

ارزیابی مقایسه نانوسیل (پراکسید هیدروژن با یون نقره) و مالاشیت گرین در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهیان قره برون (*Acipenser persicus*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*)

- **سید محمد شفیع زاده:** گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۳۵۱۶
- **حسین خارا*:** گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶
- **علیرضا شناور ماسوله:** موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۳۵۱۶

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی کارایی نانوسیل با مالاشیت گرین جهت کنترل آلودگی های قارچی تخم تاسماهی ایرانی و ازون برون ارزیابی شد. تیمار نانوسیل با غلظت های ۴۰، ۸۰، ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، تیمار مالاشیت گرین با غلظت ۲ ppm و تیمار شاهد هر کدام با سه تکرار در انکوباتورهای یوشنکو به مدت سه روز جهت مقایسه و کنترل آلودگی قارچی و تعیین بهترین غلظت در تیمارهای مختلف روی تخم ماهیان قره برون و ازون برون در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سگر از ماه های 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 تخم های قارچ زده، سالم و ناسالم، تخم های لقاح یافته، تعداد کل لارو استحصالی و درصد هچ محاسبه گردید. نتایج مقایسه تیمارهای مختلف در قره برون نشان داد که کمترین درصد تخم های لقاح نیافته، بیشترین درصد تخم های سالم، کمترین درصد تخم های قارچ زده و بیشترین درصد تفریخ مربوط به تیمار نانوسیل ۸۰ میلی گرم در لیتر می باشد ($P < 0/05$). همچنین نتایج مقایسه تیمارهای مختلف در ازون برون نشان داد که کمترین درصد تخم های لقاح نیافته، کمترین درصد تخم های قارچ زده و بیشترین درصد تفریخ مربوط به تیمار نانوسیل ۸۰ میلی گرم در لیتر می باشد ($P < 0/05$). در یک نتیجه گیری کلی می توان گفت که داروی نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر اثر موثرتری در درصد تفریخ و ضد عفونی تخم ماهیان خاویاری دارد. لذا با توجه به مضرات مالاشیت گرین پیشنهاد می گردد از نانوسیل به عنوان ماده ضد عفونی کننده جدید استفاده گردد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، ازون برون، نانوسیل، مالاشیت گرین



مقدمه

پنج گونه از تاس ماهیان شامل فیل ماهی (*Huso huso*)، تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، ازون برون (*Acipenser stellatus*)، تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) و ماهی شپ (*Acipenser nudiventris*) در دریای خزر زیست می کنند (Moghim, 2013). تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*) جزء ماهیان در خطر انقراض (EN) می باشند (عبدلی و نادری، 1387). یکی از مشکلات مهم دوره انکوباسیون تخم بسیاری از گونه ها از جمله تاس ماهیان قارچ زدگی می باشد (Hanjavanit و همکاران، 2008). قارچ ها جزء ارگاناسم های هتروتروف هستند که برای رشد و تکثیر نیاز به موجودات زنده و غیرزنده دارند (Bruno و Woo، 2011؛ Neish، 1997). سلول های قارچ آنزیم های گوارشی را آزاد می کنند و مواد آلی موجود در محیط را به مواد غذایی قابل جذب تبدیل می کنند (Rach و همکاران، 1997). علل زیادی سبب بروز قارچ در بین تخم های در حال انکوباسیون می شوند که از آن جمله می توان خراشیدگی سطح تخم، ذرات شن، ورود سیکلوپس، درجه حرارت، pH و کاهش اکسیژن آب را نام برد (آذری تاکامی، 1388). قارچ ساپروولگنیا از عوامل اصلی قارچ زدگی در تخم ماهیان به خصوص تاس ماهی ایرانی است. این قارچ به تخم های مرده چسبیده و پس از رشد به داخل دیواره تخم نفوذ کرده و از تخم مرده به تخم های زنده منتقل می شود و از مهم ترین عوامل زیان آور به اقتصاد آبی پروران در کشورهای مختلف تلقی می شود (Robarts، 2011). بسیاری از گونه های ساپروولگنیا به عنوان مهاجمان ثانویه فرصت طلب به دنبال عفونت ناشی از یک عامل اولیه، ماهیان و تخم های لقاح یافته را مورد حمله قرار می دهد (Shahbazian و همکاران، 2010). هرگونه تغییر در شرایط فیزیولوژیکی ماهی زمینه ساز حمله عوامل عفونی از جمله قارچ ساپروولگنیا می باشد (Woo و Bruno، 2011). یکی از رایج ترین مواد شیمیایی جهت درمان و یا پیشگیری از این عارضه به خصوص در مورد تخم ماهیان مالاشیت گرین می باشد (Kitancharoen و همکاران، 1998). این ماده از دیرباز به عنوان بهترین ماده موثر در کنترل و درمان قارچ زدگی آبزیان مطرح بوده است (Woo و Bruno، 2011؛ Rach و همکاران، 1997؛ Edgell و همکاران، 1993). اثرات مخرب مالاشیت گرین (Dawson و همکاران، 1994) و اثر سرطان زایی این ماده (Vanwest، 2006) اثبات شده است. بنابراین، معرفی ماده ضد عفونی کننده دیگری به عنوان جایگزین مالاشیت گرین از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. پراکسید هیدروژن در غلظت های معین به محیط آسیدی نمی رساند چون در محیط آب به اکسیژن و آب تجزیه می شود. نانوسیل ماده جدیدی است که دارای اثر ضد عفونی کننده بالایی می باشد. ترکیب اصلی آن شامل پراکسید

