

مقایسه اثر ضد قارچی محلول هوواسان تی آر ۵۰ (Huwa-San TR-50) با سبزی مالاشیت و فرمالین در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلاهی رنگین کمان از انکوباسیون تا تفریح

محمد میثم صلاح^۱، سید محمد جلیل ذریه زهرا^۲، ابوالفضل سپهداری^{*}، سید عبدالحمید حسینی^۱، عیسی

فلاحت ناصر آباد^۱، ابوالحسن راستیان نسب^۱

۱- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، یاسوج، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۳

چکیده

هوواسان تی آر - ۵۰ یک ضد عفونی کننده بر پایه پراکسید هیدروژن می باشد. هر لیتر از این ترکیب حاوی ۵۷۰ گرم پراکسید هیدروژن بوده و نظر به ناپایداری این محلول، یون نقره به عنوان تثبیت کننده به میزان ۰/۳۶ گرم به آن اضافه گردیده است. هدف از این مطالعه بررسی تعیین کارایی این محلول در مهار و کاهش تلفات ناشی از آلودگی قارچی در هجری ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان طی دوره انکوباسیون، در مقایسه با سبزی مالاشیت و فرمالین بود. برای انجام این کار از ۲۷ ترف کالیفرنایی در ۹ تیمار و سه تکرار استفاده گردید و در هر ترف تعداد ۷۰۰ عدد تخم لقاح یافته ماهی قزل آلاهی رنگین کمان ذخیره سازی گردید. در این بررسی ۵ تیمار با پنج دوز مختلف هوآسان تی آر ۵۰ (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام)، یک تیمار با مالاشیت گرین با دوز ۲ پی پی ام و یک تیمار با فرمالین با دوز ۱۰۰۰ پی پی ام، که به مدت ۳۰ دقیقه از طریق حمام دادن ضد عفونی شدند؛ یک تیمار شاهد مثبت (آلوده به قارچ و بدون درمان دارویی) و یک تیمار شاهد منفی (غیر آلوده به قارچ و بدون درمان دارویی) نیز در نظر گرفته شد. در طول دوره انکوباسیون شرایط برای تمامی تیمارها یکسان بود طی این بررسی مشخص شد. کمترین میزان قارچ زدگی تخم ها در دوز ۳۰۰ پی پی ام هوواسان تی آر ۵۰ مشاهده گردید که با تیمارهای مالاشیت و فرمالین، اختلاف معنی داری از نظر آماری نداشت همچنین بالاترین درصد بازماندگی تخم ها تا مرحله چشم زدگی نیز مربوط به تیمار ۳۰۰ پی پی ام بود که با تمام تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده دوز ۳۰۰ پی پی ام هوواسان مناسب ترین غلظت برای ضد عفونی کردن تخم ها است.

کلمات کلیدی: آلودگی قارچی، ضد عفونی، دوره انکوباسیون، محلول هوواسان، تخم ماهی قزل آلاهی رنگین کمان.

مقدمه

تولید لاروماهیان با کیفیت لازمه افزایش تولیدات آبی پروری در مزارع پرورش ماهیان می باشد (Kjorsvik *et al.*, 1990). این امر باعث شده تا حساسیت خاصی به مراحل تولیدمثل ماهیان مانند رسیدگی جنسی، تخم ریزی و دوره رشد و نمو (از مرحله لقاح تا جذب کیسه زرده) در بین آبی پروران ایجاد شود، به طوری که تولید لاروهای با کیفیت بالا باعث افزایش تولید و سود اقتصادی پرورش دهندگان ماهی شده است. بیشترین خسارت های اقتصادی در آبی پروری ناشی از بروز بیماری های باکتریایی و قارچی است (Meyer, 1991). که ضررهای اقتصادی قابل ملاحظه ای را در صنعت تکثیر و پرورش ماهی ایجاد کرده است (Bly *et al.*, 1992; Pottinger and Day, 1999). به نحوی که خسارت های ناشی از این بیماری ها در صنعت پرورش آزادماهیان در دنیا، سالانه حدود ده میلیون پوند برآورد شده است (Hussein and Hatai, 2002). محافظت و پیشگیری از عوامل بیماری زا، مهم ترین، آسان ترین و کم هزینه ترین روش جلوگیری از صدمات و ضایعات ناشی از بیماری ها در مراکز تکثیر و پرورش است. بنابراین ضروری است که در تحقیقات شیلاتی توجه ویژه ای به موضوعات بهداشتی در زمینه تولید محصولات سالم و با کیفیت مبذول گردد. تخم ماهی می تواند برای انتقال بیماری از مولدین به نوزادان و بین هجری ها به علت احتمال وجود عوامل بیماری زای فرصت طلب، به عنوان یک ناقل مطرح باشد (Atanasov *et al.*, 2011).

