ارزیابی مقایسه نانوسیل (پراکسید هیدروژن با یون نقره) و مالاشیت‌گرین در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهیان قره‌برون (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

- **سیدمحمد شفیع‌زاده:** گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق‌پستی: ۳۵۱۶-۴۱۳۳۵
- **حسین خارا*:** گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق‌پستی: ۱۶۱۶
- **علیرضا شناورماسوله:** موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صندوق‌پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

چکیده

این تحقیق به‌منظور بررسی کارایی نانوسیل با مالاشیت‌گرین جهت کنترل‌آلودگی‌های قارچی تخم تاسماهی ایرانی و ازون‌برون ارزیابی شد. تیمارنانوسیل با غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تیمار مالاشیت‌گرین با غلظت ppm ۲ و تیمار شاهد هر کدام با سه تکرار در انکوباتورهای یوشچنکو به‌مدت سه روز جهت مقایسه و کنترل آلودگی قارچی و تعیین بهترین غلظت در تیمارهای مختلف روی تخم ماهیان قره‌برون و ازون‌برون در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهیدبهشتی سدسنگر از ماه‌های فروردین تا خرداد سال ۱۳۹۴ مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا مولدین بالغ انتخاب شده و پس از عملیات لقاح، تعداد کل تخم کشت شده، درصد لقاح، درصد تخم‌های قارچ زده، سالم و ناسالم، تخم‌های لقاح یافته، تعداد کل لارو استحصالی و درصد هچ محاسبه گردید. نتایج مقایسه تیمارهای مختلف در قره‌برون نشان داد که کم‌ترین درصد تخم‌های لقاح نیافته، بیش‌ترین درصد تخم‌های سالم، کم‌ترین درصد تخم‌های قارچ زده و بیش‌ترین درصد تفریخ مربوط به تیمار نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد ($P<0/05$). هم‌چنین نتایج مقایسه تیمارهای مختلف در ازون‌برون نشان داد که کم‌ترین درصد تخم‌های لقاح نیافته، کم‌ترین درصد تخم‌های قارچ زده و بیش‌ترین درصد تفریخ مربوط به تیمار نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد ($P<0/05$). در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که داروی نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر اثر موثرتری در درصد تفریخ و ضدعفونی تخم ماهیان خاویاری دارد. لذا با توجه به مضرات مالاشیت‌گرین پیشنهاد می‌گردد از نانوسیل به‌عنوان ماده ضدعفونی کننده جدید استفاده گردد

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، ازون‌برون، نانوسیل، مالاشیت‌گرین

