Archive of SID

بررسی مقایسه ای اثر پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه) و سبز مالاشیت در پیشگیری و درمان آلودگی قارچی تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) [۱و۲]

علیرضا میرواقفی [۳] قباد آذری تاکامی [۴] سید علی جعفرپور [۵]

چکیده

در این تحقیق، پراکسید هیدروژن به‌عنوان ماده شیمیایی جدید در کنترل آلودگی‌های قارچی تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد آزمایش قرار گرفت و با نتایج حاصل از سبز مالاشیت که به‌طور معمول برای ضدعفونی کردن تخم‌های ماهی به کار می‌رود، مقایسه شد، در آزمایش‌های ***In vitro***، تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (**ppm**) از پراکسید هیدروژن به‌طور موثری رشد قارچ را بر روی محیط کشت کنترل کردند. در آزمایش‌های ***In vivo*** نیز، تیمار با غلظت **ppm** ۲۵۰ از پراکسید هیدروژن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ^{0C} ۷ برای کنترل رشد قارچ، مناسب تشخیص داده شد و با تیمار سبز مالاشیت به میزان **ppm** ۲ از لحاظ درصد آلودگی و میزان تلفات تا مرحله چشم‌زدگی تخم‌ها، تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که پراکسید هیدروژن نه تنها از نظر بهداشتی و آلودگی‌های زیست‌محیطی خطری ندارد، بلکه به سبب آزاد کردن اکسیژن، موجب بهبود کیفیت آب محیط پرورشی می‌شود و از لحاظ اقتصادی نیز به صرفه خواهد بود.

واژه های کلیدی: *پراکسید هیدروژن، سبز مالاشیت، آلودگی قارچی، نرخ تلفات و قزل‌آلای رنگین کمان.*

۱- تاریخ دریافت: ۸۲/۱۰/۲۸، تاریخ پذیرش: ۸۳/۷/۲۷

۲- این پژوهش با استفاده از اعتبارات معاونت پژوهشی به شماره پرونده ۸۱۴/۱/۳۰۵ دانشگاه تهران انجام شده است.

۳- استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران (Email:vaghefi@nrf.ut.ac.ir)

۴- استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۵- دانش‌آموخته شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در ایران، آلودگی‌های قارچی تخم‌های ماهی در کارگاه‌های تکثیر و پرورش، معمولا از طریق سبز مالاشیت کنترل می‌شود، زیرا این ماده دارای فعالیت‌های ضد قارچی گسترده‌ای است، (۵). اما استفاده از آن به‌عنوان عامل ضد قارچ در آبزی‌پروری به‌دلیل پتانسیل سرطان‌زایی آن بر روی کاربر، از سوی اداره غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) در ۲۷ آگوست ۱۹۹۱، ممنوع اعلام شد، (۸). میزتز و همکاران در سال ۱۹۹۵ عنوان کردند که باقیمانده‌های بسیار ناچیزی از سبز مالاشیت در ماهیان رشدیافته از تخم‌هایی که در معرض این ماده بوده‌اند، تا مرحله بازاری، باقی خواهد ماند (۷)، ازاین‌رو صنعت پرورش ماهی در ایران برای جایگزینی سبز مالاشیت، به ماده موثر ضد قارچ که از لحاظ درمانی و تاثیرات جنبی ایمن باشد، نیاز دارد.

در این پژوهش پراکسید هیدروژن یا آب اکسیژنه (H_2O_2) به عنوان ماده موثر ضد قارچ در نظر گرفته شد که دارای حداقل تاثیرات سوء بر روی ماهی و محیط زیست است، زیرا در محیط آبی به ملکول آب و اکسیژن تجزیه می‌شود. از طرفی مطالعات اندکی در زمینه استفاده از این ماده شیمیایی به‌عنوان عامل ضد قارچ بر روی ماهی و تخم ماهی صورت گرفته است (۴ و ۷).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از پراکسید هیدروژن برای تعیین حداقل غلظتی که مانع رشد قارچ می‌شود (MIC)[۱] و آزمایش‌های تعیین دامنه موثر[۲]، استفاده شد و سبز مالاشیت نیز به‌عنوان ماده قارچ‌کش مرجع برای مقایسه اثرگذاری مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا آزمایش‌های *Invitro* با کمک کشت های قارچی صورت گرفت (۸). سپس آزمایش‌های اثرگذاری بهینه در شرایط کارگاهی بر روی تخم‌های لقاح‌یافته ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کارگاه‌های تکثیر و پرورش آزادماهیان کلاردشت و شرکت تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای پاچنار لرستان، انجام شد.