عفونت های قارچی، یکی از رایج ترین عوامل تلفات در ماهیان آب شیرین به ویژه در طول مدت انکوباسیون تخم ها و بچه ماهی ها قبل از جذب کیسه

زرده می باشد. در این راستا، مدیریت بهداشتی صحیح، کاهش تراکم، خارج کردن تخم های قارچ زده از تراف ها و ضد عفونی کردن تخم ها از جمله اقدامات پیشگیری کننده اساسی در کنترل عفونت های قارچی در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان می باشند. تأمین آب با کیفیت، یکی از شاخص های مهم در سیستم های پرورش ماهی به روش متراکم است. روش های ضد عفونی نمودن آب جهت کاهش بار میکروبی آب ورودی و یا جلوگیری از شکوفایی میکروارگانیسم های بیماریزا شامل آنتی بیوتیک درمانی، ازن درمانی، فیلتراسیون، و استفاده از اشعه UV است. ولی هر یک از این روش ها معایب خاصی همچون صرف هزینه زیاد، نیاز به دستگاه های پیشرفته، تولید باقی مانده های سمی، ظهور گونه های مقاوم میکروارگانیسم ها و غیره دارند. در عمل هدف از ضد عفونی کاهش عوامل بیماریزا تا سطح قابل قبول و جلوگیری از ازدیاد آنها تا حد بیماریزایی و کنترل ورود عوامل بیماریزا در طی دوران تکثیر و پرورش می باشد. در صنعت تکثیر و پرورش ماهی برای پیشگیری از آلودگی های قارچی در تخم ها در طی دوره انکوباسیون از مواد ضد عفونی کننده متعددی استفاده می شود که از جمله آنها می توان به سبز مالاشیت، فرمالین، آب اکسیژنه یا پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، پرمنگنات پتاسیم، ترکیبات یدوفور و غیره اشاره نمود. یکی از رایج ترین مواد شیمیایی جهت درمان و یا پیشگیری از این عارضه به خصوص در مورد تخم آزاد ماهیان مالاشیت سبز می باشد که به دلیل اثرات مطلوب قارچ کشی آن همواره مورد توجه دست اندرکاران تکثیر و پرورش ماهی در ایران و جهان بوده است (Vanwest *et al.*, 1998).

مواد و روشها

طراحی تیمارها: در این تحقیق ۹ تیمار

آزمایشی مشتمل بر ۵ تیمار از محلول هوواسان تی آر ۵۰ با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm و تیمارهای مالا شیت سبز و فرمالین با دزهای معمول مورد استفاده به ترتیب ۲ و ۱۰۰۰ ppm و با منظور نمودن کنترل های مثبت و منفی طبق اطلاعات مندرج در جدول شماره ۱ اقدام شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

برای ذخیره سازی تخم ها از ترافهای کالیفرنایی (ابعاد ۷۰×۳۵×۲۰ cm) استفاده گردید. عمق هر تراف ۲۰ cm، ارتفاع آب روی تخم ۱۰ cm و دبی آب ورودی به هر تراف ۴ تا ۶ لیتر در دقیقه بود. تخم سبزی ماهی قزل آلائی رنگین کمان به تعداد ۷۰۰ عدد به هر تراف انتقال یافت. جهت ارزیابی عملکرد ترکیبات ضد قارچ تحت ازمون از روش حمام به شرح جدول (۱) استفاده شد. میزان آب ترافها در طی ۳۰ دقیقه درمان حدود ۲۵۰ لیتر محاسبه شد.

