

## (*Acipenser persicus*)

\*

- ۱- دانشجوی دکترای شیلات، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران
- ۲- دانشیار، گروه محیط زیست دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس،  
تلفن: ۰۱۲۲-۶۲۵۳۱۰۱-۳
- ۳- استاد، گروه علوم دامی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- ۴- استاد، گروه علوم شیلاتی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد
- ۵- استادیار پژوهشی، مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری

ازن به علت داشتن نیمه عمر پایین و عاری بودن از عوارض سوء زیست محیطی، به عنوان یکی از مطلوبترین مواد گندزدا و کنترل کننده قارچ در آبی پروری شناخته شده است. هدف این تحقیق، بررسی قابلیت ازن اسیون لحظه‌ای و همچنین تیمار فیزیکی در افزایش میزان تخم گشایی است. دو غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm ازن با مکانیسم تزریق لحظه‌ای (۱۰ دقیقه) در دو حالت ازن اسیون تخم همراه با تیمار فیزیکی (برداشت تخمهای مرده و قارچ زده به مدت ۵ بار در روز) و ازن اسیون تخم بدون تیمار فیزیکی نسبت به تیمار شاهد (بدون گندزدایی) بر روی میزان تخم گشایی آزمایش شد. ازن اسیون تخمها همراه با تیمار فیزیکی، بالاترین میزان تخم گشایی (۸۰/۶٪) را باعث شد. ازن اسیون بدون تیمار فیزیکی ۵۸/۱٪ و تیمار شاهد ۳۱٪ از تخم گشایی را حاصل داده اند. از نظر اقتصادی، غلظت ۰/۰۵ ppm ازن با تیمار فیزیکی، با داشتن ۷۹/۸٪ تخم گشایی به دلیل به حداقل رساندن چشمگیر مصرف انرژی و هزینه نگهداری سیستم ازن اسیون، به عنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ به حساب می‌آید. بین میزان درجه حرارت آب کارگاه و درصد قارچ زدگی تخمها در تیمار شاهد، همبستگی بسیار ضعیفی می‌آید. (r=۰/۰۹) مشاهده شد.

: آلودگی قارچی، تخم تاسماهی ایرانی، ازن، تیمار فیزیکی، *Acipenser persicus*.

دارد. در pH پایین (کمتر از ۷)، ازن مولکولی (O<sub>۳</sub>) نوع غالب می‌باشد و در هنگام افزایش pH، به رادیکالهای هیدروکسیل بسیار کم عمر متمایل می‌شود [۳] و قدرت اکسیداسیون آن افزایش می‌یابد [۴].  
کاربریهای ازن در آبی پروری به طور عمده به وسیله دو مکانیسم گندزدایی و بهبود کیفیت آب صورت می‌گیرد [۵]. بر

ازن دارای خاصیت اکسیدکنندگی بالایی است؛ و واکنش آن در آب به واسطه رادیکالهای مختلفی صورت می‌پذیرد که اصلترین آنها رادیکالهای آزاد هیدروکسیل (OH<sup>•</sup>)، فعالتر از ازن است [۱]. ازن یک اکسید کننده پروتوپلاسم است [۲] و به خاطر داشتن قدرت اکسیدکنندگی بالا، باقیماندگی کمی

سامرفلت و هوچهمر<sup>۴</sup> [۲۷] تشریح شده است. بنابراین اوسلی<sup>۵</sup> [۶]، افزایش کارایی انتقال ازن به آب می‌تواند موجب کاهش اندازه تجهیزات مورد نیاز و همچنین کاهش هزینه‌های تولید ازن شود. قدرت مؤثر اکسیداسیون ازن و میزان اکسیداسیون آن به pH، درجه حرارت، میزان بی‌کربنات و میزان کربن آلی کل (TOC) آب وابسته است [۲۵]. نیمه عمر ازن در هوا با فشار معمولی اتمسفر ۱۲ ساعت است و در آب خالص در ۲۰°C، حدود ۱۶۵ دقیقه است [۲۳]. ویدمیر<sup>۱</sup> [۳۰] نیمه عمر ازن را ۱۰-۲۰ دقیقه عنوان کرده است.

