مقایسه اثرسنجی محلول پرفیش با مالاشیت سبز و فرمالین در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان در مراحل مختلف تفریخ

سید عبدالحمید حسینی[1]، سیدمحمدجلیل ذریه زهرا[2]، ابوالفضل سپهداری[*2]، محمدمیثم صلاحی[1]، اسماعیل کاظمی[1]

[*]asepahdari@yahoo.com

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 دریافت: مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

این پژوهش در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج وابسته به مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور انجام گرفت. هدف انجام این مطالعه، تعیین کارایی محلول پرفیش در مهار و کاهش تلفات ناشی از آلودگی قارچی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مراحل مختلف انکوباسیون، در مقایسه با مالاشیت سبز و فرمالین بود. به این منظور از تراف‌های کالیفرنیایی (ابعاد۷۰×۳۵×۲۰cm) با عمق ۲۰cm، ارتفاع آب ۱۰cmو دبی ۴ تا ۶ لیتر در دقیقه استفاده گردید. سپس تخم لقاح یافته ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به تراف‌ها به تعداد ۷۰۰ عدد در هر تراف انتقال یافت. در این بررسی ۹ تیمار (پرفیش ۱۵، ۳۷، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، مالاشیت ۲میلی گرم در لیتر ، فرمالین ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، شاهد مثبت و منفی) با سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که تیمار مالاشیت سبز، فرمالین و پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب با ۱/۹۴ ± ۶۹/۳۸، ۸/۰۵± ۶۴/۹۹ و ۴/۷۲ ± ۶۳/۷۶ دارای بالاترین درصد چشم‌زدگی در بین تیمارهای آزمایشی بودند. همچنین میزان تخم‌گشایی در تیمار پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۰/۶ ± ۹۵/۸۰ دارای بیشترین مقدار بود، این در حالی است که این میزان با نتایج بدست آمده از درصد تخم‌گشایی تیمارهای پرفیش ۳۷ میلی‌گرم در لیتر (۳/۱۸±۸۰/۸)، شاهد مثبت (۲/۸ ± ۹۰/۶۶) و منفی (۱/۷۸ ± ۹۱/۳۹) دارای اختلاف معنی‌دار می باشد. کمترین میزان ناهنجاری (شامل نقص در اسکلت، کیسه زرده و ...) در لاروها نیز در تیمار فرمالین (۱/۱۵ ± ۳/۳۳) و بیشترین میزان ناهنجاری نیز در تیمار پرفیش ۱۵ میلی‌گرم در لیتر (۲/۰۸ ± ۵/۳۳) مشاهده گردید ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. مجموع نتایج حاصل از تحقیق حاضر حاکی از آن است که استفاده از پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر دارای مخاطرات و تلفات کمتری در مقایسه با مالاشیت سبز می‌باشد و می‌تواند به عنوان ترکیب جایگزین مناسب جهت مقابله با آلودگی‌های قارچی (ساپرولگنیا) تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان عمل نماید.

واژگان کلیدی: آلودگی قارچی، قزل‌آلای رنگین کمان، دوره انکوباسیون، پرفیش

[*]نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

مقدمه

آبزی‌پروری در دو دهه اخیر بیشترین رشد را در بین سایر بخش‌های تولید غذا از جمله دام و طیور از خود نشان داده است (کنیه و همکاران، ۱۳۹۷). تولید لارو ماهیان از نظر کیفیت و کمیت لازمه افزایش تولیدات آبزی‌پروری در مزارع پرورش ماهیان می‌باشد. این امر باعث شده است که حساسیت خاصی به مراحل تولیدمثلی ماهیان مانند رسیدگی جنسی، تخم‌ریزی و دوره رشد و نمو (از مرحله لقاح تا جذب کیسه زرده) در بین آبزی پروران ایجاد شود بطوریکه تولید لاروهای با کیفیت بالا سبب افزایش تولید و سود اقتصادی پرورش‌دهندگان ماهی خواهد شد (Kjorsvik *et al.*, 1990). محافظت و پیشگیری از عوامل بیماری‌زا، مهم‌ترین، آسان‌ترین و کم هزینه‌ترین روش جلوگیری از صدمات و ضایعات ناشی از بیماری‌ها در مراکز تکثیر و پرورش است. بنابراین، ضروری است که در تحقیقات شیلاتی توجه ویژه‌ای به موضوعات بهداشتی در زمینه تولید محصولات سالم و با کیفیت مبذول گردد. تخم ماهی می‌تواند برای انتقال بیماری از مولدین به نوزادان و بین هچری‌ها به علت احتمال وجود عوامل بیماری‌زای فرصت طلب، به عنوان یک ناقل مطرح باشد (Atanasov *et al.*, 2011).