۲۰۰۶ مالا شیت گرین را ماده ای سرطازنا معرفی کرد. اداره غذا و دارو در آمریکا (FAD) از سال ۱۹۹۱ میلادی پس از مشخص شدن اثرات سرطازناتی، ناقص الخلقه زایی و تجزیه آهسته آن در طبیعت کاربرد این ماده شیمیایی را برای آبریزی که مصرف انسانی دارند ممنوع اعلام کرده است (Kitancharoen *et al.*, 1998).

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر ضد عفونی کنندگی ماده هوواسان تی آر ۵۰ (یک محصول از نسل جدید ترکیبات ضد عفونی کننده اکولوژیکی تولید شرکت Roam Chemie بلژیک می باشد) در تخم های ماهی قزل آلائی رنگین کمان و مقایسه تاثیرات ضد قارچی و میزان کارآیی آن با فرمالین و مالا شیت گرین به انجام رسید. ترکیبات این ماده شامل ۵۰ درصد پراکسید هیدروژن به عنوان ضد عفونی کننده اصلی به همراه یون نقره کلوئیدی (۳۲۰ ppm) و به صورت مایع شفاف می باشد.

جدول ۱: داروهای ضد عفونی کننده و دز مصرفی آنها در تیمارهای آزمایشی

ردیف	تیمار	میزان مصرف	مدت زمان
تیمار ۱	محلول هوواسان	۵۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۲	محلول هوواسان	۱۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۳	محلول هوواسان	۲۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۴	محلول هوواسان	۳۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۵	محلول هوواسان	۵۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۶	مالا شیت گرین	۲ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۷	فرمالین	۱۰۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۸	شاهد مثبت (با آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-
تیمار ۹	شاهد منفی (بدون آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-

فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و قلیائیت، قبل و پس از هر آزمایش اندازه

در طول دوره ۲۰ روزه تا چشم زدگی به منظور ایجاد شرایط یکسان برای تمامی تیمارها خواص

۷۲ ساعت پس از انتقال تخم ها به ترفها تا زمان چشم زدگی ضد عفونی در تیمارهای مختلف به صورت یک روز در میان و برای مدت ۳۰ دقیقه به روش حمام دادن به تعداد ۸ مرتبه در طی ۲۰۰ درجه روز انجام گرفت. تعداد تخمهای تلف شده طی مراحل انکوباسیون قبل از آغاز هر نوبت آزمایش در تیمارهای مختلف شمارش و ثبت گردید. تخم های صدمه دیده و سفید شده از تخم های سالم به روش سیفون کردن جدا گردید.

تعیین درصد چشم زدگی تخم ها: تا زمان چشم زدگی تخم ها، تخم های صدمه دیده و سفید شده از تخم های سالم جدا گردید (به روش سیفون کردن) و نسبت به تمیز کردن سینی ها و ترف ها اقدام شد و تخم ها مجدداً به محل قبلی خود جهت تفریخ برگردانده شده. درصد چشم زدگی تخم ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$(100 \times) \text{ [مرگ و میر ابتدایی - تعداد کل تخمها / تعداد تخمهای چشم زده]} = \text{درصد چشم زدگی}$

تعیین درصد تفریخ: حدود ۳۳۰ درجه روز پس از لقاح، تفریخ تخم ها صورت گرفت. برای تعیین درصد تفریخ از طریق نمونه برداری و شمارش لاروهای تفریخ بر طبق رابطه زیر اقدام گردید (Geffen and Evans, 2000).