آلودگی‌های قارچی ماهی به وسیله اوومیسیتها ایجاد می‌شود که خانواده ساپروولگنیاسه‌آ به عنوان مهمترین آنها می‌باشد [۳۲] این خانواده دارای جنسهای متعددی است که نیش و هاگز<sup>۷</sup> [۳۳] به آنها اشاره کرده اند. آلودگی‌های قارچی در کارگاههای تکثیر ماهی می‌توانند به مرگ و میر وسیعی منجر گردند [۲۶]. خسارت ناشی از آن سالیانه منجر به از دست رفتن ۲۰-۴۰٪ تولید تخم می‌شود [۱۸]. تحقیقات زیادی در مورد مواد و روشهای متنوع کنترل ساپروولگنیا بر روی تخم ماهی انجام شده است [۳۲-۳۸]. ضد عفونی تخمها ممکن است به تولید پایدارتر منجر شود [۸]. مالاشیت گرین و فرمالین از پرکاربردترین سموم قارچ کش در آبی پروری اند. استفاه از مالاشیت گرین در بعضی کشورها ممنوع شده است [۳۹]. بنابراین استفاده از ازن به دلیل داشتن نیمه عمر پایین و نداشتن عوارض سوء زیست محیطی و همچنین به علت تولید کم محصولات جانبی مضر [۲۷] می‌تواند به عنوان یکی از مطلوبترین مواد جایگزین برای کنترل آلودگی‌های قارچی در نظر گرفته شود.

روش تزریق لحظه‌ای یا دایمی ازن به مدیریت پرورش بستگی دارد [۲۸]، از آنجایی که ویدمیر و همکاران [۱۹] میزان ۰/۰۳ ppm از ازن را به صورت تزریق دایمی، برای مبارزه با قارچ ساپروولگنیا در تخم ماهی مناسب می‌دانند، بنابراین میزان مصرف ازن در طول شبانه روز بسیار بیشتر از تزریق لحظه‌ای

اساس این دو خصوصیت، سیستمهای بازچرخشی پرورش ماهی و مراکز تکثیر ماهی از ازن استفاده می‌نمایند. گندزدایی آب به وسیله ازن در آزمایشهای مختلفی انجام شده است و براساس نتایج هر عامل بیماریزا نیازمند زمانهای تماس و غلظتهای متفاوتی از ازن برای نابودی می‌باشد. در آبی پروری، نابودی ویروسهای IHN [۶، ۷]، IPN [۸، ۹]، WSBV در میگو [۱۰]، و Nodavirus [۱۱، ۸] نابودی باکتریهای *Aeromonas salmonicida* [۹، ۱۲]، *Pseudomonas fluorescens* [۹، ۱۲]، *Yersinia ruckeri* [۹، ۱۲]، *Vibrio anguillarum* [۹، ۱۳]، *V. salmonicida* [۹] و *Flexibacter columnaris* [۱۴] نابودی تک یاختگان *Ceratomyxa shasta* [۱۵، ۱۶]، و *Giardia lamblia* [۶] و نابودی قارچ ساپروولگنیا [۱۷، ۱۸، ۱۹] با ازن حاصل شده است.

بهبود بخشی کیفیت آب با استفاده از ازن نیز به وسیله مکانیسم‌های زیر صورت می‌گیرد: ترسیب مواد جامد [۲۱، ۵، ۲۰]، اکسید کردن و برداشت مواد آلی [۲۴، ۲۳، ۲۲]، برداشت آهن و منگنز [۶، ۱، ۲۵]، برداشت رنگ آب [۲۷، ۲۶]، برداشت نیتريت [۱، ۲۸]، برداشت آمونیاک [۲۸]، و تولید اکسیژن به عنوان محصول نهایی و کاهش BOD و COD [۶، ۱، ۱۲].

تولید ازن به وسیله مولد کرونا به عنوان متداولترین روش تولید ازن محسوب می‌شود [۶، ۱، ۲۵]. چنانچه دستگاههای مولد ازن از تجهیزات مولد اکسیژن به عنوان گاز ورودی به جای هوای معمولی استفاده نمایند، افزایش کارایی تولید ازن تا ۲-۳ برابر صورت می‌گیرد [۶، ۲۹، ۲۵] و از طرف دیگر از تولید مواد ناخواسته‌ای چون اکسیدهای نیتروژن جلوگیری می‌شود [۳۰، ۶]، به طوری که بنا بر نظر بابلون<sup>۱</sup> و همکاران [۲۵]، در شرایط طبیعی به ازای تولید هر کیلوگرم ازن، ۳-۵ گرم اسیدنیتريك از هوا تولید می‌شود. انتقال گاز ازن به آب (نرخ انتقال، واحدهای انتقال دهنده، زمان تماس و ...) به وسیله لانگلیس<sup>۲</sup> و همکاران [۳۱]، سامرفلت<sup>۳</sup> [۵] و

4. Summerfelt and Hochheimer

5. Owsley

6. Wedemeyer

7. Neish and Hughes

1. Bablon

2. Langlais

3. Summerfelt

می‌شدند. در این پژوهش، در هر سری آزمایش تخمهای لقاح یافته از مولدین مختلف، به یک انکوباتور یوشنکو، که دارای ۴ جعبه تخم است، منتقل و در هر جعبه تعداد ۱۰۰۰ تخم جهت انکوباسیون قرار داده می‌شدند. زمان تخم‌گشایی برای هر سری تخم به طور متوسط تا ۱۲۰ ساعت (۵ روز) پس از زمان لقاح به طول می‌انجامید. میزان جریان آب در هر جعبه تخم ۵L/min بود.