آزمایش‌های تعیین حداقل غلظت پراکسید هیدروژن که مانع رشد قارچ می گردد

برای جداسازی و شناسایی گونه قارچی، تعدادی تخم قارچ‌زده از داخل سینی های انکوباتورها جدا شده، کاملا با آب مقطر شسته شده، سپس داخل لوله های آزمایش بر روی محیط کشت شاهدانه قرار داده شدند. بعد از یک هفته، زمانی‌که پرگنه های قارچی ظاهر شد، به کمک آنس از اسپورهای درون لوله آزمایش نمونه‌برداری شده و بر روی محیط کشت Corn Meal agar منتقل شدند (۹).

بعد از مراحل خالص‌سازی قارچ، قطعاتی از محیط کشت حاوی قارچ، به قطر یک سانتی‌متر جدا شده و در داخل پیست های سردخانه جاسازی شد، سپس هر یک به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه در تماس با غلظت‌های پراکسید هیدروژن (۳۵درصد جزء فعال) به میزان ۳، ۳۰ و ۲۵۰ قسمت در میلیون (پی پی ام) قرار داده شدند. سپس نمونه ها به داخل ظرف پتری حاوی محیط کشت منتقل شد و در گرمخانه با دمای ۲۵°C قرار گرفتند و میزان رشد قارچ بعد از مدت ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (۸)، البته با استفاده از روش خالص‌سازی، یک‌سری از رشته های قارچی جدا شده و با تهیه گسترش مستقیم و رنگ‌آمیزی با بزرگنمایی ×۴۰ مورد شناسایی قرار گرفت (۱).

آزمایش‌های تعیین دامنه موثر

آزمایش‌های *In vivo* در دو کارگاه تکثیر انجام گرفت. در آزمایش اول، در کارگاه تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت، برای تخم‌کشی از مولدین ماده ۵ ساله با میانگین ۱۲ عدد تخم در هر گرم، استفاده شد. بعد از عملیات لقاح و فرایند آب‌گیری تخم به مدت یک ساعت، ۱۰۰۰ عدد تخم به صورت تصادفی انتخاب شده و در مرکز سینی جاسازی گردید، و جریان آب به میزان یک لیتر در دقیقه برقرار شد. با توجه به طرح آماری مورد نظر که آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بود، تیمار غلظت پراکسید هیدروژن به عنوان یک فاکتور در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون و فاکتور زمان

[۱]-Minimum Inhibatory Concentration

[۲]- Efficacy tests

www.SID.ir

Archive of SID

استعمال دارو در دو سطح ۱۵ و ۳۰ دقیقه، اعمال شد (هر تیمار دارای سه تکرار بود). علاوه بر این، گروه کنترل بدون اعمال تیمار نیز در نظر گرفته شد و نتایج با مالاشیت گرین مورد مقایسه قرار گرفت. برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده آب رودخانه مورد استفاده در فرایند انکوباسیون تخم ها به صورت زیر بوده است:

سختی کل = ۱۳۳ mg/L as $CaCO_3$

خاصیت قلیایی= ۱۲۴ mg/L as $CaCO_3$

درجه حرارت= ۱۰/۵°C

pH =۷/۸

D.O. ≥ ۶mg/lit

در نهایت، درصد عفونت، تعداد توده‌های قارچی در هر تکرار، تعداد تخم در هر توده قارچی و درصد تخم‌گشایی در روز سی و پنجم بعد از تکثیر یعنی بعد از تخم‌گشایی کامل، برآورد شد.

شایان ذکر است که تیمارها به‌صورت یک روز در میان تا مرحله تخم‌گشایی اعمال می‌شد و به موازات یک‌سری از پارامترهای آب از قبیل میزان اکسیژن محلول (DO)، درجه حرارت و pH و میزان پتانسیل ردوکس[1] آب و پراکسید هیدروژن نیز مورد محاسبه قرار گرفت.