$(100 \times) \text{ [تعداد تخمهای چشم زده / تعداد تخمهای تفریخ شده]} = \text{درصد تفریخ}$

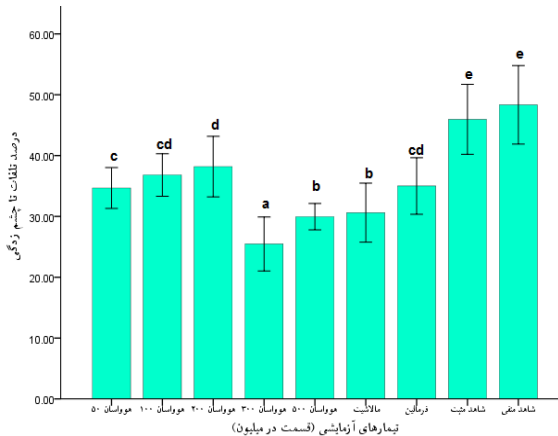
تعیین درصد ناهنجاری: میزان ناهنجاری لاروها ۱۷ روز پس از تفریخ تخمها یعنی در زمانی که لاروها قادر به شنای عمودی در سینی ها شدند، با استفاده از فرمول ذیل تعیین شد:

گیری و ثبت گردید. جهت مواجهه تخم ها با قارچ، ۶ پس از انتقال تخمها به ترف هان نسبت به آلوده کردن تخمها با قارچ (۲۰۰۰ عدد نگهداری شده در یک آکواریوم) به مدت ۲ تا ۵ دقیقه اقدام و تعداد تخمهای تلف شده در طول دوره ثبت شدند (به جز تیمار شاهد منفی).

نمونه برداری و جداسازی قارچ ساپروولکنیا از هچری

از آنجایی که استوک این قارچ قابل لیوفیلیز شدن نیست ضروری بود تا نمونه قارچ از تخم های قارچ زده جداسازی گردد. بدین منظور از تخم های قارچ زده در مرکز که تحت درمان با ترکیبات ضدقارچی قرار نگرفته بودند نمونه تهیه گردید. در آزمایشگاه نمونه های تخم 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 همراه با تخم) گرمخانه گذاری گردید. پس از آن نمونه ها مجدداً با آب مقطر استریل شستشو داده شده و بصورت تلقیحی در محیط گلوکز یست اکستراکت آگار (YGC) بصورت تلقیحی کشت داده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۱۸ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری گردید. برای خالص سازی پرگنه از حاشیه پرگنه های رشد کرده با استفاده از اسکالپل استریل نمونه برداشته و مجدداً پاساژ داده شد و با تهیه لام میکروسکوپی و اطمینان از خلوص پرگنه کشت نهایی انجام و نمونه خالص تهیه گردید (قیاسی، ۱۳۸۷). از نمونه های کشت داده شده جهت ایجاد آلودگی در شاهد مثبت استفاده گردید.

شاهد منفی فقط با تیمار شاهد مثبت دارای اختلاف معنی دار نبود و در مقایسه با سایر تیمارها از اختلاف معنی داری برخوردار بود ($P > 0.05$).



شکل ۱: درصد تلفات تخم چشم زده ماهی قزل‌الای رنگین کمان در تیمارهای آزمایشی مختلف

درصد چشم زدگی، تفریح و ناهنجاری:

نتایج مربوط به درصد چشم زدگی، تفریح و ناهنجاری لاروها در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، هوواسان ۳۰۰ ppm با میانگین $3/07 \pm 74/52$ دارای بالاترین درصد چشم زدگی در بین تیمارهای آزمایشی بود ($P > 0.05$). همچنین بالاترین میزان تفریح به ترتیب در تیمارهای مالاشیت ($1/17 \pm 95/48$)، هوواسان ۱۰۰ ppm و هوواسان ۳۰۰ ppm مشاهده گردید. میزان ناهنجاری نیز در تیمارهای مختلف بین ۰/۶۵ درصد در تیمار هوواسان ۵۰ ppm و ۲/۱۲ درصد در تیمار هوواسان ۵۰۰ ppm متغیر بوده و اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید.