گاز ازن به وسیله یک دستگاه مولد ازن بر اساس مولد کرونا از هوای معمولی تولید شد. میزان ازن تولید شده با آن با توجه به اظهار شرکت سازنده ۲g/h و میزان مصرف انرژی آن ۱۰۰w/h بود. ازن تولید شده با یک دستگاه پمپ ونتوری<sup>۱</sup> به یک مخزن ۱۰۰L انتقال یافت. بعد از گذشت حدود دو ساعت ازن اسیون مداوم با این سیستم، غلظت ازن محلول به حدود ppm ۰/۰۵ می‌رسید و پس از گذشت حدود ۴ ساعت از ناسیون مداوم به ppm ۰/۱ می‌رسید.

ازن محلول به وسیله روش ایندیگو تری سولفونات<sup>۲</sup> تشریح شده به وسیله بادر و هوین<sup>۳</sup> [۴۱] با استفاده از یک دستگاه اسپکتروفوتومتر DR۲۴۰۰ شرکت HACH و آمپولهای معرف (در محدوده ۰ - ۰/۲۵ppm) مربوط اندازه‌گیری می‌شد.

چهار تیمار ازن همراه با یک تیمار شاهد (بدون گندزدایی و بدون برداشت تخمهای مرده و قارچ زده)، هر کدام از نظر زمانی سه بار تکرار شدند که مشخصات آنها در جدول ۱ ارائه شده است. هر یک از تیمارهای ازن به مدت ۱۰ دقیقه یکبار در هر روز، تخمها را ضد عفونی کردند. از ناسیون در هر تکرار، از روز اول تا قبل از تخم‌گشایی تخمها در روز پنجم ادامه یافت.

مشخصات تیمارهای ازن (تیمارهای اول تا چهارم) و شاهد (تیمار پنجم)

تیمار اول	ازن ۰/۰۵ Ppm (تیمار شیمیایی)
تیمار دوم	ppm ۰/۱ ازن (تیمار شیمیایی)
تیمار سوم	ازن ۰/۰۵ ppm با جمع آوری تخمهای مرده و قارچ زده (تیمار شیمیایی + تیمار فیزیکی)
تیمار چهارم	ازن ۰/۱ ppm با جمع آوری تخمهای مرده و قارچ زده (تیمار شیمیایی + تیمار فیزیکی)
تیمار پنجم	شاهد (بدون گندزدایی)

1. Venturi aspirator pump 2. Indigo trisulphonate  
3. Bader and Hoigne

می‌شود. به علت گران بودن تجهیزات ازن اسیون گران و ضرورت تزریق ازن در پایتترین سطح مؤثر [۴۰]، بنابراین هدف اصلی از این آزمایش، ازن اسیون در غلظت‌های اندکی بالاتر از ۰/۰۳، اما در حالت تزریق لحظه‌ای (۱۰ دقیقه در روز) به جای تزریق شبانه روزی است تا میزان تزریق ازن به حد بسیار زیادی کاهش یابد.

همچنین از آنجا که روش اصلی کنترل قارچ تخمها، برداشت فیزیکی تخمهای مرده و قارچ زده در فواصل زمانی معین و همچنین استفاده از حمام شیمیایی است [۳۲]، در این تحقیق، مقایسه میزان تخم‌گشایی حاصل از دو روش از ناسیون همراه با تیمار فیزیکی جمع آوری تخمهای مرده و قارچ زده، با روش ازن اسیون تنها (بدون جمع آوری) در دوره انکوباسیون تخم ماهی قره برون، به عنوان هدف دیگر مورد نظر می‌باشد.

این بررسی به مدت ۶۰ روز طی ماههای فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۲ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری انجام شد. آب کارگاه از ترکیب آب رودخانه تجن و چاه تأمین گردید. اکسیژن محلول آب در سطح اشباع و بالای ۶ppm بود و درجه حرارت آب با توجه به نوسانات آب و هوایی منطقه در محدوده ۱۳±۴ °C قرار داشت.