در همین رابطه عفونت‌های قارچی، عامل متداول تلفات در ماهیان آب شیرین بویژه در تخم‌ها و ماهیان قبل از جذب کیسه زرده می‌باشد. در این راستا، مدیریت بهداشتی صحیح، کاهش تراکم، خارج کردن تخم‌های قارچ زده از تراف‌ها، ضدعفونی کردن تخم‌ها از جمله اقدامات پیشگیری‌کننده اساسی در کنترل عفونت‌های قارچی در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان می‌باشند. تأمین آب با کیفیت، یکی از عوامل مهم در روند تولید و گسترش سیستم‌های پرورش ماهی به روش متراکم است. روش‌های ضدعفونی نمودن آب جهت کاهش بار میکروبی ورودی یا جلوگیری از شکوفایی میکروارگانیسم‌های بیماریزا شامل آنتی‌بیوتیک درمانی، ازن درمانی، فیلتراسیون، حرارت و استفاده از اشعه UV است (Swaef *et al.*, 2015). ولی هر یک از روش‌های مذکور معایب خاصی همچون صرف هزینه زیاد، نیاز به دستگاه‌های پیشرفته، تولید باقیمانده‌های سمی، ظهور گونه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و ... دارند (Zawada *et al.*, 2014). در عمل هدف از ضدعفونی کاهش عوامل بیماریزا تا سطح قابل قبول و جلوگیری از ازدیاد آنها تا حد بیماریزایی و کنترل ورود عوامل بیماریزا طی دوران تکثیر و پرورش می‌باشد. در چند سال گذشته فرمالین و سبز مالاشیت به عنوان مؤثرترین ماده جهت محدود کردن رشد عوامل بیماریزای مضر مطرح بودند، اما در حال حاضر استفاده از مالاشیت سبز در تولید ماهیان و حیوانات آبزی در آمریکا و اتحادیه اروپا به طور کلی ممنوع شده است که این ممنوعیت به دلیل سمیت بالا، سرطان‌زایی، جهش‌زا بودن و ایجاد ناهنجاری در بچه ماهیان حاصله می‌باشد(Zawada *et al*, 2014). این ماده همچنین قادر است که برخی از آنزیم‌های بدن انسان نظیر گلوتاسیون ترانسفراز و تیروئید پروکسیداز را مهار کند (متفقی و همکاران، ۱۳۹۶). فرمالین نیز به عنوان یکی دیگر از ضدعفونی کننده‌های مؤثر مشکوک به سرطان‌زایی در انسان می‌باشد (Zawada *et al*, 2014). سایر مواد ضدعفونی کننده نیز به دلیل اثرات کم، غیراختصاصی بودن و مشکلات زیست محیطی بسیار، از کارایی بالایی برخوردار نمی‌باشند. بنابراین، استفاده از مواد ضدعفونی کننده جدید، مؤثر و سازگار با محیط زیست بسیار مورد نیاز می‌باشد.

یکی از این نوع مواد ضدعفونی کننده جدید، محلول پرفیش (پراستیک اسید) ترکیبی از استیک اسید و پراکسید هیدروژن است. پرفیش یک ترکیب پراکسیژن بسیار واکنش‌پذیر با اثرات ضد میکروبی گسترده است. محصولات حاوی پراستیک اسید برای حفظ ثبات شیمیایی به صورت محلول در استیک اسید و پراکسید هیدروژن در دسترس هستند و هنگامی که پراستیک اسید در آب شیرین در سیستم‌های آبزی‌پروری استفاده می‌شود، بسرعت تجزیه می‌شود (EPA, 1993). پرفیش قادر به تخریب انواع ماکرومولکول‌ها شامل کربوهیدرات‌ها، اسید نوکلوئیک، لیپید و اسید آمینه می‌باشد و با لیز سلولی سبب مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Jolivet-Gougeon *et al.*, 2006). همچنین از طریق

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

اکسیداسیون غشاء خارجی سلول‌های رویشی باکتری، اندسپور، مخمر و هاگ قارچها موجب مرگ عوامل مذکور می‌شود و محیط را ضدعفونی می‌کند. توانایی از بین بردن باکتری‌ها، قارچها، نماتودها و غیر فعال کردن ویروس‌ها و نیز جلوگیری از رشد خزه‌ها و جلبک‌ها توسط این ماده گزارش شده است (مرادی و همکاران، ۱۳۸۷). چون پراستیک اسید بتازگی به عنوان ضدعفونی کننده تخم ماهیان مورد استفاده قرار گرفته، مطالعات اندکی به کاربرد این ماده در صنعت آبزی پروری پرداخته است. در یکی از این مطالعات از غلظت ۲۰-۲/۵ میلی‌گرم در لیتر این ماده برای ضدعفونی تخم‌های گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) استفاده شده و کاهش معنی‌داری در میزان رشد قارچها مشاهده شده است. همچنین میزان هچ نیز از درصد درصد بالایی برخوردار بود (Swaef *et al.*, 2015). از اهداف عمده انجام این بررسی تعیین کارایی محلول پرفیش در مهار و کاهش تلفات ناشی از آلودگی قارچی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مراحل انکوباسیون در مقایسه با مالاشیت سبز و فرمالین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای پروژه

این پژوهش در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج وابسته به مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور انجام گرفت.