هیدروژن (H_2O_2) و به میزان جزئی یون نقره (Ag) است. پراکسید هیدروژن دارای اثر ضد میکروبی بسیار وسیعی می باشد که حضور یون نقره در مقادیر کم، علاوه بر داشتن نقش کاتالیزور، اثر طولانی مدت و پایداری پراکسید هیدروژن را تضمین می نماید. فعالیت ضد باکتریایی یون نقره و نیز پایداری و ماندگاری اثرات آن در محیط سبب غیرفعال شدن باکتری ها می گردد. این دو ترکیب در کنار یکدیگر، اثر سینرژیت (تقویت کنندگی) نیز نشان می دهند (غلام قاسمی، 1388). تاکنون مطالعات گسترده ای در مورد اثر نانوسیل (پراکسید هیدروژن) در آبزیان انجام شده است که می توان به مطالعات آذری تاکامی (1386) روی مقایسه نانوسیل با داروهای دیگر نظیر فرمالین، مالاشیت گرین و هیدروژن پراکسید و بتادین بر تخم های ماهی قزل آلا رنگین کمان، بنوره (1386) روی اثرات پراکسید هیدروژن در کنترل عفونت های قارچی تخم، درصد تخم گشایی و ناهنجاری لارو قزل آلا رنگین کمان، غلام قاسمی (1388) روی مقایسه داروهای ضد قارچ فرمالین و مالاشیت گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر، نوری (1389) روی مقایسه داروهای نانوسیل و پراکسید هیدروژن در تیمار تخم کپور معمولی، کهایش اسفندیاری و همکاران (1389) روی اثرات ضد قارچی تراف نانوسیلور بر تخم ماهی قزل آلا رنگین کمان، Saez و Bowser (2001) روی میزان بازماندگی غلظت پراکسید هیدروژن مورد استفاده در واحدهای تکثیر و در رودهای دریافت کننده پساب در طی و بعد از انجام تیمار پراکسید هیدروژن، Tort و همکاران (2002) روی اثرات افزایش غلظت پراکسید هیدروژن بر آبشش قزل آلا رنگین کمان، Saygi (2003) روی اثرات پراکسید هیدروژن، نگره داری در سرما و کپسول زدایی در میزان درصد تفریخ سیستم آرتمیای پارتنوژنتیک، Rach و همکاران (2004) روی اثر پراکسید هیدروژن بر کنترل ساپروولگنیا در تخم های گربه ماهی، Shahbazzade و همکاران (2009) روی اثرات نانوسیلور (نانوسیل) در درصد بقا و LC₅₀ آن در بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان و Farmen و همکاران (2012) 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 ضد قارچ نانوسیل با یون نقره به جای مالاشیت گرین، انتخاب بهترین داروی ضد قارچ برای بهبود مراحل انکوباسیون و تعیین تأثیر داروهای ضد قارچ روی درصد تفریخ انجام گردید. بنابراین جهت نیل به هدف فوق در این تحقیق کارایی دو داروی ضد قارچی و باکتریایی (مالاشیت گرین و نانوسیل) که هریک از جنبه خاصی دارای اهمیت در آبی پروری هستند از نظر شاخص های درمانی در تخم تاس ماهی ایرانی و ازون برون 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 ۱۵/۵ و ۱۵/۹ و ۷/۵ برای قره‌برون و ۲۰/۴، ۹/۴۵ و ۷/۳ برای ازون‌برون بود. هم‌چنین این مقادیر بعد از ضدعفونی به‌ترتیب برابر با ۱۵/۵ و ۷/۴ برای قره‌برون و ۲۱/۱۰، ۷/۸ و ۷/۳ برای ازون‌برون بود. در این تحقیق اثر دو ماده ضدعفونی‌کننده مالاشیت‌گرین و نانوسیل (پراکسید هیدروژن بایون 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 دیجیتالی 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):

$$100 \times (\text{تخم‌های پارتنوژنز} + \text{تخم‌های پلی اسپرمی} + \text{تخم‌های لقاح نیافته}) - \text{کل تخم‌ها} = \text{درصد لقاح}$$