توده‌های زیادی از ماهیان مولد نر و ماده قره برون (*Acipenser persicus*) که از دریای خزر به طور متوالی صید می‌شدند، به حوضچه‌های گرد کارگاه تکثیر منتقل شده و براساس فاکتور درجه حرارت آب و میزان تزریق هورمونهای رسیدگی جنسی، برای تکثیر و تولید تخم و اسپرم آماده

و تولید لارو (۸۱/۴٪) در بین همه تیمارها منجر شد. ازن اسیون فقط در تیمارهای اول و دوم بدون برداشت تخمهای مرده و قارچ زده موجب تخم گشایی متوسطی (۵۶/۲٪ تا ۶۰/۱٪) در بین تیمارها شد (شکل ۱). همچنین تیمار شاهد که بدون گندزدایی بوده است، کمترین میزان تخم گشایی (۳۱٪) را در بین تیمارها به خود اختصاص داده است (شکل ۱).

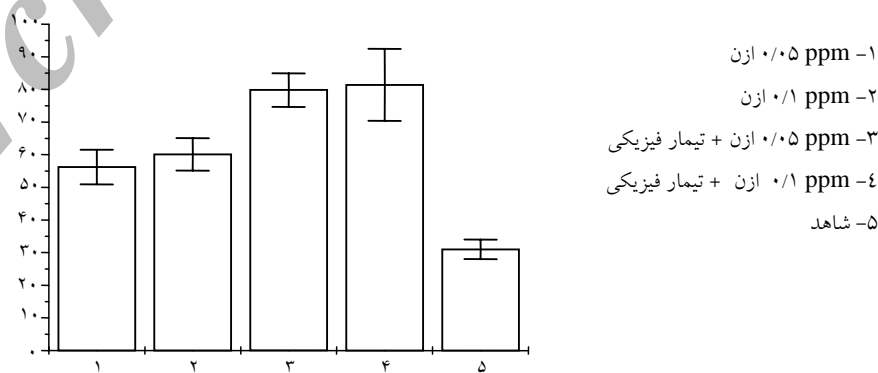
بین تیمارهای اول و دوم (ازن اسیون بدون جمع‌آوری تخمهای مرده و قارچ زده) با تیمارهای سوم و چهارم (ازن اسیون با جمع‌آوری تخمهای مرده و قارچ زده) و همچنین با تیمار پنجم (تیمار شاهد) در میزان تخم گشایی اختلاف معنادار ( $P < 0/01$ ) وجود داشت (جدول ۲).

همبستگی بین درجه حرارت آب کارگاه و میانگین درصد قارچ زدگی تیمار شاهد در شکل ۲ نمایش داده شده است. میزان همبستگی بین درجه حرارت و میانگین درصد قارچ زدگی  $r = 0/09$  می‌باشد.

در تیمارهای سوم و چهارم جمع‌آوری فیزیکی تخمهای مرده و قارچ زده به وسیله عمل سیفون کردن ۵ بار در روز صورت می‌گرفت. در همه تیمارها، تخمهای مرده و قارچ زده شمارش می‌شد. پس از ایجاد ۱۰ دقیقه زمان برای تماس ازن در تیمارهای مختلف در هر جعبه تخم در روز، جریان آب ورودی به هر جعبه تخم دوباره به حالت طبیعی ۵L/min تنظیم می‌شد به طوری که در تیمار شاهد این جریان، همیشه برقرار بود.

میانگین تخم گشایی در هر تیمار با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک عامله تحلیل آماری شد و در صورت وجود اختلاف معنادار بین تیمارها ( $P < 0/01$ )، عملیات مقایسات میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

با مقایسه میزان تخم گشایی تخمهای تحت تیمار ازن و تخمهای شاهد، (شکل ۱) مشخص می‌شود که در تیمار چهارم، ازن اسیون هر روزه با غلظت ۰/۱ ppm به همراه برداشت تخمهای مرده و قارچ زده به بالاترین میزان تخم گشایی

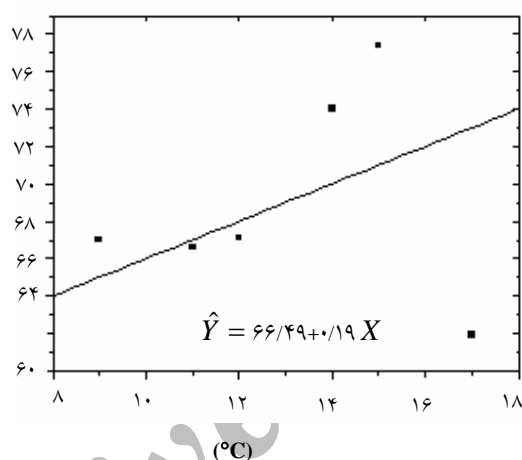


درصد تخم گشایی بر حسب تیمارهای مختلف

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف در میزان تخم گشایی به وسیله آزمون دانکن ( $P < 0.01$ )

± SEM	
814±72 a*	تیمار چهارم (0.1ppm ازن + تیمار فیزیکی)
798/3±30 a	تیمار سوم (0.05 ppm ازن + تیمار فیزیکی)
601±29 ab	تیمار دوم (0.1 ppm ازن)
562±32 b	تیمار اول (0.05 ppm ازن)
310±22 c	تیمار پنجم (شاهد)

a\*, b و c اختلاف معنادار ( $P < 0.01$ ) در بین تیمارها را بترتیب بر حسب مطلوبیت تخم گشایی حاصله بیان می‌دارد.