طراحی تیمارهای ضدعفونی کنندگی

در این تحقیق از محلول پرفیش (پراستیک اسید) ۵ درصد استفاده گردید. لذا، بر اساس روش کار تعیین شده، از تراف‌های کالیفرنیایی (ابعاد ۷۰×۳۵×۲۰ سانتی‌متر) استفاده گردید. عمق هر تراف ۲۰ سانتی‌متر، ارتفاع آب روی تخم ۱۰ سانتی‌متر و دبی آب ورودی به هر تراف ۶-۴ لیتر در دقیقه در نظر گرفته شد. سپس به تراف‌ها تخم لقاح یافته ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به تعداد ۷۰۰ عدد به هر تراف انتقال یافت. در این بررسی ۹ تیمار با سه تکرار به روش حمام به شرح جدول ۱ بر اساس مقادیر پیشنهادی شرکت سازنده و مطالعات موجود استفاده شد (ابطحی و همکاران، ۱۳۸۳). میزان آب تراف‌ها طی ۳۰ دقیقه درمان حدود ۲۵۰ لیتر محاسبه شد.

جدول ۱: داروهای ضدعفونی کننده و مقدار مصرفی آنها در تیمارهای آزمایشی

Table 1: Disinfectants and their amount in experimental treatments.

ردیف	تیمار	میزان مصرف (ppm)	مدت زمان (دقیقه)
تیمار ۱	محلول پرفیش ۵ درصد	۱۵	۳۰
تیمار ۲	محلول پرفیش ۵ درصد	۳۷	۳۰
تیمار ۳	محلول پرفیش ۵ درصد	۷۵	۳۰
تیمار ۴	محلول پرفیش ۵ درصد	۱۵۰	۳۰
تیمار ۵	محلول پرفیش۵ درصد	۳۰۰	۳۰
تیمار ۶	مالاشیت گرین	۲	۳۰
تیمار ۷	فرمالین	۱۰۰۰	۳۰
تیمار ۸	شاهد مثبت (با آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-
تیمار ۹	شاهد منفی (بدون آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-

در طول دوره ۲۰ روزه چشم زدگی، به منظور ایجاد شرایط یکسان برای تمامی تیمارها خواص فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و قلیائیت قبل و پس از هر آزمایش اندازه گیری و ثبت گردید. قبل از خواباندن تخم‌ها درون تراف‌ها، جهت مواجهه با قارچ در ساعت ۶ پس از انتقال تخم‌ها به تراف‌ها

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

نسبت به آلوده کردن تخم‌ها با قارچ اقدام گردید. بدین ترتیب، حدود ۲۰۰۰ عدد تخم قارچ زده در یک آکواریوم قرار داده شد و تیمارهای آزمایشی بجز تیمار شاهد منفی به مدت ۵-۲ دقیقه در معرض این تخم‌های قارچ زده قرار گرفتند.

۷۲ ساعت پس از انتقال تخم‌ها به تراف‌ها تا زمان چشم‌زدگی ضدعفونی در تیمارهای مختلف به صورت یک روز در میان و برای مدت ۳۰ دقیقه به روش حمام دادن به تعداد ۸ مرتبه 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.

تعیین درصد چشم‌زدگی تخم‌ها

تا زمان چشم‌زدگی تخم‌ها، تخم‌های مرده و سفید از تخم‌های سالم جدا گردید (به روش سیفون کردن) و نسبت به تمیز کردن سینی‌ها و تراف‌ها اقدام شد. سپس دوباره تخم‌ها در همان محل قبلی خود برگردانده شده تا تخم گشایی صورت گیرد. در این مرحله درصد چشم‌زدگی با استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید (Arndt *et al*., 2001):

(۱۰۰ × [(مرگ و میر ابتدایی- تعداد کل تخم‌ها / تعداد تخم‌های چشم زده] = درصد چشم‌زدگی

تعیین درصد تخم‌گشایی

حدود ۳۳۰درجه روز پس از لقاح، تخم‌گشایی صورت گرفت که در این مرحله لاروها با دارا بودن کیسه زرده به صورت پهلو به پهلو درون سینی‌ها به حالت خوابیده قرار گرفتند. برای تعیین درصد تخم‌گشایی از طریق نمونه‌برداری اقدام به شمارش لاروهای تخم‌گشایی شده گردید که درصد تخم‌گشایی از رابطه ذیل محاسبه گردید (Geffen and Evans, 2000):

(۱۰۰ × [تعداد تخم‌های چشم‌زده / تعداد تخم‌های تخم‌گشایی شده] = درصد تخم‌گشایی

تعیین درصد ناهنجاری

میزان ناهنجاری لاروها نیز ۱۷ روز پس از تخم‌گشایی تخم‌ها یعنی هنگامی که لاروها قادر به شنای عمودی در سینی‌ها شدند، با استفاده از فرمول ذیل تعیین شد (Arndt *et al*., 2001):

