایدار است و سریعا به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود (Ali *et al.*, 2015) ولی وجود نقره در ترکیب هواسان تی آر-۵۰ از یک‌سو به افزایش پایداری پراکسید هیدروژن کمک می‌نماید (Elfeky *et al.*, 2020) و از سوی دیگر خود یک ترکیب ضد عفونی کننده است. از گذشته‌های دور نقره و ترکیبات آن به عنوان ترکیبات ضد میکروبی موثر شناخته شده‌اند (Silver, 2003; Klasen, 2000) و در مقایسه با دیگر فلزات، نقره سمی بیشتری در مقابل میکرو ارگانیسم‌ها داشته ولی در از خاصیت سمی کمتری در مقابل سلول-های پستانداران برخوردار بوده‌است (Zhao *et al.*, 1998). اثرات ضد میکروبی نقره به خوبی بر روی اشریشیا کولی، استافیلوکوکوس ارئوس[۱] و گونه‌های استرپتوکوکوس اثبات شده است (Kawahara *et al.*, 2000; Shahverdi *et al.*, 2007; Yamomoto *et al.*, 1996). مهمترین مکانیسم تاثیر یون نقره ایجاد اختلال در امر رونوشت برداری از DNA و ترکیب با گروه‌های –SH و غیر فعال نمودن آنزیم‌هایی است که در فعال نمودن پروتئین‌ها نقش دارند (Feng *et al.*, 2000). احتمالا همین مکانیسم‌ها سبب می‌شود که ترکیب شدن یون نقره ترکیبات پروتئینی غشا سلول قارچ موجب اختلال غشا سلولی شود و از سوی دیگر با اختلال در روند رونوشت برداری از DNA موجب توقف رشد میکروارگانیسم‌ها گردد. مطالعات نشان داده که ترکیبات نقره موجب تخریب غشا سلولی قارچ‌ها و ممانعت از جوانه زدن آنها می‌کند (Nasrollahi *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2009). لذا به نظر میرسد وجود ترکیب نقره در هواسان تی آر-۵۰ علاوه بر اینکه موجب افزایش پایداری بیشتر پراکسیدهیدروژن می‌شود خود نیز اثرات ضد میکروبی داشته و سبب تقویت اثرات تخریبی این ماده می‌شود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری‌نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Alderman, D.J., Clifton-Hadley, R.S., 1993. Malachite green: a pharmacokinetic study in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 16 (4), 297–311.
2. Ali, S. E., Evensen, Ø., Skaar, I., 2015. Recent advances in the mitigation of Saprolegnia infections in freshwater fish and their eggs. The Battle Against

[۱] - *Staphylococcus aureus*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs (A. Méndez-Vilas, Ed.), 691 – 697.
3. Beakes, G.W., Wood, S.E., Burr. A.W., 1994. Futures which characterize Saprolegnia isolates from salmonin fish lesions, A review. In Salmon Saprolegniasis, Edited by G.J. Mueller.U.S. Department of Energy, Bonnevilla Power Administration, Portland, Oregon PP. 33-66.
4. Blum, M., Waldner, M., Gisi, U., 2010. A single point mutation in the novel PvCesA3 gene confers resistance to the carboxylic acid amide fungicide mandipropamid in Plasmopara viticola. Fungal Genetics and Biology, 47, 499-510.
5. Blum, M., Waldner, M,. Olaya, G., Cohen, Y., Gisi, U., Sierotzki, H., 2011. Resistance mechanism to carboxylic acid amide (CAA) fungicides in the cucurbit downy mildew pathogen Pseudoperonospora cubensis. Pest Management Science, 67, 1211-1214.
6. Clup, S.J., Belend, F.A., 1996. Malachite green: a toxicological Review. Journal of American College of Toxicology, 15 (3), 219 – 238.
7. Dayal. R. 2001. A manual of aquatic fungi, Chawla offset printers, India, 96-110, 169-205.
8. Dieguez – Uribeondo. J, Fregeneda – Grands, J. M., Cerenius, L., Perez – Iniesta, E., Aller – Gancedo, J. M., Telleria, M. T., Söderhäll, K., Martin, M. P., 2007. Re-evaluation of the enigametic species complex Saprolegnia diclina – Saprolegnia parasitica based on morphological, physiological and molecular data. Fungal Genetic and biology, 44(7), 585–601.
9. Earle, G., Hintz, W., 2014. New approaches for controlling *Saprolegnia parasitica*, the causal agent of a devastating fish disease. Tropical Life Sciences Research, 25(2), 101–109.
10. Elfeky, A., AlHarbi, M. M., Alataway, A., 2020. Application of Huwa-San TR50 as an alternative disinfectant for municipal wastewater reuse in irrigation. International Journal of Environmental Science and Technology, 17(3), 4549-4562.
11. Espeland, S. Hansen, P., 2004. Prevention Saprolegnia onRainbow trout eggs, Bsc thesis, natturuvisindadeildin faroe, Island
12. Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., Kim, J.O., 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Journal of Biomedical Mater ials Resarchs, 52,662-668.
13. Fernandes, C., Lalitha, V.S., Rao, V.K., 1991. Enhancing effects of malachite green on the development of hepatic preneoplastic lesions induced by N - nitrosodiethylamine in rats. Carcinogenesis, 12, 839–845.
14. Fernandez-Beneitez, M. J., Ortiz-Santaliestra, M. E., Lizana, M., and Dieguez-Uribeondo, J., 2008. *Saprolegnia diclina*: Another species responsible for the emergent disease' Saprolegnia infections' in amphibians. FEMS Microbiology Letters, 279(1), 23–29.
15. Ghiasi, M., Khosravi, A.R., Soltani, M., Binaii, M., Shokri, H., Tootian, Z., Rostami Bashman, M., Ebrahimzade Mousavi, H., 2010. Characterization of Saprolegnia isolates from Persian sturgeon (*Acipencer persicus*) eggs based on physiological and molecular data. Journal de Mycologie Médicale, 20, 1-7.
16. Gouranchat, C., 2000. Malachite green in fish culture (state of the art and perspectives). Bibliographic studies. Ecole Natl. Veterinaire ENVT, Nantes, France.
17. Heydarnejad, M.S., 2012. Survival and growth of common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to different water pH levels. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 36, 245–249.
18. Hu, X.G., Liu, L., Hu, K., Yang, X.L., Wang, G.X., 2013. In Vitro Screening of Fungicidal Chemicals for Antifungal Activity against Saprolegnia. Journal of the World Aquaculture Society, 44(4), 528 – 535.
19. Hussein, M A., Hatai, K., Nomura, T., 2001. Saprolegniosis in salmonids and their