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

پنج گونه از تاس‌ماهیان شامل فیل‌ماهی (*Huso huso*)، تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)، تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) و ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در دریای خزر زیست می‌کنند (Moghim، ۲۰۱۳). تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) جزء ماهیان در خطر انقراض (EN) می‌باشند (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). یکی از مشکلات مهم دوره انکوباسیون تخم بسیاری از گونه‌ها ازجمله تاس‌ماهیان قارچ‌زدگی می‌باشد (Hanjavanit و همکاران، ۲۰۰۸). قارچ‌ها جزء ارگانیسم‌های هتروتروف هستند که برای رشد و تکثیر نیاز به موجودات زنده و غیرزنده دارند (Woo و Bruno، ۲۰۱۱؛ Neish، ۱۹۹۷). سلول‌های قارچ آنزیم‌های گوارشی را آزاد می‌کنند و مواد آلی موجود در محیط را به مواد غذایی قابل جذب تبدیل می‌کنند (Rach و همکاران، ۱۹۹۷). علل زیادی سبب بروز قارچ در بین تخم‌های در حال انکوباسیون می‌شوند که از آن جمله می‌توان خراشیدگی سطح تخم، ذرات شن، ورود سیکلوپس، درجه حرارت، pH و کاهش اکسیژن آب را نام برد (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۸). قارچ ساپرولگنیا از عوامل اصلی قارچ‌زدگی در تخم ماهیان به‌خصوص تاس‌ماهی ایرانی است. این قارچ به تخم‌های مرده چسبیده و پس از رشد به‌داخل دیواره تخم نفوذ کرده و از تخم مرده به تخم‌های زنده منتقل می‌شود و از مهم‌ترین عوامل زیان‌آور به اقتصاد آبزی‌پروران در کشورهای مختلف تلقی می‌شود (Robarts، ۲۰۱۱). بسیاری از گونه‌های ساپرولگنیا به‌عنوان مهاجمان ثانویه فرصت‌طلب به‌دنبال عفونت ناشی از یک عامل اولیه، ماهیان و تخم‌های لقاح یافته را مورد حمله قرار می‌دهد (Shahbazian و همکاران، ۲۰۱۰). هرگونه تغییر در شرایط فیزیولوژیکی ماهی زمینه‌ساز حمله عوامل عفونی ازجمله قارچ ساپرولگنیا می‌باشد (Woo و Bruno، ۲۰۱۱). یکی از رایج‌ترین مواد شیمیایی جهت درمان و یا پیشگیری از این عارضه به‌خصوص در مورد تخم ماهیان مالاشیت‌گرین می‌باشد (Kitancharoen و همکاران، ۱۹۹۸). این ماده از دیرباز به عنوان بهترین ماده موثر در کنترل و درمان قارچ‌زدگی آبزیان مطرح بوده است (Woo و Bruno، ۲۰۱۱؛ Rach و همکاران، ۱۹۹۷؛ Edgell وهمکاران، ۱۹۹۳). اثرات مخرب مالاشیت‌گرین (Dawson و همکاران، ۱۹۹۴) و اثر سرطان‌زایی این ماده (Vanwest، ۲۰۰۶) اثبات شده است. بنابراین، معرفی ماده ضدعفونی کننده دیگری به‌عنوان جایگزین مالاشیت‌گرین از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. پراکسید هیدروژن در غلظت‌های معین به محیط آسیبی نمی‌رساند چون در محیط آب به اکسیژن و آب تجزیه می‌شود. نانوسیل ماده جدیدی است که دارای اثر ضدعفونی کننده بالایی می‌باشد. ترکیب اصلی آن شامل پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و به‌میزان جزئی یون نقره (Ag) است. پراکسید هیدروژن دارای اثر ضدمیکروبی بسیار وسیعی می‌باشد که حضور یون نقره در مقادیر کم، علاوه بر داشتن نقش کاتالیزور، اثر طولانی‌مدت و پایداری پراکسید هیدروژن را تضمین می‌نماید. فعالیت ضدباکتریایی یون نقره و نیز پایداری و ماندگاری اثرات آن در محیط سبب غیرفعال شدن باکتری‌ها می‌گردد. این دو ترکیب در کنار یکدیگر، اثر سینرژیت (تقویت‌کنندگی) نیز نشان می‌دهند (غلام‌قاسمی، ۱۳۸۸). تاکنون مطالعات گسترده‌ای در مورد اثر نانوسیل (پراکسید هیدروژن) در آبزیان انجام شده است که می‌توان به مطالعات آذری‌تاکامی (۱۳۸۶) روی مقایسه نانوسیل با داروهای دیگر نظیر فرمالین، مالاشیت‌گرین و هیدروژن پراکساید و بتادین بر تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بنوره (۱۳۸۶) روی اثرات پراکسیدهیدروژن در کنترل عفونت‌های قارچی تخم، درصد تخم‌گشایی و ناهنجاری لاروقزل‌آلای رنگین‌کمان، غلام‌قاسمی (۱۳۸۸) روی مقایسه داروهای ضدقارچ فرمالین و مالاشیت‌گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر، نوری (۱۳۸۹) روی مقایسه داروهای نانوسیل و پراکسیدهیدروژن در تیمار تخم کپورمعمولی، کهیش اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۹) روی اثرات ضدقارچی تراف نانوسیلور بر تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، Saez و Bowser (۲۰۰۱) روی میزان بازماندگی غلظت پراکسیدهیدروژن مورد استفاده در واحدهای تکثیر و در رودهای دریافت‌کننده پساب در طی و بعد از انجام تیمار پراکسیدهیدروژن، Tort و همکاران (۲۰۰۲) روی اثرات افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن بر آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان، Saygi (۲۰۰۳) روی اثرات پراکسیدهیدروژن، نگه‌داری در سرما و کپسول‌زدایی در میزان درصد تفریخ سیست آرتمیای پارتنوژنتیک، Rach و همکاران (۲۰۰۴) روی اثر پراکسیدهیدروژن بر کنترل ساپرولگنیا در تخم‌های گربه‌ماهی، Shahbazzade و همکاران (۲۰۰۹) روی اثرات نانوسیلور (نانوسیل) در درصد بقا و LC_{50} آن در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و Farmen و همکاران (۲۰۱۲) روی اثرات حاد و تحت کشندگی نانوسیلور (نانوسیل) در ماهی آزاد آتلانتیک در آب سبک دریاچه اشاره کرد. این پژوهش با هدف تعیین جایگزینی داروی ضدقارچ نانوسیل با یون نقره به‌جای مالاشیت‌گرین، انتخاب بهترین داروی ضدقارچ برای بهبود مراحل انکوباسیون و تعیین تأثیر داروهای ضدقارچ روی درصد تفریخ انجام گردید. بنابراین جهت نیل به هدف فوق در این تحقیق کارایی دو داروی ضدقارچی و باکتریایی (مالاشیت‌گرین و نانوسیل) که هریک از جنبه خاصی دارای اهمیت در آبزی‌پروری هستند از نظر شاخص‌های درمانی در تخم تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون بررسی و مقایسه شدند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ماه‌های فروردین تا خرداد سال ۱۳۹۴ در بخش تکثیر و آزمایشگاه مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهیدبهشتی سدسنگر واقع در استان گیلان انجام شد. در طی دوره انکوباسیون، در چند نوبت فاکتورهای مختلف نظیر اکسیژن محلول، دما و pH قبل و بعد از ضدعفونی اندازه‌گیری شد، به‌طوری‌که میانگین اکسیژن محلول، دما و pH آب قبل از ضدعفونی به‌ترتیب برابر با ۱۵/۹،۵/۵و ۷/۵ برای قره‌برون و ۹/۴۵، ۲۰/۴ و ۷/۳ برای ازون‌برون بود. هم‌چنین این مقادیر بعد از ضدعفونی به‌ترتیب برابر با ۹/۷، ۱۵/۵ و ۷/۴ برای قره‌برون و ۷/۸، ۲۱/۱۰ و ۷/۳ برای ازون‌برون بود. در این تحقیق اثر دو ماده ضدعفونی کننده مالاشیت گرین و نانوسیل (پراکسید هیدروژن با یون نقره) روی تخم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser Persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) در تیمارهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. در ابتدا مولدین که پس از تزریق هیپوفیز به مرحله رسیدگی جنسی رسیده بودند را از استخرهای کورانسکی صید کرده و به سالن تکثیر مجتمع منتقل کردند (ابتدا تکثیر قره‌برون و سپس ازون‌برون صورت گرفت). بعد از اسپرم‌گیری و تخم‌کشی، تعداد تخم در یک گرم قبل از آبکشی (۴۷ عدد برای قره‌برون و ۸۸ عدد برای ازون‌برون) و بعد از آبکشی (۲۶ عدد برای قره‌برون و ۶۱ عدد برای ازون‌برون) با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس حدود ۱۰۰ گرم تخم به‌طور یکسان در ۱۵ ظرف انکوباتور یوشچنکو ریخته شد. طبق فرمول زیر تعداد کل تخم کشت شده در انکوباتور محاسبه شد (وهاب زاده و همکاران، ۱۳۸۱):