در آزمایش دوم، در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای پاچنار لرستان، برای تخم کشی از ماهیان مولد ماده چهار ساله با میانگین ۱۵ عدد تخم در هر گرم استفاده شد و سایر مراحل همانند کارگاه کلاردشت اعمال شد با این تفاوت که در اینجا اعمال تیمارها فقط تا مرحله چشم‌زدگی صورت گرفت و در تیمار غلظت پراکسید هیدروژن علاوه بر غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام، غلظت ۲۵۰ پی پی ام نیز اضافه شد.

برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب کارگاه تکثیر که از محل چشمه تامین می‌شد، ذکر شده است.

سختی کل = ۱۰۲ mg/L as $CaCO_3$

خاصیت قلیایی = ۹۵ mg/L as $CaCO_3$

درجه حرارت = ۷°C

pH= ۶/۸

D.O. = ۶/۵ mg/Lit

روش های آماری

همان‌طورکه قبلا ذکر شد، طرح پژوهشی مزبور در شرایط کارگاهی، در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی به اجرا گذاشته شد و برای تجزیه و تحلیل نتایج حاصله از برنامه نرم افزاری SPSS استفاده شد. در گام، اول برای تعیین این موضوع که آیا تیمارهای غلظت پراکسید هیدروژن و مدت زمان استعمال دارو بر اثر متقابل این دو معنی دار باشد یا خیر، به کمک ANOVA Simple Factorial modle از داده ها یک تست داخل گروهی بر روی صفات شامل درصد عفونت، درصد تخم‌گشایی و درصد مرگ و میر گرفته شد. در گام بعدی، به منظور مقایسه نتایج حاصله با نتیجه سبز مالاشیت به کمک One way ANOVA و آزمون چند دامنه توکی، مقایسه های لازم به‌عمل آمد.

شایان ذکر است که تمامی آزمون‌ها در سطح اطمینان ۹۵درصد صورت گرفته و تمامی داده ها در داخل هر گروه از لحاظ فرض همگنی واریانس با آزمون Leven مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

آزمایش‌های *In vitro* : همان‌طورکه در جدول (۱) نشان داده شده ، به نظر می‌رسد که تیمار ۲۵۰ پی پی ام از H_2O_2 به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه به‌طور موثری از رشد قارچ کشت داده شده، جلوگیری می‌کند. تیمار با غلظت‌های کمتر از ۲۵۰ قسمت در میلیون آب اکسیژنه، برای کنترل کامل قارچی موثر نیست.

۱- Redox Potential این شاخص محاسبه ای از مقدار نسبی بارهای مثبت و منفی یا احیاشونده در محلول است و مولکول‌های اکسید بر حسب میلی ولت (mv) بیان می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تیمار با غلظت های مختلف و مدت زمان تماس H_2O_2 بر روی میزان رشد قارچ

غلظت H_2O_2 (ppm)	مدت زمان تماس (دقیقه)	ساپرولگنیا (.spp)
۳	۳۰	+ [a]
	۱۵	+
۳۰	۳۰	+
	۱۵	+
۲۵۰	۳۰	- [b]
	۱۵	-
کنترل	---	+

a) میزان رشد قارچ ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمارها بیش از ۳۰ میلی متر اندازه گیری شد.

b) ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمارها، هیچ‌گونه علائمی از رشد قارچ مشاهده نشد.

فعالیت قارچ‌کشی H_2O_2: چنانچه در جدول (۲) نشان داده شده، در کارگاه کلاردشت، درصد آلودگی (۱۰۰× تعداد کل تخم‌ها/تعداد تخم‌های آلوده)، تعداد توده های قارچی، تعداد تخم در هر توده و درصد تخم‌گشایی ثبت شد.

چنانچه مشهود است، غلظت ۱۰۰۰mg/l از H_2O_2 به مدت ۳۰ دقیقه برای کنترل موثر قارچی، کافی است ($p > ۰/۰۵$)، اما میزان تخم‌گشایی کاهش می‌یابد ($p< ۰/۰۰۱$). تیمار با غلظت ۵۰۰mg/l از H_2O_2 به مدت ۳۰ دقیقه اگر چه سبب بهبود میزان تخم‌گشایی نسبت به سبز مالاشیت شد ($p <۰/۰۵$)، اما برای کنترل کامل رشد قارچ، کافی نبود ($p< ۰/۰۰۱$).