(۱۰۰ ×] تعداد تخم‌های تخم‌گشایی شده /لاروهای ناهنجار] = درصد ناهنجاری

تعیین درصد قارچ‌زدگی

تعداد توده‌های قارچ و تعداد تخم‌ها در هر توده به عنوان شاخصی بر شدت آلودگی نیز محاسبه و ثبت گردید که از طریق فرمول ذیل محاسبه شد (Barnes *et al*., 1998):

۱۰۰ × [تعداد کل تخم‌ها / تعداد تخم‌های قارچ‌زده] = درصد قارچ‌زدگی

تجزیه و تحلیل آماری

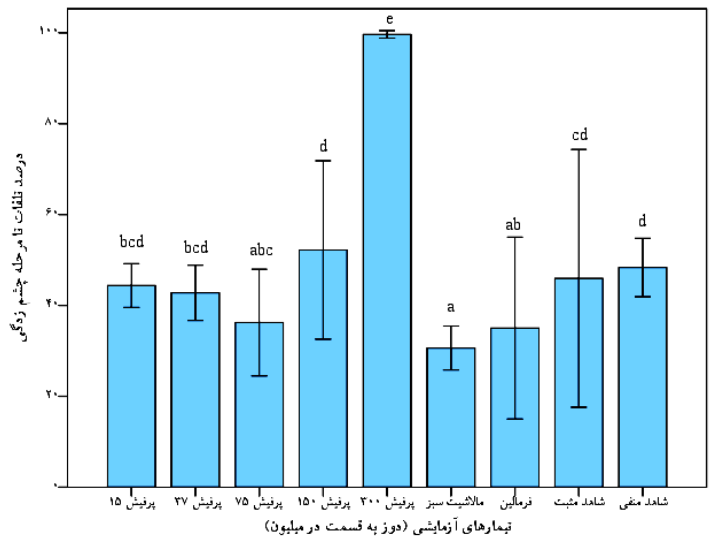
داده‌ها بر اساس تعداد اولیه تخم‌های معرفی شده به تراف‌ها و تعداد لاروهای تخم‌گشایی شده در انتهای دوره آنالیز و بررسی شدند. داده‌ها توسط برنامه اکسل Excel و با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها بوسیله تست چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

نتایج

درصد تلفات از مرحله لقاح تا چشم‌زدگی

نتایج درصد تلفات تا مرحله چشم‌زدگی در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج درصد تلفات تا مرحله چشم‌زدگی یعنی روز ۲۰ بعد از لقاح، به این صورت بود که بیشترین درصد تلفات در تیمار پرفیش با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱/۳۲±۹۹/۶۲ درصد) و کمترین آن بترتیب در تیمارهای مالاشیت سبز با دوز ۲ میلی‌گرم در لیتر (۱/۹۴±۳۰/۶۲ درصد)، فرمالین با دوز ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر (۸/۰۵±۳۵/۰۱ درصد) و پرفیش با دوز ۷۵ میلی‌گرم در لیتر (۴/۷۲±۳۶/۲۴ درصد) مشاهده شد. از لحاظ آماری درصد تلفات در تیمارهای مالاشیت سبز، فرمالین و پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری با هم نداشت ($p>0/05$) در حالیکه نسبت به سایر تیمارها کمتر بودند. همچنین میزان تلفات در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود بطوریکه تا مرحله چشم‌زدگی تقریباً نزدیک به ۱۰۰ درصد تخم‌ها در این تیمار از بین رفتند ($p>0/05$). درصد تلفات در تیمارهای شاهد مثبت و منفی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. شاید بتوان دلیل آن را عدم تاثیر معنی‌دار مواجهه با قارچ قبل از شروع آزمایش بر تیمار شاهد مثبت دانست.



شکل ۱: درصد تلفات تخم چشم زده ماهی قزل الای رنگین کمان در تیمارهای آزمایشی مختلف(حروف غیرمشابه نشانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی)

Figure 1: Percentage of eyed-egg mortality in experimental treatments (non-similar letters indicating a significant difference between the treatments).

درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و ناهنجاری

نتایج مربوط به درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و ناهنجاری لاروها در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. همانطوریکه مشاهده می‌شود، تیمار مالاشیت سبز، فرمالین و پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر بترتیب با ۱/۹۴±۶۹/۳۸، ۸/۰۵±۶۴/۹۹ و ۴/۷۲±۶۳/۷۶ دارای بالاترین درصد چشم‌زدگی در بین تیمارهای آزمایشی بودند. همچنین میزان تخم‌گشایی در تیمار پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۰/۶±۹۵/۸۰ دارای بیشترین مقدار بود. این در حالی است که این میزان با نتایج بدست آمده از درصد تخم‌گشایی تیمارهای پرفیش ۳۷ میلی‌گرم در لیتر، شاهد مثبت و منفی دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p<0/05$).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

جدول ۲: درصد چشم زدگی، درصد تخم‌گشایی و درصد ناهنجاری در تیمارهای مختلف آزمایشی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی)

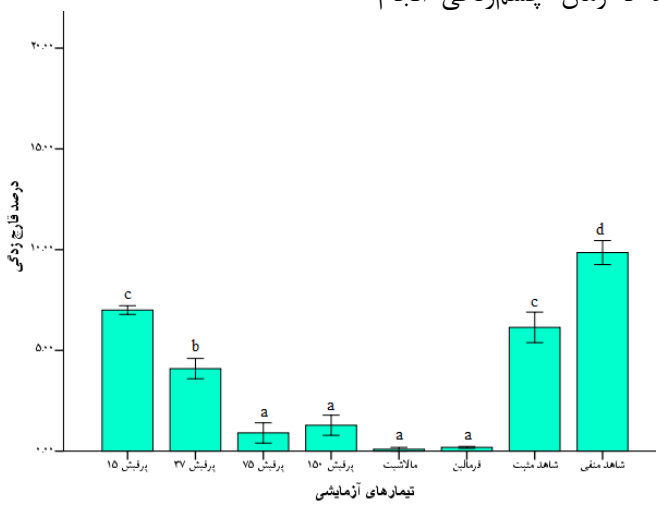
Table 2: percentage of eyed eggs, hatching rate and larva deformity in experimental treatments (non-similar letters indicating a significant difference between the treatments).

ردیف	تیمار (میلی گرم در لیتر)	درصد چشم زدگی (میانگین ± انحراف معیار)	درصد تخم‌گشایی (میانگین ± انحراف معیار)	درصد ناهنجاری (میانگین ± انحراف معیار)
تیمار ۱	پرفیش ۱۵	۵۵/۶۲ ± ۱/۹۴^{bcd}	۹۲/۵۸ ± ۱/۹۸^{abc}	۵/۳۳ ± ۲/۰۸^{a}
تیمار ۲	پرفیش ۳۷	۵۷/۲۴ ± ۲/۴۴^{bcd}	۸۰/۸۰ ±۳/۱۸^{a}	۵ ± ۱/۰۰^{a}
تیمار ۳	پرفیش ۷۵	۶۳/۷۶ ± ۴/۷۲^{cde}	۹۵/۸۰ ± ۰/۶^{c}	۴ ± ۰/۰۱^{a}
تیمار ۴	پرفیش ۱۵۰	۴۷/۸۱ ± ۷/۸۹^{b}	۹۴/۵۹ ± ۲/۰۴^{bc}	۴ ± ۳/۴۶ ^{a}
تیمار ۵	پرفیش ۳۰۰	۰/۳۸ ± ۰/۳۲^{a}	(از بین رفتن تمامی تخمها)	(از بین رفتن تمامی تخمها)
تیمار ۶	مالاشیت سبز	۶۹/۳۸ ± ۱/۹۴^{e}	۹۵/۴۸ ± ۱/۱۷^{c}	۴/۶۶ ± ۰/۵۷ ^{a}
تیمار ۷	فرمالین	۶۴/۹۹ ±۸/۰۵^{de}	۹۲/۵۰ ± ۱/۳۳^{abc}	۳/۳۳ ± ۱/۱۵ ^{a}
تیمار ۸	شاهد مثبت (با آلودگی)	۵۴/۰۴ ± ۱۱/۴۲^{bc}	۹۰/۶۶ ± ۲/۸^{a}	۳/۳۳ ± ۳/۲۱^{a}
تیمار ۹	شاهد منفی (بدون آلودگی)	۵۱/۶۶ ±۲/۵۹^{b}	۹۱/۳۹ ± ۱/۷۸^{ab}	۵/۳۳ ± ۲/۰۸^{a}

میزان درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و ناهنجاری در بین شاهد مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میزان ناهنجاری نیز در تیمارهای مختلف بین ۶-۳ درصد متغیر بود و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p>0/05$) .

درصد قارچزدگی

محاسبه درصد قارچزدگی با شمارش تعداد تخم‌های قارچزده طی دوره ۲۰ روزه تا زمان چشم‌زدگی انجام گرفت (شکل ۲). همانطوریکه در شکل مشاهده می‌شود، بیشترین درصد قارچزدگی در بین تیمارها مربوط به تیمار شاهد منفی بود، این در حالی است که کمترین این میزان بترتیب در تیمارهای مالاشیت سبز، فرمالین، پرفیش ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و پرفیش ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش گردید که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$) (شکل ۲).