تعداد کل تخم کشت شده = وزن کل تخم × گرم / تخم

سپس از تخم‌ها نمونه‌گیری شد و با استفاده از لوپ چشمی بررسی و تخم‌های لقاح نیافته، پارتنوژنز و پلی اسپرمی مشخص و درصد لقاح براساس فرمول زیر تعیین گردید (آذری‌تاکامی و کهنه‌شهری، ۱۳۵۳):

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{کل تخم‌ها} - (\text{تخم‌های پارتنوژنز} + \text{تخم‌های پلی‌اسپرمی} + \text{تخم‌های لقاح نیافته})}{\text{تعداد کل تخم‌ها}} \times 100$$

برای انجام این تحقیق نمونه‌ها در ۵ تیمار شاهد، تیمار مالاشیت با غلظت ppm ۲ (میزان رایج در کارگاه) و تیمار نانوسیل با غلظت‌های ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و همگی در سه تکرار تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. بعد از این مرحله غلظت‌های مختلف دارو و میزان دارو و مدت زمان مصرف دارو تعیین گردید. با توجه به این که زمان مصرف دارو در ارتباط تنگاتنگ با مراحل رشد و نمو جنینی است، لذا تعیین مرحله رشد و نمو جنینی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. در این ارتباط از روش به‌کار گرفته شده توسط Dettlaff و همکاران (۱۹۹۳) استفاده شد. در این روش از واحد t_0 استفاده شد که معادل زمان لازم برای تقسیم میتوزی در فاصله زمانی بین ظهور اولین شکاف تا دومین شکاف روی تخم لقاح یافته می‌باشد. پس از مشخص شدن زمان t_0 برای هرگونه ماهی در درجه حرارت مشخص می‌شود که مرحله مورد نظر چند t_0 بطول می‌انجامد. زمان‌های استفاده از دارو نیز در سه مرحله (سه روز) می‌باشد: در خاتمه گاسترولاسیون یا مرحل پانزدهم تا هفدهم رشد جنینی، مرحله بیست و هشتم و بیست و نهم رشد جنینی، مرحله سی‌وسوم رشد جنینی (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۸). پس از محاسبه میزان داروی مورد نیاز برای هر تکرار، نانوسیل به‌صورت حمام‌درمانی استفاده شد، به‌طوری‌که پس از قطع جریان آب، بخشی از آب انکوباتور با مقدار نانوسیل تعیین شده ترکیب و دوباره وارد انکوباتور حاوی تخم شده و به‌مدت زمان ۱۵ دقیقه در این حالت باقی ماند. مالاشیت نیز طبق روش رایج کارگاه همراه با جریان آب (بدون قطع جریان آب) در انکوباتور به‌کار رفت. جهت نحوه محاسبه درصد قارچ‌زدگی تخم‌ها در انتهای زمان مصرف دارو، تعداد ۲۰۰ عدد تخم به‌صورت تصادفی از هر ظرف برداشته و داخل بشر استریل به‌همراه آب انکوباتور ریخته و برای شمارش تخم‌های قارچ زده سالم و ناسالم به آزمایشگاه منتقل و بدین‌ترتیب درصد تخم‌های قارچ‌زده، سالم و ناسالم تعیین گردید (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۴). در انتها نیز محاسبه تعداد تخم‌های لقاح یافته، تعداد کل لارو استحصالی و درصد هچ نیز طبق فرمول‌های زیر انجام گردید (وهاب‌زاده، ۱۳۸۲):