همبستگی بین درجه حرارت آب و میانگین درصد قارچ زدگی تیمار شاهد

روش تزریق لحظه ای ازن (با زمان تماس ۱۰ دقیقه) در غلظتهای ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm مورد آزمایش در این تحقیق برای افزایش تخم گشایی و تولید لارو موفقیت آمیز بود. این موضوع موجب کاهش مصرف انرژی تا حد ۵-۱۰ برابر کمتر نسبت به روش تزریق دائمی شد. فرنیس<sup>۱</sup> و همکاران [۱۳] نیز با زمان تماس ۱۰ دقیقه (تزریق لحظه‌ای) موفق به کنترل ساپروولگنیا در تخم قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta fario*) شدند. بنابراین مطابق نظر سامرفلت و همکاران [۳۵] ضرورت ازناسیون در پایینترین سطح ممکن و مؤثر در این تحقیق نیز حاصل شده است.

میزان تخم گشایی در هر دو غلظت ۰/۰۵ ppm و ۰/۱ ppm در تیمارهای اول و دوم که عمل برداشت تخمهای مرده و قارچ زده (تیمار فیزیکی) انجام نشده است و چه در تیمارهای سوم و چهارم که عمل برداشت انجام شده است، دارای اختلاف معنادار ( $P < 0.01$ ) نسبت به تیمار شاهد بود (جدول ۲). بنابراین سیستم ازناسیون لحظه‌ای با زمان تماس ۱۰ دقیقه در هر روز توانسته است تخم گشایی را به طور متوسط تا میزان ۵۸/۱٪ در تیمارهای اول و دوم و به طور متوسط تا ۸۰/۶٪ در تیمارهای سوم و چهارم نسبت به تیمار شاهد (۳۱٪) افزایش دهد. ویدمیر و همکاران [۴۲] به روش تزریق دائمی در کنترل ساپروولگنیا در تخم آزادماهیان اشاره کرده‌اند.

1. Forneris

حد کشنده (سمی) تخم ماهی معرفی می‌نمایند. گروتمول<sup>۳</sup> و همکاران [۸] غلظت ازن حتی تا میزان ۲ppm (با زمان تماس ۲ دقیقه) را برای تخم گشایی تخم سه گونه ماهی دریایی مضر تشخیص ندادند.

با افزایش روند درجه حرارت آب کارگاه طی ماه اردیبهشت، که تا حد ۱۷°C نیز رسیده است، هیچگونه ارتباطی را بین روند درجه حرارت و میزان قارچ زدگی تخمها در تیمار شاهد نمی‌توان پیدا کرد (شکل ۲). میزان همبستگی بسیار ضعیف حاصل ( $r=0/09$ ) حاکی از عملکرد مستقل دو پدیده (روند درجه حرارت و میزان قارچ زدگی تخمها) از یکدیگر است.

تخم ماهی قره برون از نظر فیزیولوژیک به گونه‌ای است که حدوداً تا ساعت سی‌ام پس از لقاح هیچگونه عوارض قارچی شدن را از خود نشان نمی‌دهد و پس از آن عوارض ابتلا به قارچ را بروز می‌دهد. بنابراین آزمایش و مقایسه شیوه‌های گندزدایی تخم این ماهی پس از ساعت سی‌ام لقاح به منظور کاهش هر چه بیشتر استعمال ماده گندزدا (خصوصاً ازن) اهمیت می‌یابد. از آنجا که میزان واقعی تخم ماهیان خاویاری برای انکوباسیون در هر جعبه تخم در انکوباتور یوشنکو بین ۵۰-۴۰ هزار تخم می‌باشد و در این تحقیق صرفاً ۱۰۰۰ تخم در هر جعبه با ازن تیمار شده‌اند، بنابراین ضروری است تا بمنظور کاربردی شدن نتایج اینگونه تحقیقات مقدار واقعی تخم در هر جعبه تخم ازن اسیون شود. در این خصوص گروتمول و همکاران [۱۴] اظهار می‌دارند بهینه ساختن (اپتیمم سازی) میزان تخمها نسبت به حجم ماده گندزدا ضروری است.