جدول ۲- درصد آلودگی، تعداد توده های قارچی، تعداد تخم در هر توده و درصد تخم گشایی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان درمان شده، با مالاشیت گرین (mg/l) و پراکسید هیدروژن (ppm) برای مدت زمان‌های مختلف در دمای ۱۰/۵°C میانگین(Mean ± SD)

نوع دارو	تیمار	مدت زمان استعمال دارو (دقیقه)	درصد آلودگی	تعداد توده های قارچی	تعداد تخم در هر توده	درصد تخم‌گشایی (Mean±SD)
پراکسید هیدروژن	۱۰۰۰	۳۰	۱/۵۶ ± ۰/۳۲	۵/۶۶ ± ۲/۰۸	۳/۳۳ ± ۰/۵۷	۴۴/۸۸ ± ۵/۳۰a
		۱۵	۶/۲۰ ± ۱/۴۴	۱۸/۰۰ ± ۶/۰۰	۶/۶۶ ± ۳/۰۵	۴۴/۴ ± ۵/۰۰b
	۵۰۰	۳۰	۴/۳۰ ± ۰/۴۰	۱۴/۳۳ ± ۳/۲۱	۵/۳۳ ± ۰/۵۷	۷۱/۱۰ ± ۱/۲۳a
		۱۵	۷/۸۰ ± ۱/۴۸	۲۳/۰۰ ± ۲/۶۴	۷/۶۶ ± ۲/۵۱	۶۱/۵ ± ۷/۰۵b
سبز مالاشیت	۲	۶۰	۱/۰۰ ± ۰/۴۳	۴۷/۷۸ ± ۱/۹۵	۲/۸۵ ± ۰/۴۶	۶۴/۱ ± ۳/۴۵a
--	کنترل	---	۸۱/۸۵ ± ۱/۶۵	---	---	۹/۷۳ ± ۲/۸۰

a: عدم مشاهده رشد قارچ بعد از ۷۲ ساعت

b: مشاهده رشد قارچ بعد از ۷۲ ساعت

همان‌طور که قبلا ذکر شد، پارامترهایی چون پتانسیل ردوکس آب و پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شد، به‌طوری‌که در خصوص آب معادل ۲۲mv- و برای پراکسید هیدروژن معادل ۲۵۰mv ثبت گردید که بعد از

www.SID.ir

Archive of SID

اعمال تیمارها، این مقدار برای آب به ۴۴mv+ رسید، این رقم، بیانگر عملکرد صحیح پراکسید هیدروژن در حذف بار آلی موجود در محیط است. در ضمن، تغییرات قابل توجهی در مورد pH و درجه حرارت مشاهده نشد، اما میزان اکسیژن محلول آب در زمان اعمال تیمارها با پراکسید هیدروژن افزایش یافت، بدین ترتیب که میزان اکسیژن در ورودی معادل ۸-۹mg/l و در خروجی معادل ۷mg/l برای تیمار شاهد ثبت شد، ولی با اعمال تیمار پراکسید هیدروژن با غلظت ۵۰۰ppm این مقدار در خروجی به ۱۰mg/l و برای تیمار با غلظت ۱۰۰۰ppm میزان ۱۴mg/l در خروجی ثبت شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از پراکسید هیدروژن آثار مخربی بر روی کاربر و محیط زیست ندارد بلکه سبب افزایش میزان اکسیژن محلول آب، در خروجی می گردد.

تکرار آزمایش‌ها با H_2O_2: در آزمایش دوم که در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای پاچنار لرستان انجام شد، تیمار با غلظت ۲۵۰ ppm از پراکسید هیدروژن به مدت ۳۰ دقیقه برای کنترل رشد قارچ موثر تشخیص داده شد و تیمارهای ۱۰۰۰ ppm و ۵۰۰ نیز اگرچه برای کنترل رشد قارچ موثر بودند، اما تاثیرات سمی بر روی تخم داشتند، به‌طوری‌که به ترتیب ۱/۰۸± ۸/۵ و ۰/۶۶ ± ۳۹/۰۶ درصد موجب تلفات و مرگ و میر شدند (جدول ۳).