تعداد تخم‌های لقاح یافته = تعداد کل تخم‌های کشت شده × درصد لقاح

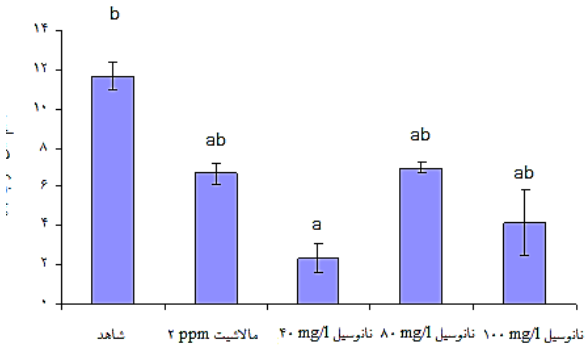
تعداد لارو استحصالی = وزن کل لارو استحصالی × گرم / لارو

درصد تفریخ = ۱۰۰× تعداد تخم لقاح یافته / تعداد لارو

جهت انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها، نرم‌افزارهای SPSS ۱۶ و Excel ۲۰۱۳ مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و میانگین به‌دست آمده از هر آزمایش از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA و جهت تعیین معنی‌دار بودن آزمایشات داروها از روش دانکن و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

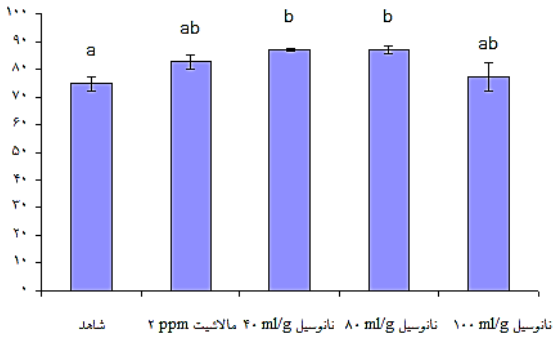
نتایج

براساس نتایج میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$). هم‌چنین میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته در شاهد بیش از ۴ تیمار مورد بررسی بوده است. بنابراین درصد تخم‌های لقاح نیافته در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($P<0/05$) (شکل ۱).



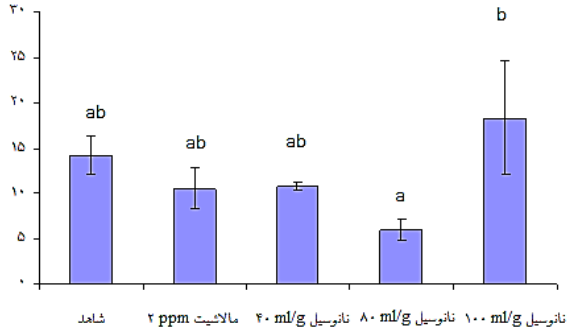
شکل ۱: نمودارمقایسه میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی

میانگین درصد تخم‌های سالم ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$)، چنان‌که میانگین درصد تخم‌های سالم در نانوسیل ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر بیش از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که کم‌ترین میزان تخم‌های سالم در گروه شاهد مشاهده شد (شکل ۲).

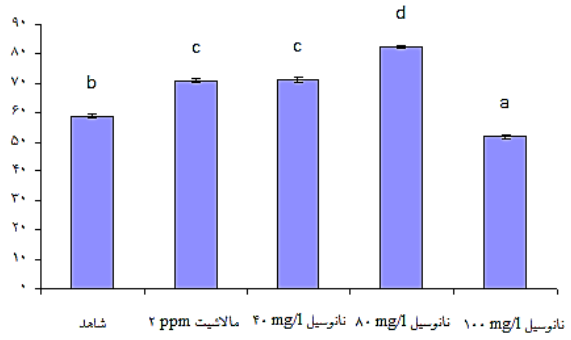


شکل ۲: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های سالم قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی

نتایج نشان داد که میانگین درصد تخم‌های قارچی ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰،۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$)، به‌طوری‌که میانگین درصد تخم‌های قارچی در نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر کم‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که بیش‌ترین میزان تخم‌های قارچ‌زده در تیمار نانوسیل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد مشاهده شد (شکل ۳). در این بین میانگین درصد تفریخ ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$)، ضمن این‌که میانگین درصد تفریخ در نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که کم‌ترین میزان درصد هچ در تیمار نانوسیل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد مشاهده شد (شکل ۴).