($\times 100$) [تعداد تخمهای تفریح شده / لاروهای ناهنجار]

= درصد ناهنجاری ها (Arndt et al., 2001)

تعیین درصد قارچ زدگی: تعداد توده های

قارچ و تعداد تخمها در هر توده به عنوان شاخص شدت آلودگی نیز محاسبه و ثبت گردید که از طریق فرمول ذیل محاسبه گردید:

$100 \times [\text{تعداد کل تخمها} / \text{تعداد تخمهای قارچ زده}] =$

درصد قارچ زدگی (Barnes et al., 1998)

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها توسط برنامه

اکسل Excel و با استفاده از نرم افزار SPSS و به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها به وسیله تست چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

درصد تلفات تا چشم زدگی

نتایج درصد تلفات تا مرحله چشم زدگی در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۱ ارائه شده است. بر این اساس کمترین میزان درصد تلفات در زمان چشم زدگی یعنی روز ۲۰ بعد از لقاح، به ترتیب در تیمارهای هوواسان با دوز ۳۰۰ ppm و مالاشیت ۲ ppm ($29/95 \pm 0/87$ درصد) و مالاشیت ۵۰۰ ppm ($30/61 \pm 1/95$ درصد) به دست آمد. همانگونه که در نمودار نشان داده شده است میزان تلفات در تیمار ۳۰۰ از همه تیمارها به صورت معنی داری کمتر می‌باشد. همچنین بیشترین تلفات نیز به ترتیب در تیمارهای شاهد منفی ($48/33 \pm 2/59$) و شاهد مثبت ($45/95 \pm 11/41$) مشاهده گردید به نحوی که تیمار

جدول ۲: درصد چشم زدگی، درصد تفریح و درصد ناهنجاری در تیمارهای مختلف آزمایشی (درصد \pm انحراف معیار)

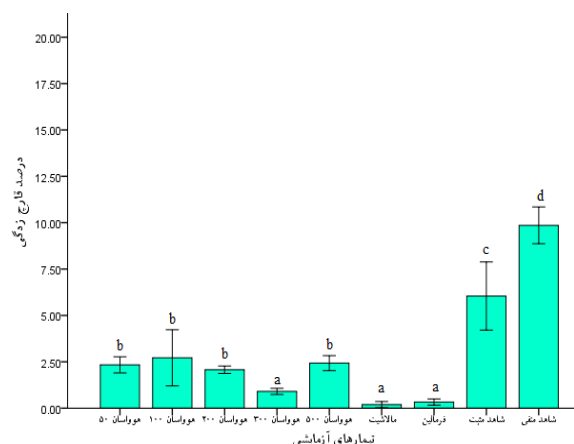
ردیف	تیمار	چشم زدگی (میانگین \pm انحراف معیار)	تفریح (میانگین \pm انحراف معیار)	ناهنجاری (میانگین \pm انحراف معیار)
تیمار ۱	هوآسان ۵۰ ppm	۶۵/۳۳ \pm ۱/۳۵ ^c	۸۹/۳۶ \pm ۰/۴۶ ^a	۰/۶۵ \pm ۰/۷۵ ^a
تیمار ۲	هوآسان ۱۰۰ ppm	۶۳/۱۹ \pm ۱/۴ ^{bc}	۹۳/۸۳ \pm ۱/۳۳ ^{bc}	۱/۲۹ \pm ۱/۲۵ ^a
تیمار ۳	هوآسان ۲۰۰ ppm	۶۱/۸ \pm ۲ ^b	۹۰/۷۱ \pm ۳/۳۴ ^{ab}	۱/۸۸ \pm ۰/۶۱ ^a
تیمار ۴	هوآسان ۳۰۰ ppm	۷۴/۵۲ \pm ۱/۷۸ ^e	۹۲/۷۰ \pm ۱/۲۹ ^{abc}	۱/۰۸ \pm ۰/۶۶ ^a
تیمار ۵	هوآسان ۵۰۰ ppm	۷۰/۰۴ \pm ۰/۸۷ ^d	۸۹/۶۷ \pm ۱/۶۵ ^a	۲/۱۲ \pm ۰/۴۶ ^a
تیمار ۶	مالاشیت سبز	۶۹/۳۸ \pm ۱/۹۵ ^d	۹۵/۴۸ \pm ۱/۱۷ ^c	۱ \pm ۰/۱۲ ^a
تیمار ۷	فرمالین	۶۵/۰۰ \pm ۱/۸۶ ^{bc}	۹۲/۵۳ \pm ۱/۴۷ ^{abc}	۰/۷۹ \pm ۰/۲۹ ^a
تیمار ۸	شاهد مثبت (با آلودگی)	۵۴/۰۴ \pm ۲/۳۱ ^a	۹۰/۹۲ \pm ۱/۷۳ ^{ab}	۰/۹۷ \pm ۰/۹۴ ^a
تیمار ۹	شاهد منفی (بدون آلودگی)	۵۱/۶۶ \pm ۲/۵۹ ^a	۹۱/۳۹ \pm ۱/۷۸ ^{ab}	۱/۶۲ \pm ۰/۶۶ ^a