تعداد کل تخم‌ها

برای انجام این تحقیق نمونه‌ها در ۵ تیمار شاهد، تیمار مالاشیت با غلظت ۲ ppm (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 مرحله 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 بدین ترتیب 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 هج 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 = $100 \times$ تعداد تخم لقاح یافته / تعداد لارو

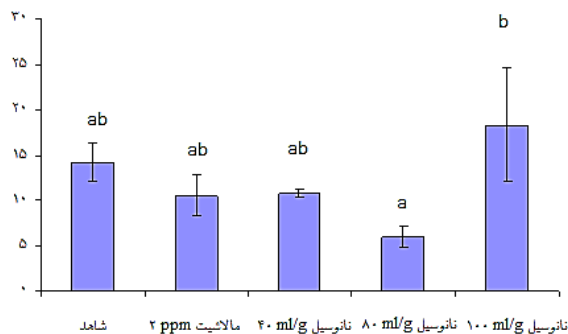
جهت انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها، نرم‌افزارهای SPSS ۱۶ و Excel ۲۰۱۳ مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و میانگین به‌دست آمده از هر آزمایش از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA و جهت تعیین معنی‌دار بودن آزمایشات داروها از روش دانکن و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

نتایج

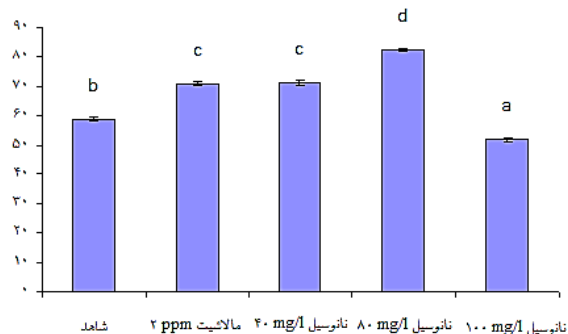
براساس نتایج میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهده‌داری اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$). هم‌چنین میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته در شاهد بیش از ۴ تیمار مورد بررسی بوده است. بنابراین درصد تخم‌های لقاح نیافته در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) (شکل ۱).



تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که کم‌ترین میزان درصد هج در تیمار نانوسیل ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و شاهد مشاهده شد (شکل ۴).

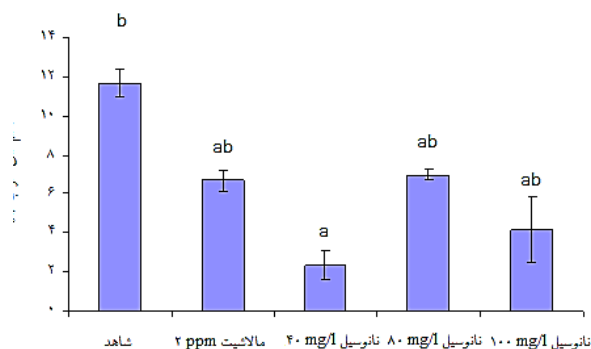


شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های قارچی قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی



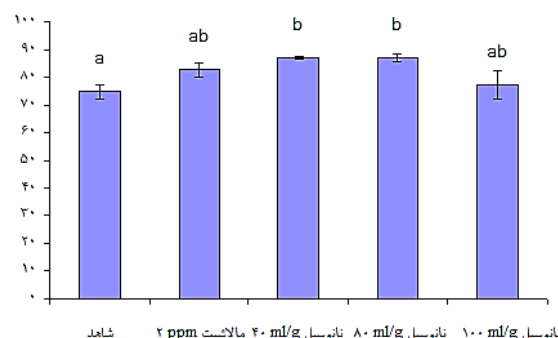
شکل ۴: نمودار مقایسه میانگین درصد تفریخ قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی