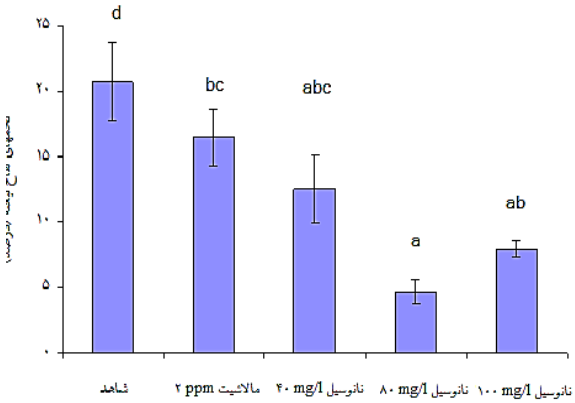
شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های قارچی قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی



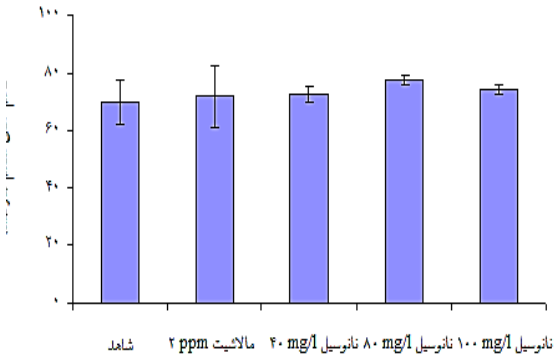
شکل ۴: نمودار مقایسه میانگین درصد تفریخ قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی

براساس آزمون واریانس یک‌طرفه میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$) و براساس آزمون دانکن، میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته به‌ترتیب در نانوسیل ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کم‌تر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$) (شکل ۵). از طرفی میانگین درصد تخم‌های سالم ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری نبود ($P>0/05$) (شکل ۶). ضمن این‌که میانگین درصد تخم‌های قارچی ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰،۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P<0/05$) و میانگین درصد تخم‌های قارچی در نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر کم‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که بیش‌ترین میزان تخم‌های قارچی در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۷). درصد تفریخ ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰،۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای

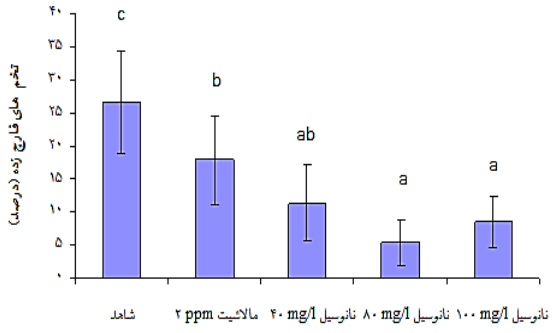
اختلاف معنی‌دار آماری بود (P<۰/۰۵)و میانگین درصد تفریخ در نانوسیل ۸۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که کم‌ترین میزان تفریخ در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۸).



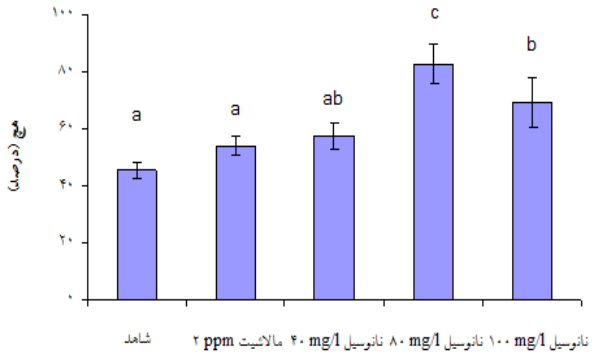
شکل ۵: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته ازون‌برون در تیمارهای مورد بررسی



شکل ۶: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های سالم ازون‌برون در تیمارهای مورد بررسی



شکل ۷: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های قارچی ازون‌برون در تیمارهای مورد بررسی



شکل ۸: نمودار مقایسه میانگین درصد تفریخ ازون‌برون در تیمارهای مورد بررسی

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در قره‌برون، نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر و سپس ۴۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌ترین تأثیر را در مهار عوامل قارچی داشته‌اندو بین مالاشیت‌گرین و نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری وجود دارد. از نظر درصدهچ در قره‌برون، نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر، بیش‌ترین‌میزان درصد تفریخ را داشته و مالاشیت‌گرین از نظر میزان درصد تفریخ در قره‌برون با نانوسیل ۴۰میلی‌گرم‌در لیتر اختلاف معنی‌داری ندارد. در ازون‌برون به‌ترتیب نانوسیل با غلظت ۸۰ ،۱۰۰، ۴۰میلی‌گرم‌در لیتر بیش‌ترین تأثیر را در کنترل عوامل قارچی داشته‌اند و مالاشیت بعد از نانوسیل،رتبه بعدی‌را درمهار عوامل قارچی داشته است. هم‌چنین از نظر درصد تفریخ نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌ترین میزان درصد تفریخ را داشته است و مالاشیت‌گرین بعد از نانوسیل در رتبه‌بعدی ازنظر افزایش‌میزان درصد هچ قرار دارد. استفاده از نانوسیل دارای مزیت جداسازی تخم‌های قارچ‌زده می‌باشد و به محض ورود نانوسیل به آب، تخم‌های آلوده به قارچ بر اثر چسبیدن حباب‌های اکسیژن آزاد شده و بافت قارچ به سطح آب انکوباتور آمده و از سایر تخم‌ها جدا شدند که این امر موجب سهولت جمع‌آوری منابع آلودگی بدون آسیب‌رساندن به تخم‌های سالم بر اثر جـابجایی‌وقارچ‌گیری می‌شود. بنوره (۱۳۸۶) بیان کرد که پراکسیدهیدروژن‌داروی مناسبی برای به‌کارگیری در کنترل بهداشتی کارگاه‌های تکثیر قزل‌آلا است و در بازماندگی‌ودرصدتخم‌گشایی‌اثرمناسبی‌دارد. آذری‌تاکامی (۱۳۸۶) با مقایسه نانوسیل با سایر داروها نظیر فرمالین، مالاشیت‌گرین و هیدروژن پراکساید و بتادین روی‌تخم‌ماهی‌قزل‌آلای‌رنگین‌کمان به این نتیجه رسید که نانوسیل بـا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث