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

20. Kawahara, K., Tsuruda, K., Morishita, M., Uchida, M., 2000. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. Dental Materials, 16, 452-455.
21. Ke, X., Wang, J., Gu, Z., Li, M., Gong. X., 2009. Morphological and molecular phylogenetic analysis of two Saprolegnia sp. (oomycetes) isolated from silver crucian carp and zebra fish. Mycological Research, 113(5), 637–644.
22. Kim, K.J., Sung, W.S., Suh, B.K., Moon, S.K., Choi, J.S., Kim, J.G., Lee, D.G., 2009. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on Candida albicans. Biometals, 22(2), 235–242.
23. Kitancharoen, N., Hatai, K. Yamamoto, A., 1997. Aquatic fungi developing on eggs of salmonids. Journal of Aquatic Animal Health, 9, 314 – 316.
24. Klasen, H.J. 2000. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns*, 26,131–138.
25. Liu, L, Shen, Y.F., Liu, G.L., Ling, F., Liu, X.Y., Hu, K., Yang, X.L., Wang, G.X., 2015. Inhibition of dioscin on Saprolegnia in vitro. FEMS Microbiology Letters, 362, fnv196.
26. Molina, F. I., Jong, S., Ma, G., 1995. Molecular characterization and identification of Saprolegnia by restriction analysis of genes coding for ribosomal RNA. Antonie van Leeuwenhoek, 68(1), 65–74.
27. Nasrollahi, A., Pourshamsian, K., Mansourkiaee, P., 2011. Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. International Journal of Nano Dimension, 1(3), 233–239.
28. Petrisko, J. E., Pearl, C. A., Pilliod, D. S., Sheridan, P. P., Williams, C. F., Peterson, C. R., Bury. R. B., 2008. Saprolegniaceae identified on amphibian eggs throughout the Pacific Northwest, USA, by internal transcribed spacer sequences and phylogenetic analysis. Mycologia, 100(2), 171–181.
29. Phillips, A. J., Anderson, V. L., Robertson, E. J., Secombes, C. J., Van West, P., 2008. New insights into animal pathogenic oomycetes. Trends in Microbiology. 16, 13–19.
30. Rao, K.V.K., 1995. Inhibition of DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures by malachite green: a new liver tumor promoter. Toxicology Letter, 81(2–3), 107–113.
31. Rezinciuc, S., J.V. Sandoval-Sierra and J. Diéguez-Uribeondo. 2014. Molecular dentification of bronopol tolerant strain of Saprolegnia australis causing egg and fry mortality in farmed brown trout, Salmo trutta, Fungal Biology, 118(7), 591-600.
32. Robertson, E. J., Anderson, V. L., Phillips, A. J., Secombes, C. J., Dieguez-Uribeondo, J., Van West, P., 2009. Saprolegnia – fish interactions. In K Lamour and S Kamoun (eds.). Oomycete genetics and genomics, diversity, interactions and research tools. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell, 407–424.
33. Sarowara, M. N., Van Den Berg, A. H., Mclaggan, D., Young, M. R., Van West, P., 2013. Saprolegnia strains isolated from river insects and amphipods are broad spectrum pathogens. Fungal Biolology, 117, 752–763.
34. Shahbazian, N., Ebrahimzadeh, M.H.A., Soltani, M., Khosravi, A.R., Mirzargar, S. Sharifpour, I., 2010. Fungal Contaminations in Rainbow Trout Eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on saprolegniceae. Iranian Journal. Fisheries Science, 9, 151–160.
35. Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R. Minaian, S., 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Nanomedicine, 3, 168-171.
36. Silver, S. 2003. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS Microbiology Reviews, 27, 341–353.
37. Stueland, S., Hatai, K., Skaar. I., 2005. Morphological and physiological characteristics of Saprolegnia spp. strains eggs in Japan. Journal of Wildlife Diseases, 37(1), 204–207.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]

pathogenic to Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases, 28, 445–453.
38. Thoen, E., Evensen, Ø., Skaar, I., 2011. Pathogenicity of Saprolegnia spp. to Atlantic salmon, *Salmo salar* L., eggs. Journal of Fish Diseases, 34, 601–608.
39. Wagner, E.J., Oplinger, R.W., Arndt, R.E., Forest, A.M., Bartley, M., 2010. The safety and effectiveness of various hydrogen peroxide and iodine treatment regimens for rainbow trout egg disinfection. North American Journal of Aquaculture, 72, 34–42.
40. Yamamoto, K., Ohashi, S., Aono, M., Kokubo, T., Yamada, I., Yamauchi, J. 1996, Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO2 filler on oral streptococci. Dental Materials, 12, 227-229.
41. Zar, J.H., 2007. Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall; p. 662.
42. Zhao, G.J., Stevens, S.E., 1998. Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. Biometals, 11, 27–32.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.5.0]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.53]