براساس آزمون واریانس یک‌طرفه میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$) و براساس آزمون دانکن، میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته به ترتیب در نانوسیل ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم 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 میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری نبود ($P > 0.05$) (شکل ۶). ضمن این که میانگین درصد تخم‌های قارچی ماهی ازون‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$) و میانگین درصد تخم‌های قارچی در نانوسیل ۸۰ میلی گرم 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 میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای



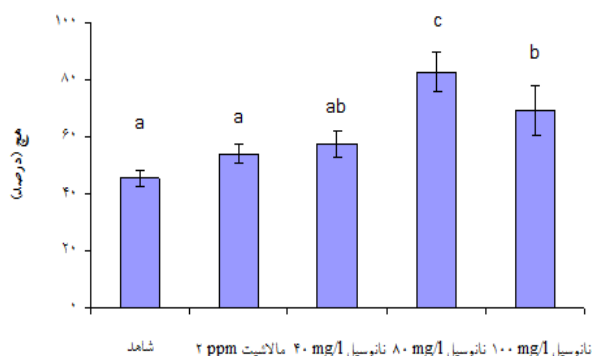
شکل ۱: نمودار مقایسه میانگین درصد تخم‌های لقاح نیافته قره‌برون در تیمارهای مورد بررسی

میانگین درصد تخم‌های سالم ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$)، چنان‌که میانگین درصد تخم‌های سالم در نانوسیل ۴۰ و ۸۰ میلی گرم 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 میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که میانگین درصد تخم‌های قارچی در نانوسیل ۸۰ میلی گرم در لیتر کمتر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که بیش‌ترین میزان تخم‌های قارچی زده در تیمار نانوسیل ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و شاهد مشاهده شد (شکل ۳). در این بین میانگین درصد تفریخ ماهی قره‌برون در تیمارهای نانوسیل ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و مالاشیت‌گرین با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$)، ضمن این که میانگین درصد تفریخ در نانوسیل ۸۰ میلی گرم در لیتر بیش‌تر از سایر

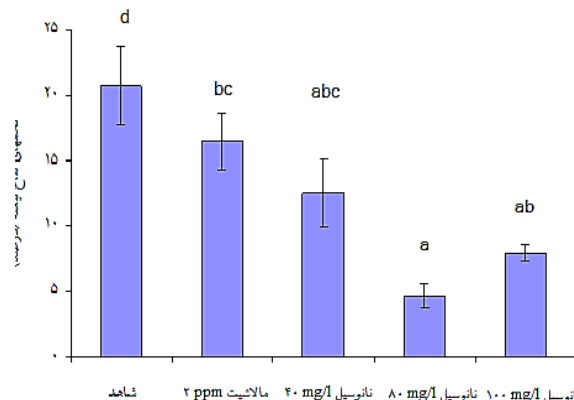


شکل ۸: نمودار مقایسه میانگین درصد تفریخ ازون برون در تیمارهای مورد بررسی

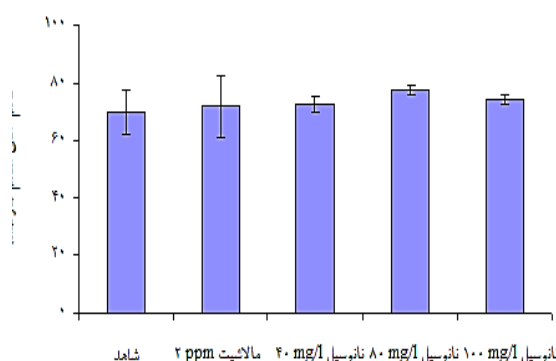
بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در قره برون، نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر و سپس ۴۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در مهار عوامل قارچی داشته‌اند و بین مالاکیت‌گryn و نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری وجود دارد. از نظر درصد هچ در قره برون، نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر، بیشترین میزان درصد تفریخ را داشته و مالاکیت‌gryn از نظر میزان درصد تفریخ در قره برون با نانوسیل ۴۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری ندارد. در ازون برون به ترتیب نانوسیل با غلظت ۸۰، ۱۰۰، ۴۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در کنترل عوامل قارچی داشته‌اند و مالاکیت بعد از نانوسیل، رتبه بعدی را در مهار عوامل قارچی داشته است. همچنین از نظر درصد تفریخ نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر بیشترین میزان درصد تفریخ را داشته است و مالاکیت‌gryn بعد از نانوسیل رتبه بعدی از نظر افزایش میزان 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 جابجایی و قارچ‌گیری می‌شود. بنوره (۱۳۸۶) بیان کرد که پراکسید هیدروژن داروی مناسبی برای به‌کارگیری در کنترل بهداشتی کارگاه‌های تکثیر قزل‌آلا است و در بازماندگی و درصد تخم‌گشایی اثر مناسبی دارد. آذری تاکامی (۱۳۸۶) با مقایسه نانوسیل با سایر داروها نظیر فرمالین، مالاکیت‌gryn و هیدروژن پراکساید و بتادین روی تخم‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به این نتیجه رسید که نانوسیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر باعث