افزایش چشم‌زدگی و تخم‌گشایی و کاهش تلفات شده و روی دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌ها، مخمرها و اسپورهای قارچی مؤثر بوده و دارای خاصیت ضدعفونی کنندگی مؤثری می‌باشد که نتایج آن با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. به‌طوری‌که نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر در قره‌برون و ازون‌برون نیز دارای اثرات مشابه از نظر کاهش عوامل قارچی و ضدعفونی کردن تخم‌ها و افزایش تخم‌گشایی و درصد تفریخ می‌باشد. غلام‌قاسمی (۱۳۸۸) با مقایسه بین داروهای ضدقارچ فرمالین و مالاشیت‌گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر نشان داد که تیمار نانوسیل با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم به‌مدت ۱ ساعت، عوامل قارچی را کنترل می‌کند و میزان تخم‌گشایی را افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر نیز نتایج نشان داد که نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر و سپس ۱۰۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر عوامل قارچی را کاهش داده و میزان تفریخ را افزایش می‌دهد. نوری (۱۳۸۹) مقایسه‌ای بین داروهای نانوسیل و پراکسیدهیدروژن در تیمار تخم کپور معمولی انجام داد و نتیجه گرفت پراکسیدهیدروژن علاوه بر کنترل قارچ‌زدگی، درصد تفریخ را در تیمارها بالا برده است. کهیش‌اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۹) اثرات ضدقارچی تراف نانوسیلور را روی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کرد و به این نتیجه رسید که به‌علت خواص نانوسیل از قبیل خوراکی بودن، غیرمضر بودن، دوست‌دار محیط‌زیست بودن و نیز اثرات سوء و ممنوعیت استفاده از مالاشیت‌گرین می‌توان تراف نانوسیلور را به‌عنوان جایگزین مناسب برای مالاشیت‌گرین در نظر گرفت.

قزوینی و همکاران (۱۳۹۲) بیان کردند که تیمار نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری عملکرد بهتری نسبت به سایر غلظت‌ها و سایر داروها (پراکسید هیدروژن و کلرامین T) در مهار عوامل قارچی در لاروهای تاس‌ماهی ایرانی داشته است. بررسی اثر تیمارهای پراکسیدهیدروژن در بیماری *Amyloodinium.sp* لارو کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) نشان داد تیمارهای ۳۰ دقیقه‌ای پراکسیدهیدروژن در غلظت ppm ۲۵ بدون هیچ آسیبی به لاروها در درمان بیماری مؤثر واقع شد (Montgomery-Brock و همکاران، ۲۰۰۰). Saez و Bowser (۲۰۰۱) با مطالعه روی میزان بازماندگی پراکسید هیدروژن مورد استفاده در واحدهای تکثیر و در رودهای دریافت‌کننده پساب در طی و بعد از انجام تیمار پراکسیدهیدروژن بیان کرد که نیمه‌عمر این ماده ۲۸/۴ دقیقه است. Tort و همکاران (۲۰۰۲) اثرات افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن روی آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان را مورد بررسی قرار دادند و عنوان نمودند که سمیت پراکسیدهیدروژن وابسته به فاکتورهایی نظیر سن ماهی، غلظت و میزان زمان استعمال دارو است. Saygi (۲۰۰۳) اثرات پراکسیدهیدروژن، نگه‌داری در سرما و کپسول‌زدایی را در میزان درصد تفریخ سیست آرتمیای پارتنوژنتیک مورد بررسی قرار داده و بیان کرد که پراکسیدهیدروژن موجب افزایش درصد تفریخ اولیه (بعد از ۲۴ ساعت) شده ولی درصد تفریخ نهایی (بعد از ۷۲ ساعت) تفاوتی با شاهد نداشت. Rach و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی اثر پراکسید هیدروژن بر کنترل ساپرولگنیا در تخم‌های گربه ماهی بیان کردند که تیمار هیدروژن پراکسیدهیدروژن مرگ و میر را کاهش و درصد تخم‌گشایی را افزایش می‌دهد. Shahbazzade و همکاران (۲۰۰۹) در مورد اثرات نانوسیلور (نانوسیل) در درصد بقا و LC_{50} آن در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعاتی انجام دادند و نتایج نشان داد نانوسیل به‌عنوان ضدعفونی کننده ایمن‌تر از سایر ضدعفونی کننده‌های شیمیایی شناخته شده است. Farmen و همکاران (۲۰۱۲) طی تحقیقی اثرات حاد و تحت‌کشندگی نانوسیلور (نانوسیل) را در ماهی آزاد آتلانتیک در آب سبک دریاچه بررسی کردند و بیان کردند که تغییرپذیری در اثرات نانوسیلور احتمالاً به‌علت تغییر در غلظت‌های آن می‌باشد.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که داروی نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با تیمارهای دیگر به‌عنوان داروی ضدقارچ موثرتری در ضدعفونی تخم‌های ماهیان خاویاری (قره‌برون و ازون‌برون) می‌باشد. ماده مؤثره این فراورده هیدروژن پراکساید بوده که به آب و اکسیژن تجزیه شده که هیچ خطری از نظر بهداشتی و زیست محیطی ندارد. در مورد درصد تفریخ نیز نتایج نشان می‌دهد که درصد تفریخ در نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. بنابراین با توجه به مضرات مالاشیت‌گرین و مزایای منحصربه‌فرد نانوسیل از جمله کم خطر بودن از نظر بهداشتی و سازگار با محیط‌زیست و مقرون به‌صرفه بودن از نظر اقتصادی، نانوسیل می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت‌گرین در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی باشد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهیدبهشتی سدسنگر ابراز می‌دارند.