بحث

جستجو و به کار بردن داروی مناسبی که ضمن کارایی مطلوب، دارای کم ترین اثرات سمی باشد همواره در جهت مبارزه با بیماری های قارچی از اهمیت بالایی برخوردار بوده است. این مسأله به ویژه در ماهی قزل آلائی رنگین کمان که گونه اصلی پرورشی در کشور ما است اهمیتی مضاعف دارد. به علت دمای پائین آب و همچنین مدت زمان طولانی انکوباسیون، همواره آلودگی قارچی تخمهای لقاح یافته تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان یکی از عمده ترین دلایل تلفات می باشد (Sharifpour *et al.*, 2016). ماده موثر ضد عفونی کننده در ترکیب هوآسان پراکسید هیدروژن است. پراکسید هیدروژن به صورت درمان روزانه در کنترل عفونت های قارچی موثر است (Gaikowski *et al.*, 1988; Arndt *et al.*, 2001). پراکسید هیدروژن یکی از مواد شیمیایی امیدبخش در درمان ساپروولگنیا است (Marking *et al.*, 1994; Fitzpatrick *et al.*, 1995; Mitchell and Collins, 1997) و دارای حداقل اثرات بر محیط زیست است. از

درصد قارچ زدگی: محاسبه درصد قارچ

زدگی با شمارش تعداد تخم های قارچ زده در طی دوره آزمایش انجام گرفت (شکل ۲). همانگونه که در نمودار ذیل مشاهده می شود، بیشترین درصد قارچ زدگی در بین تیمارها مربوط به تیمار شاهد منفی بود، این در حالی است که کمترین این میزان به ترتیب در تیمارهای مالاشیت (۰/۱۹ \pm ۰/۰۸)، فرمالین (۰/۳۳ \pm ۰/۰۷)، هوآسان ۳۰۰ ppm (۰/۹ \pm ۰/۰۸) و هوآسان ۲۰۰ ppm (۲/۰۷ \pm ۰/۱) گزارش گردید ($P > 0.05$).



شکل ۲: درصد تخم های تلف شده در اثر آلودگی قارچی در تیمارهای آزمایشی

در حالی که در شرایط معمول حدود ۲۰۰۰۰ تا ۴۰۰۰۰ عدد است. در نتیجه در این پژوهش فشار و تراکمی که تخم ها در شرایط طبیعی تجربه می کنند در اینجا اعمال نشد. شاید بتوان دلیل توصیه به اجرای کار بر روی تراکم متعارف تخم در تکثیر را در مطالعه Khoshkho و Hemati Matin (۲۰۱۳) نیز مشخص نمود. این محققین در مطالعه خود بر روی اثرات قارچ کشی ماده هواسان بر روی تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان به این نتیجه رسیدند که دوز ۷ میلی گرم در لیتر این ماده قابلیت کنترل عفونت قارچی را در تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان ندارد.

یون نقره کلوئیدی دیگر ماده تشکیل دهنده هواسان بود. این ماده یکی از ترکیباتی است که جهت درمان عفونت های باکتریایی و قارچی تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان استفاده شده است (Soltani et al., 2011; Soltani et al., 2009) گزارش دادند که با استفاده از ۴ میلی گرم در لیتر یون نقره کلوئیدی (AgNPs) به مدت ۳۰ دقیقه و به صورت روزانه، میانگین درصد تفریح تخم قزل آلا به $1/5 \pm 1/6$ تا $4/8$ درصد رسید و این در حالی بود که گروه شاهد مثبت با تیمار مالا شیت سبز با دوز ۲ میلی گرم در لیتر به مدت ۲۰ دقیقه دارای میانگین درصد تفریح $0/2 \pm 64/7$ بود و گروه کنترل منفی بدون استفاده از ماده ضد عفونی کننده $0/2 \pm 5/1$ بود.