شکل ۲: میانگین درصد قارچ زدگی تخم ها در تیمارهای آزمایشی مختلف (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی)

Figure 2: Percentage of fungus infect in experimental treatments (non-similar letters indicating a significant difference between the treatments).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

بحث و نتیجه‌گیری

جستجو و بکار بردن دارویی مناسب که ضمن کارایی مطلوب، دارای کم‌ترین اثرات سمی باشد، همواره در جهت مبارزه با بیماری‌های قارچی آبزیان از اهمیت بالایی برخوردار بوده است. این مسئله بویژه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان که گونه اصلی پرورشی در کشور ماست، اهمیتی مضاعف دارد. بیشترین خسارت‌های اقتصادی در آبزی‌پروری ناشی از بروز بیماری‌های باکتریایی و قارچی است (Meyer, 1991) که ضررهای اقتصادی قابل ملاحظه‌ای را در صنعت تکثیر و پرورش ماهی ایجاد کرده است (Bly *et al.*, 1992; Pottinger & Day, 1999). بطوریکه خسارت‌های ناشی از این بیماری‌ها در صنعت پرورش آزادماهیان در دنیا، سالانه حدود ده‌ها میلیون پوند برآورد شده است (Hussein & Hatai, 2002). به علت دمای پائین آب و همچنین مدت زمان طولانی انکوباسیون، همواره آلودگی قارچی تخم‌های لقاح یافته تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از عمده‌ترین دلایل تلفات می‌باشد (Sharifpour *et al.*, 2016).

پرفیش ترکیبی شیمیایی از خانواده پراکسیدهای ارگانیک است که در محیط‌های آبی در اثر ترکیب اسیتیک اسید با پراکسید هیدروژن ایجاد شده و به دلیل پتانسیل بالای اکسیداسیون، خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان می‌دهد. این ماده قادر به تخریب انواع ماکرومولکول‌ها شامل کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و اسیدهای آمینه می‌باشد و با لیز سلولی سبب مرگ ارگانیسم‌ها می‌گردد. از طریق اکسیداسیون غشاء خارجی سلول‌های رویشی باکتری، اندوسپور، مخمر و هاگ قارچها موجب مرگ عوامل مذکور می‌شود و محیط را ضدعفونی می‌کند. توانایی از بین بردن باکتری‌ها، قارچها، نماتودها و غیرفعال‌کنندگی ویروس‌ها توسط این ماده گزارش شده است (مرادی و همکاران، ۱۳۸۷). این ماده به ترکیبات بی‌ضرر تجزیه شده و هیچگونه محصول جانبی سمی از آن باقی نمی‌ماند (Kitis, 2004). خاصیت ضدمیکروبی پراستیک اسید در دامنه دمایی وسیع ثابت شده است (Stampi *et al.*, 2001). در صورتی که فعالیت آن در pH قلیایی کاهش می‌یابد. پراستیک اسید چون بتازگی به عنوان ضدعفونی‌کننده تخم ماهیان مورد استفاده قرار گرفته، بنابراین مطالعات اندکی به کاربرد این ماده در صنعت آبزی‌پروری پرداخته است (Straus *et al.*, 2012). در یکی از این مطالعات از غلظت ۲۰-۲/۵ میلی‌گرم در لیتر این ماده برای ضدعفونی تخم‌های گربه ماهی روگاهی استفاده گردید و کاهش معنی‌داری در میزان رشد قارچها مشاهده شد. همچنین میزان تخم‌گشایی نیز از درصد بسیار خوبی برخوردار بود (Swaef *et al.*, 2015). همچنین اثرات ضدباکتریایی پراستیک اسید بر گروه‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت و منفی بویژه استافیلوکوک‌ها، پسودوموناس و باکتری‌های روده‌ای با استفاده از دو روش دیسک دیفیوژن و میکرودیلوشن بررسی شده است (مرادی و همکاران، ۱۳۸۷). استفاده از پراستیک اسید در روغن ماهی (*Gadus morhua*) سبب کاهش بار باکتریایی شده است (Treasurer *et al.*, 2005). با توجه به اینکه مالاشیت سبز که در گذشته به عنوان یکی از بهترین مواد جهت ضدعفونی تخم ماهی قزل‌آلا مطرح بوده و در دهه اخیر به دلیل مسائل بهداشتی و خاصیت سرطانزایی استفاده از آن ممنوع شده است، تاکنون داروهای ضدعفونی‌کننده بسیاری مورد آزمایش قرار گرفته است که هر یک دارای محاسن و معایبی می‌باشند. به همین دلیل هدف از این مطالعه مقایسه اثرسنجی محلول پرفیش جهت کنترل آلودگی قارچی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. همان‌گونه که در نتایج نشان داده شد، درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی در تیمار پرفیش با دوز ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با نتایج حاصل از تیمارهای مالاشیت سبز و فرمالین برابری کرد و نسبت به سایر تیمارهای پرفیش دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. این در حالی است که هیچگونه اثر سمی از این ماده گزارش نشده است. در صورتی که استفاده از مالاشیت مدت زیادی است که ممنوع گردیده و همچنین فرمالین بر دستگاه تنفس انسان اثر تحریکی دارد. بنابراین، برای حفظ سلامت کارکنان باید با احتیاط بکار گرفته شود (جلالی و میار، ۱۳۹۴؛ مرادی و همکاران، ۱۳۸۷). این تیمار همچنین با تیمار شاهد منفی نیز دارای اختلاف معنی‌دار از لحاظ درصد چشم‌زدگی و درصد