پمپ و نتوری و تجهیزات انتقال دهنده گاز ازن به کار گرفته شده در این تحقیق، ضروری است که وسیله محققان این بررسی طراحی شده است، نیاز به استفاده از کمپرسور هوا را برای انتقال گاز ازن به آب برطرف کرده است، با این کار تا میزان زیادی از هزینه‌های مربوط به انتقال گاز نسبت به

هر چند تیمار چهارم (۰/۱ ppm ازن همراه با تیمار فیزیکی) بالاترین میزان تخم گشایی (۰/۸۱/۴) را در بین همه تیمارها دارا بود (شکل ۱ و جدول ۲)، و در تحقیقات صورت گرفته به وسیله فرنریس و همکاران [۱۸] غلظت ۰/۱ ppm ازن بالاترین میزان تخم گشایی (۰/۶۹/۴) را در بین تیمارهای مختلف ازن به وجود آورد، اما براساس جدول ۲ اختلاف معناداری ( $P<0/01$ ) بین غلظت ۰/۰۵ ppm (تیمار سوم) و غلظت ۰/۱ ppm (تیمار چهارم) در میزان تخم گشایی دیده نشد. بنابراین از لحاظ اقتصادی (پایین آمدن چشمگیر مصرف انرژی و هزینه نگهداری سیستم انکوباسیون) تیمار سوم با غلظت ۰/۰۵ ppm ازن همراه با جمع آوری تخمهای مرده و قارچ زده به مدت ۵ بار در روز، به عنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ تلقی می‌شود.

بنابر نظر رند و ماندن<sup>۱</sup> [۴۲] تخمهای مرده به قارچی شدن حساسترند و آلودگی ممکن است بسرعت بر روی تخمهای زنده گسترش یابد. همچنین برونو و وود<sup>۲</sup> [۳۲] معتقدند که اگر تخمهای مرده برداشت نشوند، رشد هیفای قارچ بر روی غشای کوریونیک تخمهای زنده بسرعت گسترش می‌یابد. علاوه بر این، نویسندگان اخیر معتقدند روش اصلی کنترل قارچ بر روی تخمها، برداشت تخمهای مرده در فواصل زمانی معین همراه با حمامهای شیمیایی است. بنابراین برداشت تخمهای مرده و قارچ زده (تیمار فیزیکی) که در این تحقیق در تیمارهای سوم و چهارم، ۵ بار در روز انجام شده است، به افزایش تخم گشایی نسبت به تیمارهای اول و دوم (بدون جمع آوری) منجر شده است. مطابق جدول ۲ اختلاف بین آنها نیز معنادار ( $P<0/01$ ) است.

در این بررسی، هیچگونه ناهنجاری رفتاری و شنای غیرطبیعی در لاروهای حاصل در هر دو غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm ازن دیده نشده است. همچنین این غلظتها موجب مرگ و میر تخم نشده است فرنریس و همکاران [۱۸] و ویدمیر و همکاران [۱۹] غلظت ۰/۳ ppm ازن را به عنوان

1. Rand and Munden  
2. Bruno and Wood

3. Grotmol

- and *Environmental Microbiology* 2000; 66(4): pp. 1405-1409.
- [3] Rice, R. G., Wilkes, J. F.; "Fundamental aspects of ozone chemistry in recirculating cooling water systems: data evaluation needs"; *Ozone Sci. Eng.* 1992; 14: pp. 329-365.
- [4] Staehelin, J., Hoigne, J.; "Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reaction"; *Environmental Science and Technology*; 1985; 19: pp. 1206-1213.
- [5] Summerfelt, S. T.; "Ozonation and UV irradiation- an introduction and examples of current applications"; *Aquac. Eng.* 2003; 28: pp. 21-36.
- [6] Owsley, D. E.; "Ozone for disinfecting hatchery rearing water"; In Colt, J., White, R. J. (Eds.), *American Fisheries Society Symposium*; 1991; 10: pp. 417-420.
- [7] Yoshimizu, M., Hyuga, S., Oh, M. J., Ezura, Y., Ito, S., Minura, G.; "Disinfection effect of oxidant produced by ozonation of seawater on fish pathogenic viruses, bacteria, and ciliate"; *Dis. Asian Aquac.* 1995; 1: pp. 203-209.
- [8] Grotmol, S., Dahl-Paulsen, E. Totland, G. k.; "Hatchability of eggs from Atlantic cod, turbot and Atlantic halibut after disinfection with ozonated seawater"; *Aquaculture*; 2003; 221: pp. 245-254.
- [9] Liltved, H., Hektoen, H., Efraimsen, H.; "Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or irradiation in water of different salinity"; *Aquac. Eng.* 1995; 14: pp. 107-122.
- [10] Chang, P. S., Chen, L. J., Wang, U. C.; "The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus"; *Aquaculture*; 1998; 166: pp. 1-17.