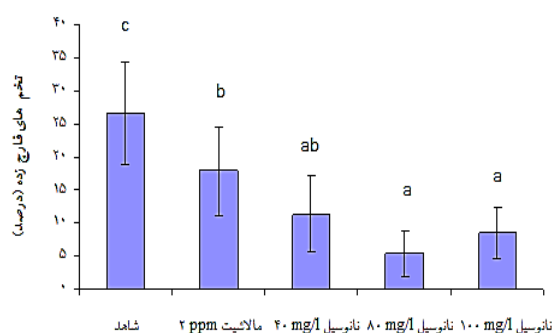
اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$) و میانگین درصد تفریخ در نانوسیل ۸۰ میلی گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج نشان می‌دهند که کم‌ترین میزان تفریخ در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۸).



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



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



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



افزایش چشم‌زدگی و تخم‌گذاری و کاهش تلفات شده و روی دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌ها، مخمرها و اسپورهای قارچی مؤثر بوده و دارای خاصیت ضد عفونی کنندگی مؤثری می‌باشد که نتایج آن با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. به‌طوری‌که نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر در قره‌برون و ازون‌برون نیز دارای اثرات مشابه از نظر کاهش عوامل قارچی و ضد عفونی کردن تخم‌ها و افزایش تخم‌گذاری و درصد تفریخ می‌باشد. غلام‌قاسمی (۱۳۸۸) با مقایسه بین داروهای ضد قارچ فرمالین و مالاشیت گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر نشان داد که تیمار نانوسیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم به مدت ۱ ساعت، عوامل قارچی را کنترل می‌کند و میزان تخم‌گذاری را افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر نیز نتایج نشان داد که نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر و سپس ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر عوامل قارچی را کاهش داده و میزان تفریخ را افزایش می‌دهد. نوری (۱۳۸۹) مقایسه‌ای بین داروهای نانوسیل و پراکسید هیدروژن در تیمار تخم کپور معمولی انجام داد و نتیجه گرفت پراکسید هیدروژن علاوه بر کنترل قارچ‌زدگی، درصد تفریخ را در تیمارها بالا برده است. کهایس اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۹) اثرات ضد قارچی تراف نانوسیلور را روی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کرد و به این نتیجه رسید که به‌علت خواص نانوسیل از قبیل خوراکی بودن، غیر مضر بودن، دوست‌دار محیط زیست بودن و نیز اثرات سوء و ممنوعیت استفاده از مالاشیت گرین می‌توان تراف نانوسیلور را به‌عنوان جایگزین مناسب برای مالاشیت گرین در نظر گرفت.

قزویی و همکاران (۱۳۹۲) بیان کردند که تیمار نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم 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 پراکسید هیدروژن در بیماری *Amyloodinium.sp* لارو کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) نشان داد تیمارهای ۳۰ دقیقه‌ای پراکسید هیدروژن در غلظت ۲۵ ppm 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 پراکسید هیدروژن بیان کرد که نیمه عمر این ماده ۲۸/۴ دقیقه است. Tort و همکاران (۲۰۰۲) اثرات افزایش غلظت پراکسید هیدروژن روی آبشش قزل‌آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند و عنوان نمودند که سمیت پراکسید هیدروژن وابسته به فاکتورهای نظیر سن ماهی، غلظت و میزان زمان استعمال دارو است. Saygi (۲۰۰۳) اثرات پراکسید هیدروژن، نگهداری در سرما و کپسول‌زدایی را در میزان درصد تفریخ سیستم آرتیمیای پارتوژنتیک