منابع

۱. **ابطحی، ب.؛ نظری، ر.م.؛ رسولی، ع. و شفیع‌زاده‌سماکوش، پ.، ۱۳۸۴.** مقایسه شاخص درمانی داروهای ضدقارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاس‌ماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. شماره ۶۷، صفحات ۴۲ تا ۴۹.

۲. **آذری‌تاکامی، ق. و کهنه‌شهری، م.، ۱۳۵۳**. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۹۸ صفحه.

۳. **آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۸۶**. گزارش نهایی پروژه معرفی ماده ضد عفونی کننده جایگزین مالاشیت گرین در مزارع تکثیر ماهیان سردآبی. ۳۰ صفحه.

۴. **آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۸۸**. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. ۴۰۶ صفحه.

۵. **بنوره، ا.، ۱۳۸۶**. اثرات پراکسید هیدروژن بر عفونت‌های قارچی، درصد تخم‌گشایی و ناهنجاری‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. ۴۵ صفحه.

۶. **عبدلی، ا. و نادری، م.، ۱۳۸۷**. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. تهران. انتشارات علمی آبزیان. ۲۴۲ صفحه.

۷. **غلام‌قاسمی، م.، ۱۳۸۸**. بررسی مقایسه‌ای داروهای ضدقارچ فرمالین، مالاشیت‌گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صفحات ۵ تا ۳۰.

۸. **قزوینی، ا.؛ وهاب‌زاده رودسری، ح.؛ چمن‌آرا، و.؛ آذری‌تاکامی، ق. و شناورماسوله، ع.ر.، ۱۳۹۲**. مقایسه نانوسید، پراکسید هیدروژن و کلرامین T در کاهش فلور قارچی لارو تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله شیلات. سال ۷، شماره ۱، صفحات ۱۳ تا ۲۰.

۹. **کهیش‌اسفندیاری، م.؛ سلطانی، م. و سجادی، م.م.، ۱۳۸۹**. اثرات ضدقارچی تراف نانوسیلور روی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و لارو تا وزن یک گرمی. مجله آبزیان و شیلات. سال ۱، شماره ۲، صفحات ۶۳ تا ۷۴.

۱۰. **نوری، م.، ۱۳۸۹**. مقایسه اثر ضدقارچی نانوسیل و پراکسید هیدروژن بر تخم‌های لقاح یافته ماهی کپورمعمولی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۷۵ صفحه.

۱۱. **وهاب‌زاده، ح.؛ احمدی، م.؛ کیوان، ا.؛ معصومیان، م. و منجمی، ب.، ۱۳۸۱**. مقایسه کارایی پراکسیدهیدروژن و مالاشیت‌گرین در مقابله با قارچ‌های آبی در تکثیر مصنوعی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علوم و فنون دریایی ایران. دوره ۲، شماره ۱، صفحات ۷۷ تا ۸۵.

۱۲. **وهاب‌زاده، ح.، ۱۳۸۲**. ارزیابی کارایی پراکسیدهیدروژن و لوامیزول هیدروکلراید در تیمار تخم‌ها و نوزاد تاس‌ماهی ایرانی و کپور ماهیان چینی. رساله دکترا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۰۷ صفحه.

۱۳. **Dawson, V.K.; Rach, J.J. and Schreier, T.M., 1994**. Hydrogen peroxide as a fungicide for fish culture. Bulletion of the Aquaculture Association of Canada. Vol. 94, No. 2, pp: 54-56.

۱۴. **Dettlaff, T.A.; Ginsburg, A.S. and Schmalhausen, O.I., 1993.** Sturgeon fishes. Translated by Gause, G.G. and Vassetzky, S.G. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 300 P.