کمپرسور (هزینه اولیه کمپرسور و هزینه مصرف انرژی) صرفه‌جویی شده است. در مقابل به علت آنکه بعد از ۲ ساعت ازن اسپون با این روش در یک مخزن ۱۰۰L، غلظت ۰/۰۰۵g (۰/۰۵ppm) ازن ایجاد شده است، بنابراین میزان کارایی انتقال ازن به محلول ۰/۰۰۱۲۵ بوده است. هر چند میزان کارایی انتقال گاز ازن که به وسیله منپل و همکاران [۴۳] با استفاده از کمپرسور هوا صورت گرفت، ۰/۰۰۲ بوده است.

توجه به این نکته ضروری است که هیچ یک از روشهای کنترل آلودگی قارچی در تخم ماهی قادر به کنترل صددرصد قارچ نمی‌باشد، زیرا بنا به گفته رابرز و شفرد [۳۹] بخشی از تخمهای زنده نیز در طول رشد جنینی خواهند مرد و چنین تخمهایی پس از مرگ به قارچ آلوده می‌شوند و سپس آلودگی به دیگر تخمهای سالم مجاور نیز گسترش می‌یابد. ازن و تیمارهای شیمیایی و فیزیکی دیگر، فقط موجب عدم گسترش و شیوع هیفای قارچ به تخمهای سالم مجاور می‌گردد.

از همکاری و مساعدتهای مدیریت و کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری، مرکز تکثیر و پرورش شهید انصاری رشت، اداره کل شیلات گیلان، آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران و مؤسسه تحقیقات ماهیان خاویاری رشت بی نهایت سپاسگزاریم.

- [1] Nickols, D., Varas, A. J.; "Ozonation. In: Bryant, E. A., Fulton, G. P., Budd, G. C. (Eds.), *Disinfection Alternatives for Safe Drinking Water*"; Van Nostrand Reinhold, New York. 1992; pp. 196-258.
- [2] Fisher, C. W., Lee, D., Dodge, B. A., Hamman, K. M., Robbins, J. B., Martin, S. E.; "Influence of Catalase and superoxide Dismutase on ozone Inactivation of *Listeria monocytogenes*"; *Applied*

- [11] Arimoto, M., Sato, J., Maruyama, k., Mimura, G., Furusawa, I.; "Effect of chemical and physical treatment on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV)"; *Aquaculture* 1996; 143: pp. 15-22.
- [12] Colberg, P. J., Lingg, A. J.; "Effects of ozonation on microbial fish pathogens, ammonia, nitrate and BOD in simulated reuse hatchery water"; *J. Fish Res. Board Can.*; 1978; 35: pp. 1290-1296.
- [13] Sugita, H. Asai, T., Hayshi, K., Mitsuya, T., Amanuma, K., Maruyama, C., Deguchi, Y.; "Application of ozone disinfection to remove *Enterococcus seriolicida*, *Pasteurella piscicida*, and *Vibrio anguillarum* from seawater"; *Appl. Environ. Microbiol.* 1993; 58: pp. 4072-4075.
- [14] Conrad, J. F., Holt, R. A., Kreps, T. D.; "Ozone disinfection of flowing water"; *The progressive Fish Culturist*; 1975; 37: pp.134-136.
- [15] Tipping, J.; "Ozone control of ceratomyxosis: survival and growth benefits to steelhead and cutthroat trout"; *Prog. Fish Cult.* 1988; 50: pp. 202-210.
- [16] Tipping, J. M., Kral, K. B.; "Evaluation of a pilot Ozone system to control *Ceratomyxa shasta* at the Cowlitz Trout Hatchery"; Washington State Game Department, Bulletin 85-18, Olympia; 1985.
- [17] Benoit, R. F., Matlin, N. A.; "Control of saprolegniasis on eggs of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with ozone"; *Transaction of the American Fisheries Society*; 1966; 95: pp. 403-412.
- [18] Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G. B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L., Zoccarato, I.; "The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence"; *Aquaculture*; 221: pp.157-166.
- [19] Wedemeyer, G. A., Nelson, N. C., Yasutake, W. T.; "Potentials and limits for the use of ozone as a fish disease control agent"; *Ozone Sci. Eng.* 1979; 1: pp. 295-318.
- [20] Rueter, J., Johnson, R.; "The use of ozone to improve solids removal during disinfection"; *Aquac. Eng.* 1995; 14: pp. 123-141.
- [21] Tango, M. S., Gagnon, G. A., "Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems"; *Aquac. Eng.*; 2003; 29: pp. 125-137.
- [22] Leynn, M., Duvivier, L., Girboux, P., Ollevier, F.; "Toxicity of Ozone to fish Larvae and *Daphnia magna*"; *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 1998; 41: pp. 176-179.
- [23] Rice, R. G., Robson, C. M., Miller, G. W., Hill, A. G.; "Uses of ozone in drinking water treatment"; *Journal American Water Works Association*; 1981; 73: pp. 1-44.
- [24] Schuur, A. M.; "Evaluation of biosecurity applications for intensive shrimp farming"; *Aquac. Eng.*; 2003; 28: pp. 3-20.
- [25] Bablon *et al.*; "Fundamental aspects, Practical Application of Ozone. In: Langlais, B., Reckhow, D. A. Brink, D. R. (Eds.), *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering*. American Water Works Association Research Foundation"; Denver, CO. 1991; pp. 11-316.
- [26] Smith, S. N., Armstrong, R. A., Springate, J., Barker, G.; "Infection and colonization of trout eggs by Saproleginacea"; *Transactions of the British Mycological Society*; 1985; 85: pp. 719-723.
- [27] Summerfelt, S. T., Hochheimer, J. N.; "Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture"; *Prog. Fish Cult.* 1997; 59: pp. 94-105.
- [28] Brazil, B. L., Summerfelt, S. T., Libey, G. S.; "Application of ozone to recirculating aquaculture systems"; *Conference Proceedings, Northeast*