مورد بررسی قرار داده و بیان کرد که پراکسید هیدروژن 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 ساپروولگنیا در تخم‌های گربه ماهی بیان کردند که تیمار هیدروژن پراکسید هیدروژن مرگ و میر را کاهش و درصد تخم‌گذاری را افزایش می‌دهد. Shahbazzade و همکاران (۲۰۰۹) در مورد اثرات نانوسیلور (نانوسیل) در درصد بقا و LC₅₀ آن در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مطالعاتی انجام دادند و نتایج نشان داد نانوسیل به‌عنوان ضد عفونی کننده ایمن‌تر از سایر ضد عفونی کننده‌های شیمیایی شناخته شده است. Farman و همکاران (۲۰۱۲) طی تحقیقی اثرات حاد و تحت کشندگی نانوسیلور (نانوسیل) را در ماهی آزاد آتلانتیک در آب سبک دریاچه بررسی کردند و بیان کردند که تغییر پذیری در اثرات نانوسیلور احتمالاً به‌علت تغییر در غلظت‌های آن می‌باشد.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که داروی نانوسیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با تیمارهای دیگر به‌عنوان داروی ضد قارچ مؤثرتری در ضد عفونی تخم‌های ماهیان خاویاری (قره‌برون و ازون‌برون) می‌باشد. ماده مؤثره این فراورده هیدروژن پراکسید بوده که به‌آب واکسیژن 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 میلی گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. بنابراین با توجه به مضرات مالاشیت گرین و مزایای منحصربه‌فرد نانوسیل از جمله کم خطر بودن از نظر بهداشتی و سازگار با محیط زیست و مقرون به‌صرفه بودن از نظر اقتصادی، نانوسیل می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت گرین در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی سدسنگر ابراز می‌دارند.

منابع

۱. ابطی، ب.؛ نظری، ر.م.؛ رسولی، ع. و شفیع زاده سماکوش، پ.، ۱۳۸۴. مقایسه شاخص درمانی داروهای ضد قارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاس‌ماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۶۷، صفحات ۴۲ تا ۴۹.

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 Aquatic Fungi on Eggs of African Catfish (*clariass gariepinus*). KKKU 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 (*Ichhtalurus 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
۲. آذری تاکامی، ق. و کهنه شهری، م.، ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۹۸ صفحه.
۳. آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۶. گزارش نهایی پروژه معرفی ماده ضد عفونی کننده جایگزین مالاویت گرین در مزارع تکثیر ماهیان سردآبی. ۳۰ صفحه.
۴. آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. ۴۰۶ صفحه.
۵. بنوره، ا.، ۱۳۸۶. اثرات پراکسید هیدروژن بر عفونت های قارچی، درصد تخم گشایی و ناهنجاری های قزل آلائی رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. ۴۵ صفحه.
۶. عبدلی، ا. و نادری، م.، ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. تهران. انتشارات علمی آبریان. ۲۴۲ صفحه.
۷. غلام قاسمی، م.، ۱۳۸۸. بررسی مقایسه ای داروهای ضدقارچ فرمالین، مالاویت گرین و نانوسیل در تیمار تخم ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. صفحات ۵ تا ۳۰.
۸. قزوینی، ا.؛ وهاب زاده رودسری، ح.؛ چمن آرا، و.؛ آذری تاکامی، ق. و شناورماسوله، ع.ر.، ۱۳۹۲. مقایسه نانوسید، پراکسید هیدروژن و کلرامین T در کاهش فلور قارچی لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله شیلات. سال ۷، شماره ۱، صفحات ۱۳ تا ۲۰.
۹. کهیش اسفندیاری، م.؛ سلطانی، م. و سجادی، م.م.، ۱۳۸۹. اثرات ضدقارچی تراف نانوسیلور روی تخم ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و لارو تا وزن یک گرمی. مجله آبریان و شیلات. سال ۱، شماره ۲، صفحات ۶۳ تا ۷۴.
۱۰. نوری، م.، ۱۳۸۹. مقایسه اثر ضدقارچی نانوسیل و پراکسید هیدروژن بر تخم های لقاح یافته ماهی کپور معمولی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۷۵ صفحه.
۱۱. وهاب زاده، ح.؛ احمدی، م.؛ کیوان، ا.؛ معصومیان، م. و منجمی، ب.، ۱۳۸۱. مقایسه کارایی پراکسید هیدروژن و مالاویت گرین در مقابله با قارچ های آبی در تکثیر مصنوعی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علوم و فنون دریایی ایران. دوره ۲، شماره ۱، صفحات ۷۷ تا ۸۵.
۱۲. وهاب زاده، ح.، ۱۳۸۲. ارزیابی کارایی پراکسید هیدروژن و لوامیزول هیدروکلراید در تیمار تخم ها و نوزاد تاس ماهی 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. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada. Vol. 94, No. 2, pp: 54-56.



- 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.** *Saprolegnia 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.