۱۵. **Durborow, R.M.; Wise, D.J. and Terhune, J.S., 2003**. Saprolegniasis (Winter Fungus) and Branchiomycosis of commercially Cultured Channel Catfish. SRAC Publication. 4700 P.

۱۶. **Edgell, P.; Lawseth, D.; Mclean, W.E. and Britton, E.W., 1993**. The use of salt solution to control fungus (Saprolegnia) infestation on salmon eggs. The Progressive Fish-Culturist. Vol. 55, pp: 48-52.

۱۷. **Farmen, E.; Mikkelsen, H.N.; Evensen, O.; Einset, J.; Heier, L.S.; Rosseland, B.O.; Salbu, B.; Tollefsen, K.E. and Oughton, D.H., 2012**. Acute and sub-lethal effects in juvenile Atlantic salmon exposed to low µg/L concentrations of Ag nanoparticles. Aquat. Toxicol. Vol. 108, pp: 78-84.

۱۸. **Hanjavanit, C.; Kitancharoen, N. and Rakmanee, C., 2008**. Experimental Infection of Aqauatic Fungi on Eggs of African Catfish (*clariass gariepinus*). KKU Science Journal. Vol. 36, pp: 36-43.

۱۹. **Kitancharoen, N.; Yamamoto, A. and Hatai, K., 1998**. Effect of Sodium Chlorid, Hydrogen peroxide and Malachit green on fungal infection in Rainbow trout eegs. Biocontrol Science. Vol. 3, No. 2, pp: 113-115.

۲۰. **Moghim, M., 2013**. Isolation, characterization and application of micro-satellite markers in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. Ph.D. Thesis. University Putra Malaysia. 277 P.

۲۱. **Montgomery-Brock, D.; Sylvester, J.Y.; Tamaru, C.T. and Brock, J., 2000**. Hydrogen peroxide treatment for *Amyloodinium sp.* on Mullet (*Mugil cephalus*) fry. The oceanic institute and the university of Hawaii. Vol. 11, No. 4, pp: 4-6.

۲۲. **Neish, G.A., 1977.** Observations on Saprolegniasis of adult Sockeye salmon, *oncorhynchus nerka* (walbaum). Journal of Fish Biology. Vol. 10, No. 4, pp: 513-522.

۲۳. **Rach, J.J.; How, G.E. and Schreier, T.M., 1997**. Safety of formalin treatments on warm and coolwater fish eggs. Aquaculture. Vol. 149, pp: 183-191.

۲۴. **Rach, J.J.; Schreier, T.M.; Howe, G.E. and Redman, S.D., 1997.** Effect of Species, life Stage, and water Temperature on the Toxicity of Hydrogen peroxide to Fish. The Progressive Fish-Culturist. Vol. 59, pp: 41-46.

۲۵. **Rach, J.J.; Valentine, J.J.; Schreier, T.M.; Gaikowski, M.P. and Crawford, T.G. 2004**. Efficacy of hedrogen peroxide to control Saprolegniasis on channel catfish (*Ichtalurus Punctatus*) eggs. Aquaculture. Vol. 238, pp: 135-142.

۲۶. **Robarts, J.R., 2011**. Fish pathology. Third edition. Sunders: UK. pp: 380-412.

۲۷. **Saez, J.A. and Bowser, P.R., 2001**. Hydrogen Peroxide Concentration in Hatchery Culture Units and Effluent During

and after treatment. North American Journal of Aquaculture. Vol. 63, pp: 74-78.

۲۸. **Saygi, Y., 2003**. EffectS of Hydrogen Peroxide, Cold Storage and Decapsulation on the Hatching Success of Artemia Cysts. The Israeli Journal of Aquaculture Bamigdeh. Vol. 55, No. 2, pp: 107-113.

۲۹. **Shahbazian, N.; Ebrahimzadeh Mousavi, H.A.; Soltani, M.; Khosravi, A.R.; Mirzargar, S.S. and Sharifpour, I., 2010**. Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 9, No. 1, pp: 151-160.

۳۰. **Shahbazzadeh, D.; Ahar, H.; Mohammad Rahimi, N.; Dastmalchi, F.; Soltani, M.; Rahmannya, J.; Khorasani, N. and Fotovat, M. 2009.** The effects of Nanosilver (Nanocid) on Survival percentage of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pakistan Journal of Nutrition. Vol. 8, No. 8, pp: 1178-1179.

۳۱. **Tort, M.J.; Jennings-Bashore, C.; Wilson, D.; Wooster, G.A. and Bowser, P.R., 2002**. Assessing the Effect of Increasing Hydrogen Peroxide Dosage on Rainbow Trout Gill Utilizing a Digitized Scoring Methodology. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 14, pp: 95-103.

۳۲. **Vanwest, P., 2006**. *Saproleegnia Parasitica*, an Oomycete Pathogen with a fishy appetite: New challenges for an old problem. Mycologist. Vol. 20, pp: 99-104.

۳۳. **Woo, P.T.K. and Bruno, D.W., 2011**. Fish diseases and disorders. In: viral, bacterial and fungal infections. CAB international publication. 930 P.