- 
- Regional Agricultural Engineering Service*, July 1996, Ithaca, NY; pp. 373-389.
- [29] Masschelein, W. J.; "Ozone generation: use of air, oxygen, or air simpsonized with oxygen"; *Ozone Sci. Eng.* 1998; 20: pp. 191-203.
- [30] Wedemeyer, G. A.: "Physiology of fish in intensive culture system. International Thompson Publishing, New York, 1996; pp. 219-226.
- [31] Langlais, B., Reckhow, D. A., Brink, D. R.; "Ozone in Water Treatment: Application and Engineering. Lewis Publishers"; Ann Arbure, MI; 1991.
- [32] Bruno, D. W., Wood, B. P.; "*Saprolegina* and other Oomycetes. In: Woo, P. T. K., Bruno, D. W. (Eds.), *Fish Disease and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infectios*"; NCABI Publishing; 1999; pp. 599-659.
- [33] Neish, G. A., Hughes, G. C.; "Diseases of Fishes Book 6. Fungal Diseases of Fishes. T.W.F. Publications. New Jersey"; 1980; p.159.
- [34] Dawson, V. K. Rach, J. J., "Schreier, T. M.; "Hydrogen proxide as a fungicide for fish culture"; *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*; 1994; 2: pp. 54-56.
- [35] Edgell, P., Lawseth, D., Mclean, W. E., Britton, E. W., "The use of salt solutions to control fungus (*saprolegnia*) infestations on salmon eggs"; *Prog. fish cult.* 55, 48-52.
- [36] Rath, J. J., Marks, J. A., Dawson, V. K.; "Effect of water flow rates in hatching jars to control fungal infections of rainbow trout eggs"; *Prog. Fish cult*; 57; pp. 226-230.
- [37] Schreier, T. M., Rach, J. J., Howe, G. E.; "Efficacy of formalin, Hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal – infected rainbow trout eggs"; *Aquaculture*; 1996; 140: pp. 323-331.
- [38] Waterstrat, P. R., Marking, L. L.; "Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride for the treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall Chinook salmon eggs"; *prog. Fish cult.* 1995; 57: pp. 287-291.
- [39] Roberts, R. J., Shepherd, C. J.; "Handbook of trout and salmon diseases"; *Blackwell Science Inc*; 1997; p. 256.
- [40] Summerfelt, S. T, Hankins, J. A., Weber, A., Durant, M. D.; "Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system: II.Effects on microscreen filtration and water quality"; *Aquaculture*; 1997; 158: pp. 57-67.
- [41] Bader, H., Hoigne, J.; "Determination of ozone in water by the indigo method"; *Water Res*; 1981; 15: pp. 449-456.
- [42] Rand, T. G., Munden, D., "Involvement of zoospores of *Saprolegnia diclina* in the attachment to and invasion of eggs of brook trout under experimental conditions"; *Journal of Aquatic Animal Health*; 1993; 5: pp. 233-239.
- [43] Meunpol, O., Lopinyosiri, K., Menasveta, P., "The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)"; *Aquaculture*; 2003; 220: pp. 437-448.