تاثیر سایر فاکتورها از جمله میزان مواد آلی، کیفیت آب نیز باید مورد نظر قرار گیرد. همانند تمامی مواد شیمیایی دیگر در زمان کار با ماده هواسان باید مسائل بهداشتی و ایمنی کار با این ماده رعایت شود. لازم به ذکر است که غلظت و طول مدت پیشنهاد شده داروهای مورد بررسی در این پژوهش در شرایط ویژه

این ماده در مان تخم گربه ماهی استفاده شده است (Durborow et al., 2003). این ماده در آب به هیدروژن، اکسیژن و آب تجزیه می شود (Marking et al., 1994). درمان با دوز ۵/۰ تا ۱ درصد به مدت ۱۵ تا ۶۰ دقیقه منجر به کنترل رشد قارچ ها بر روی تخم های ماهی قزل آلائی رنگین کمان شده است (Schreier et al., 1998; Barnes et al., 1996). محققین مختلف به بررسی اثرات قارچ کشی پراکسید هیدروژن پرداخته اند. میرواقفی و همکاران (۱۳۸۴)، عنوان نموده اند که غلظتی از پراکسید هیدروژن که برای کنترل رشد قارچ بر روی تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان در یک کارگاه موثر تشخیص داده می شود، ممکن است بسته به نوع منبع آبی، خصوصیات شیمیایی آب و تراکم اسپورهای قارچی در کارگاه دیگر متفاوت باشد. این محققین در یک کارگاه دوز ۲۵۰ و در دیگری دوز ۱۰۰۰ را برای کنترل کامل قارچ به دست آوردند که دلیل آن را مرتبط با سختی آب عنوان نموده اند.

در پژوهش حاضر نیز اثرات قارچ کشی ماده هواسان تایید شد. به طوری که در بین تیمارهای هواسان کمترین میزان قارچ زدگی تخم ها در تیمار هواسان با دوز ۳۰۰ ppm، مشاهده گردید که با تیمارهای مالا شیت و فرمالین که سابقاً به عنوان قارچ کشهای قوی مورد استفاده قرار می گرفتند و امروزه به دلیل سرطانزا بوده کاربرد آنها ممنوع شده است، اختلاف معنی داری نشان نداد. لازم به ذکر است که این پژوهش در شرایط متداول انکوباسیون تخم قزل آلا و با استفاده از تراف های کالیفرنیا و جریان آب و شرایط معمول انکوباسیون اجرا شد و در نتیجه مشابه روش درمان معمول تخم در شرایط کاری است. در این پژوهش در هر تراف تعداد ۴۰۰۰ عدد تخم قرار داشت