جدول ۳- میزان تلفات و مرگ و میر تخم‌های ماهی در کارگاه تکثیر پاچنار با اعمال غلظت‌های مختلف از H_2O_2 برای مدت زمان‌های استعمال مختلف در دمای ^{0C} ۷

نوع دارو	غلظت تیمارهای مختلف	مدت زمان (دقیقه)	تلفات (Mean ± SD)
پراکسید هیدروژن ppm	۱۰۰۰	۳۰	۸/۵ ±۱/۰۸
	۵۰۰	۱۵	۳۸/۶۲±۰/۸۸
		۳۰	۱۸/۶۳±۱/۱۵
	۲۵۰	۳۰	۱/۶۰±۰/۲۶
		۱۵	۴/۱۰ ±۰/۵۵
سبز مالاشیت mg/L	۲	۶۰	۱/۴ ± ۰/۱۷

بحث و نتیجه‌گیری

پراکسید هیدروژن، ماده نسبتاً مطمئنی است در صنایع غذایی و بهداشت آب آشامیدنی که به‌عنوان عامل ضدمیکربی کاربرد دارد، همچنین در صنایع نساجی به عنوان عامل رنگبری به‌کار می‌رود، و بر روی دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از قبیل باکتری‌ها، مخمرها و اسپورهای قارچی موثر بوده و دارای خاصیت ضدعفونی‌کنندگی موثری است (۲).

پژوهش انجام شده، نتایج تحقیقات (۴، ۷ و۸) را در مورد تاثیرات قارچ کشی تیمار ۱۰۰۰ ppm از پراکسید هیدروژن تایید می‌کند، ولی در این بررسی، کاهش درصد تخم‌گشایی در مورد این تیمار مشاهده شد چرا که این غلظت دارای تاثیرات سمی بر روی تخم ماهی بود. اگرچه تیمار ۵۰۰ ppm پراکسید هیدروژن به مدت ۱۵ دقیقه، به‌صورت یک روز در میان می‌تواند از آلودگی قارچی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جلوگیری کند اما در این مطالعه، این مسئله در کارگاه کلاردشت تایید نشده ولی میزان تخم گشایی را نسبت به سبز مالاشیت بهبود بخشید، اما در مورد کارگاه پاچنار مطلب مذکور تائید شد و در نهایت تیمار ۲۵۰ mg/l از H_2O_2 به مدت ۳۰ دقیقه در این کارگاه، نه تنها برای کنترل موثر رشد قارچ کافی تشخیص داده شد، بلکه فاقد تاثیرات سمی بر روی تخم‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

بود. البته ذکر این نکته لازم است که پراکسید هیدروژن مورد استفاده در این طرح که از نوع ۳۵درصد صنعتی بود، به عنوان ماده فعال ۱۰۰درصد در نظر گرفته نشد.

غلظت پراکسید هیدروژن که برای کنترل رشد قارچ بر روی تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، در یک کارگاه، موثر تشخیص داده می شود، ممکن است بسته به نوع منبع آبی (که در مورد طرح پژوهشی مزبور در دو مورد متفاوت بود)، خصوصیات شیمیایی آب و تراکم اسپورهای قارچی در کارگاه دیگر متفاوت باشد، به‌طوری‌که تیمار ppm ۲۵۰ ممکن است در کارگاه تکثیر ماهی صحیح عمل کند، اما در کارگاه دیگری نیاز به تیمار با غلظت‌های بالاتر تا حد ppm ۱۰۰۰ برای کنترل کامل رشد قارچ باشد، این پدیده را می توان به احتمال زیاد مربوط به شاخص سختی کل آب مربوط دانست، چرا که در مورد یک‌سری داروهای شیمیایی دیگر از قبیل سولفات مس هم غلظت داروی مورد استفاده با شاخص سختی کل ارتباط تنگاتنگ دارد، به‌طوری‌که با کاهش سختی در صورت استفاده از غلظت‌های زیاد این دارو، عوارض سمیت آن در محیط بروز می‌کند و با افزایش سختی کل، اثر دارو در محیط خنثی می‌شود که این پدیده در مورد پر اکسید هیدروژن هم مشاهده شد. بدین ترتیب که در کارگاه کلاردشت که سختی کل معادل mg/l ۱۳۳ بود، غلظت ppm ۵۰۰ برخلاف غلظت ppm ۱۰۰۰ فاقد تاثیرات سمی بر روی تخم بود، درحالی‌که در کارگاه پاچنار که سختی کل معادل mg/l ۱۰۳ بود، هر دو غلظت ppm ۱۰۰۰ و ۵۰۰ تاثیر سمی بر روی تخم داشتند. البته خود این پدیده می تواند موضوع تحقیقات جدیدی در این زمینه باشد.