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

تخم‌گشایی بود که می‌تواند به علت اثرات محافظت‌کنندگی پرفیش در برابر آلودگی قارچی ایجاد شده طی روند چشم‌زدگی باشد. همچنین تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر این ماده نیز دارای اثرات کشندگی بر تخم‌هاست بطوریکه نزدیک به ۱۰۰ درصد تخم‌ها بعد از ۱۰ روز پس از لقاح از بین رفتند. نتایج نشان می‌دهد که درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی تخم‌ها در دوزهای بالاتر و پائین‌تر از ۷۵ میلی‌گرم در لیتر پرفیش روندی کاهشی داشته است.

بالاترین درصد تخم‌گشایی در بین تیمارها مربوط به پرفیش ۷۵ میلی گرم در لیتر با میانگین ۰/۶۰±۹۵/۸۰ بود که این میزان نسبت به تیمار فرمالین با میانگین ۱/۳۳±۹۲/۵۰ و همچنین مالاشیت سبز با میانگین ۱/۱۷±۹۵/۴۸ بالاتر بود. بنابراین، مصرف پرفیش را اقتصادی‌تر از ترکیبات مذکور طی دوره انکوباسیون می‌نماید.

درصد ناهنجاری در پرفیش ۷۵ (۰/۰۱±۴) و پرفیش ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر (۳/۴۶±۴) بود که کمتر از مالاشیت سبز (۰/۵۷±۴/۶۶) می‌باشد، حاکی از تلفات بیشتر لاروها پس از تخم‌گشایی در اثر استفاده از مالاشیت سبز می‌باشد. لذا، مجموع نتایج حاصل از تحقیق حاضر حاکی از آن است که استفاده از پرفیش دارای مخاطرات و تلفات کمتری در مقایسه با مالاشیت سبز است و درصد تخم‌گشایی نیز در استفاده از پرفیش، بیشتر از فرمالین و مالاشیت سبز می‌باشد. این شواهد بیانگر ارزیابی اقتصادی و ایمنی استفاده از پرفیش با دوز ۷۵ میلی‌گرم در لیتر طی دوره انکوباسیون تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد و می‌توان به معرفی این محصول به عنوان یک ترکیب جایگزین مناسب جهت مقابله با قارچها از جمله ساپرولگنیوز در مزارع اقدام نمود.

منابع

ابطحی، ب. نظری، م. رسولی، ع و شفیع زاده، پ. ۱۳۸۳. مقایسه شاخص درمانی داروهای ضدقارچی فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاس ماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۷، صفحات ۴۹-۴۲.

جلالی، ب و میار، م. ۱۳۹۴. بیماریهای ماهیان قزل آلا و آزاد. انتشارات نوربخش، ۲۵۶ص.

کنیه، ف. زراعت پیشه، ف و حسن احمدی، ا. ۱۳۹۷. بررسی کارایی حذف آمونیاک از پساب مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان توسط زغال لیلکی، اسکلت مرجان و پشم فولاد. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۷ شماره ۶: صفحات ۵۷-۴۷. DOI:10.22092/ISFJ.2019.118389

متفقی، ف. جوادی، ا و علامه، س.ک. ۱۳۹۶. بررسی وجود مالاشیت گرین در گوشت ماهیان پرورشی، قزل آلای رنگین کمان و کپور معمولی در مناطق شمال، جنوب، هراز و شهرکرد. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۷ شماره ۱: ۱۳۸-۱۳۱. DOI.:10.22092/ISFJ.2018.116454

مرادی، ع.، شاهمرادی، م.، قائمی، ع.، تبرایی، ع.، شش پلی، م.، بازوری، م. و کوهساری، ه.، ۱۳۸۷. طیف اثر ضدباکتریایی پراستیک اسید (پرسیدین). مجله طبیب شرق، دوره ۱۱ شماره ۱، صفحات ۴۸-۳۹.

Arndt, C., Gaill, F. and Felbeck, H., 2001. Anaerobic sulfur metabolism in thiotrophic symbioses. *Journal of Experimental Biology*, 204, 741-750.

Atanasov, A., Rusenova, N., Staykov, Y., Nikolov, G., Pavlov, A., Stratev, D. and Raichev, E., 2011. Chemical surface disinfection of fungal type fish egg incubators. *Agricultural science and technology*, 3: 21-284.

Barnes, M.E., Ewing, D.E., Cordes, R.J. and 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. DOI: 10.1577/1548-8640.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

Bly, J.E., Lowson, L.A., Dale, D.J., Szalai, A.J., Durborow, R.M. and Clem, L.W., 1992. Winter Saprolegniasis in channel catfish. *Diseases of Aquatic Organisms*,13: 155-164. DOI: 10.3354/dao013155.