5. Bly, J. E., Lowson, L. A., Dale, D. J. & Szalai, A. J., Durborow, R. M. and Clem, L. W. Clem., 1992. Winter Saprolegniasis in channel catfish. Diseases of Aquatic Organisms. 13.pp. 155-164.
6. Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B. & Chitwood, R.L., 1995. Evaluation of three candidate fungicides for treatment of adult spring chinook salmon. Prog. Fish Cult. 57:153-155.
7. Gaikowski, M.P., Rach, J.J., Olson, J.J., Ramsay, R.T., & Wolgamood, M., 1998. Toxicity of hydrogen peroxide treatments to rainbow trout eggs. Journal of Aquatic Animal Health, 10: 241-251.
8. Geffen, A.J. & Evans, J.P., 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sexreversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 182: 61-72.
9. Hussein, M.M.A., Hatai, K., 2002. Pathogenicity of Saprolegnia species associated with outbreaks of salmonid saprolegniasis in Japan. Fish Sci, 68: 1067-1072.
10. Khoshkho Zh and Hemati Matin, R. 2013. Efficacy of Medication Therapy to Control of Saprolegniasis on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Eggs. Global Veterinaria, 10 (1): 80-83.
11. Kitanchaoren, N., Yamaoto, A. & Hatai, K., 1998. Effect of Sodium Chlorid, Hydrogen peroxide and Malachit green on Fungal infection in Rainbow trout eggs. Biocontrol Science. 3(2): 113-115.
12. Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, 26: 71-113.
13. Marking, L.L, Rach, J.J, & Schreier, T.M., 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. Prog. Fish Cult. 56:225-231.
14. Meyer, F.P., 1991. Aquaculture disease and health management. J. Anim. Sci, 69: 4201-4208.
15. Mitchell, A.J., Collins, C.B., 1997. Review of the therapeutic uses of hydrogen peroxide in fish production. Aquacult. Mag, 23:74-79.
16. Pottinger, T.G. & Day, J.G., 1999. A Saprolegnia parasitica challenge system for rainbow trout: assessment of pyceze as

این آزمایش ارایه شده است و در هر حال برای اطمینان از بی خطر بودن تیمارهای درمانی یک آزمایش اولیه قبل از انجام تیمار دارویی در مقیاس وسیع توصیه می شود؛ چرا که داروهای شیمیایی را نمی توان همیشه با یک معیار به کار برد، زیرا کارایی و سمیت این مواد در حضور مواد آلی و شرایط فیزیکی شیمیایی آب متغیر است (Rach *et al.*, 1997).

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

منابع

۱. قیاسی، م.، ۱۳۸۷. تعیین الگوی مولکولی و پروتئینی قارچهای آبزی بیماریزا (سپروولگنیا) جدا شده از تخم های آلوده ماهیان خاویاری و استخوانی مراکز تکثیر و پرورش استان مازندران، پایان نامه دکترای تخصصی، دانشگاه تهران. ۱۳۴ صفحه.
2. Arndt, C., Gaill, F. & Felbeck, H., 2001. Anaerobic sulfur metabolism in thiotrophic symbioses. Journal of Experimental Biology, 204: 741-750.
3. Atanasov, A., Rusenova, N., Staykov, Y., Nikolov, G., Pavlov, A., Stratev, D. & Raichev, E., 2011. Chemical surface disinfection of fungal type fish egg incubators. Agricultural science and technology, 3: 21-284.
4. Barnes, M.E., Ewing, D.E., Cordes, R.J. & Young, G.L., 1998. Observations on hydrogen peroxide control of saprolegnia spp. during rainbow trout egg incubation. The Progressive Fish-Culturist, 60(1): 67-70.

- H., 2011. Effect of nanosilver particles on hatchability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg and survival of the produced larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(1): 167-176.
21. Soltani, M., Ghodrathema, M., Ahari, H., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Atee, M., Dastmalchi, F. & Rahman Nia, J., 2009. The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas hydrophila*. International Journal of Veterinary Research, 3(2): 137-142.
 22. Vanwest, P., 2006. *Saprolegnia Parasitica*, an Oomycete Pathogen With a fishy appetite. New challenges for an old problem. Mycologist, 20: 330-337.
- an anti-fungal agent for both fish and ova. Dis. Aquat. Organ, 36:129-141.
17. Rach, J.J., T.M. Schreier., G.E. Howe & S. D. Redman., 1997. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. Prog. Fish-Cul. 59: 41-46.
 18. Schreier T.M., J.J. Rach, & G.E. Howe., 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Aquaculture, 140: 323-331.
 19. Sharifpour, I., Kakoolaki, S., Mehrabi, M.R., Gheyasi. & M., Najjar Lashkari, S., 2016. Evaluation of the effects of different concentrations of neutral anolyte on fungal infected eggs in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in comparison with green malachite, Iranian Journal Fisheries Sciences, 15(1): 91-99.
 20. Soltani, M., Esfandiary, M., Sajadi, M. M., Khazraenia, S., Bahonar, A. R. & Ahari,