تقدیر و تشکر

در پایان، از آقایان دکتر رفیعی، مهندس ویلکی و حاج محمدرضا حاجیوند که هماهنگی‌های لازم را برای اجرای این طرح پژوهشی به ترتیب در کارگاه‌های تکثیر و پرورش کلاردشت و پاچنار عهده دار بودند، سپاسگزاریم. از آقای مایک بارنز از کارگاه تکثیر ایالتی مک ننی ایالات متحده، همچنین از کارکنان کارگاه تکثیر و پرورش آزادماهیان کلاردشت و سرکار خانم رمضانی که در هموار ساختن مسیر انجام طرح پژوهشی سهمی به‌سزایی داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

۱- ابراهیم زاده، موسوی، حسینعلی ۱۳۷۷. بررسی فلور قارچی کپور ماهیان پرورشی در مجتمع تکثیر و پرورش ماهی سفید، رساله دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.

۲- ایماندل، کرامت ا... ۱۳۷۵. گندزداها و ضدعفونی‌کننده ها و کاربرد آن در بهداشت محیط زیست.

۳- سادات اخوی، سید رضا، ۷۳-۱۳۷۲. بررسی آلودگی‌های قارچی تخم تاس ماهیان در کارگاه تکثیر و پرورش شهید بهشتی (سد سنگر) رساله دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.

4-Barnes, M.E., D.E. Wwing, T.T. Cordes, and G.L yong. 1998. Observation on Hydrogen Peroxide Control of Saprolegnia *spp*, During Rainbow Trout Egg Incubation. The Progressicv Fish- Cultuyist, Vol 59 (No.4). P, 67-70.

5-Foster, F.J., and K.A. Oster. 1947.The Use of Malachite Green as a Fish Fungicidol and Antiseptic, The Progressive Fish Culturist, 3 (18): 7-9

6-Kitancharoen, N., A. Yamaoto., and K.Hatai, 1997. Fungicidal Effect of Hydrogen Peroxide on Fungal, Infection of Rainhow Trout Eggs. Mycoscience, 38:375-378.

7-Kitancharoen, N., A. Yamato., and K.Hatai, 1998. Effects of Sodium Chloride Hydrogen Peroxide and Malachite Green on Fungal Infection in Rain How Trout Eggs, Biocontrol Science, Vol 3, No.2, 113-115.

www.SID.ir

Archive of SID

8-Marking, L.L., J.J. Rach, and J.M. Schreier. 1994.Evaluation of Antifungal Agents for Fish Cultur, The Progressive Fish Culturist, Vol 56 (No.4) P:225.231.
9- Sriwastava, R.C. 1986. Fish Mycopathology, P:11-45.

www.SID.ir

Archive of SID

A Comparative Study of the Effect of Hydrogen Peroxide as against Mallachite Green Used for Prevention and Control of Fungal Infection During Hatching Peroid in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss)* Eggs

A.R. Mirvaghefi[1] **G. Azari Takami**[2] **S.A. Jafarpuor**[3]

Abstract

An experiment was conducted to investigate the effects of different doses of hydrogen peroxide on fertilized eggs of rainbow trout as compared to use of mallachite green, which is commonly used in hatcheries. For *In vitro* tests, treatment with 250, 500 or 1000 mg/l of H_2O_2 for either 15 or 30 min was shown to be effective in control of fungi (controlled fungi in petridish), and for *In vivo* test, treatment with 250 mg/l of H_2O_2 for 30 min at 7°C was adequate for complete fungal control. There were no significant differences doserved with 2 mg/l malachite green in terms of either percentage of eggs infected or mortality until eyed egg stage. The results indicate that H_2O_2 is not only not dengerous for hygienic and environemental conditions but prolitable and suitable due to oxygen release and improvement of water quality.

Keywords: Hydroegen peroxide, Malachite green, Fungal infection, Mortality rate, Rainbow trout.

[1] ***- Assistant Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran (E-mail: vaghefi@nrf.ut.ac.ir)***

[2] ***- Professor, Faculty of Vetenary University of Tehran***

[3] ***-Former Graduate Student, Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran***

www.SID.ir