EPA (United States Environmental Protection Agency), 1993. Hydrogen Peroxide and Peroxyacetic Acid U.S. Environmental Protection Agency. URL accessed on 11 November 2006.

Geffen, A.J. and Evans, J.P., 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sexreversed female rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)*. *Aquaculture,* 182: 61–72. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00248-3.

Hussein, M.M.A. and Hatai, K., 2002. Pathogenicity of Saprolegnia species associated with outbreaks of salmonid saprolegniasis in Japan. *Fisheries Science*, 68: 1067–1072. DOI: 10.1046/j.1444-2906.2002.00533.x.

Jolivet-Gougeon, A., Sauvager, F., Bonnaure-Mallet, M., Colwell, R.R. and Cormier, M., 2006. Virulence of viable but nonculturable S. Typhimurium LT2 after peracetic acid treatment. *International Journal of Food Microbiology*. 112: 147-152. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.

Kitis, M., 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International,* 30: 47–55. DOI: 10.1016/S0160-4120(03)00147-8.

Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26: 71–113. DOI: 10.1016/S0065-2881(08)60199-6.

Meyer, F.P., 1991. Aquaculture disease and health management. *Journal of Animal Science,* 69: 4201-4208.

Pottinger T.G. and Day J.G., 1999. A Saprolegnia parasitica challenge system for rainbow trout: assessment of pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Disease of Aquatic Organism,* 36: 129–141. DOI: 10.3354/dao036129 .

Sharifpour, I., Kakoolaki, S., Mehrabi, M.R., Gheyasi, M. and 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.

Stampi, S., De Luca, G. and Zanetti, F., 2001. Evaluation of the efficiency of peracetic acid in the disinfection of sewage effluents. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 833–838. DOI:10.1046/j.1365-2672.2001.01451.x.

Straus, D.L., Meinelt, T., Farmer, B.D., Mitchell, A.J., 2012. Peracetic acid is effective for controlling fungus on channel catfish eggs. *Journal of Fish Diseases,* 35: 505–511. DOI: 10.1111/j.1365-761.2012.01383.x.

Swaef, E., den Broeck, W., Dierckens, K. and Decostere, A., 2015. Disinfection of teleost eggs: a review. *Reviews in Aquaculture,* 7: 1–21. DOI: 10.1111/raq.12096.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

Treasurer, J.W., Cochrane, E. and Grant, A., 2005. Surface disinfection of cod Gadus morhua and haddock Melanogrammus aeglefinus eggs with bronopol. *Aquaculture*, 250: 27–35. DOI: 10.1016/j.

Zawada, A., Polechoñski, R. and Bronowska, A., 2014. Iodine disinfection of sea trout, *Salmo trutta* (L.), eggs and the effect on egg surfaces. *Archives of Polish Fisheries*, 22: 121-126. DOI: 10.2478/aopf-2014-0011.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

Comparison of perfish solution efficiency with malachite green and formalin on fungal contamination control of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs in incubation stage

Hosseini S.A.[1], Zorriehzahra M.J.[2], Sepahdari A.[2*], Salahi M.M.[1], Kazemi E.[1]

[*]asepahdari@yahoo.com

1- Iranian Fisheries Science Research Institute, Shahid Motahary Coldwater Fishes Genetic and Breeding Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization(AREEO),Yasouj, Iran
2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-31]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.6.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119394]

Abstract:

This research was conducted in autumn and winter 2016 in Shahid Motahary Coldwater Fishes Genetic and Breeding Research Center. In this study, comparison of Perfish solution efficiency with malachite green and formalin on fungal contamination control of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs in incubation stage was done. For this porpuse the California incubators (20 × 35 × 30 cm) with depth of 20 cm, the height of water on the egg, 10 cm and water flow rate 4 to 6 liters per minute were used. Then the number of 700 fertilized eggs transported to each incubator tray. In this study, 9 treatments (perfish 15, 37, 75, 150, 300 ppm; malachite 2ppm; formalin 1000ppm; positive control and negative control) were tested with 3 replications. The highest Percentage of Eyed eggs in treatment of green malachite, formalin and perfish 75 ppm were observed respectively with 69.38±1.94, 64.99±8.05 and 63.76±4.72. The highest of hatching rate were observed in treatment of perfish 75 ppm (95.8±.6). Treatments of formalin and perfish 15 were showed the lowest (3.33±1.15) and highest (5.33±2.08) of larva deformity respectively, without the Significant difference among the experimental treatments. Finally the results showed that the best and more effective dose of Perfish was 75ppm in 30 min. furthermore with involving all aspects Perfish solution is a suitable new compound for the prevention of fungal contamination during the incubation period of Rainbow trout eyed eggs.

Keywords: Fungal contamination, Rainbow trout, Incubation period, Perfish

[*]Corresponding author