

## ارزیابی اثر ضد قارچی ازون بر روی آب و رودی کارگاه تکثیر ماهیان خاویاری

\* محمد رضا قمی<sup>۱</sup> و رجب محمد نظری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن، تنکابن، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱۳

### چکیده

قارچ‌های آبزی به عنوان یکی از مهمترین عوامل آسیب رسان به روند تولید تخم ماهی محسوب می‌گردند، بطوری که آلودگی‌های قارچی در کارگاه‌های تکثیر ماهی می‌توانند منجر به مرگ و میر وسیعی گردند. هدف این پژوهش، ارزیابی اثر ضد قارچی ازون و فرمالین در تخم‌های تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و افزایش میزان تخم گشایی آن بوده است. اثرات غلاظت‌های ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm از ازون و غلاظت ۱۰۰۰ ppm از فرمالین بر روی میزان تخم گشایی آزمایش گردید. گندزدایی تخم‌ها با ppm ۱۰۰۰ فرمالین بالاترین میزان تخم گشایی (۷۴ درصد) را در بین همه تیمارها به خود اختصاص داد. در میان تیمارهای ازون، غلاظت ppm ۰/۱ ازون بیشترین نسبت تخم گشایی (۷۱/۴ درصد) را حاصل داد و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ازون در میزان تخم گشایی وجود نداشت ( $P > ۰/۰۵$ ). میزان تخم گشایی تیمار شاهد (بدون گندزدایی) ۵۶/۲ درصد بود، و میزان تخم گشایی این تیمار با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < ۰/۰۵$ ). ازون نسبت به فرمالین ترجیح داده می‌شود و می‌تواند به عنوان یکی از بهترین مواد گندزدا در نظر گرفته شود، به آن دلیل که غلاظت کمتری از ازون برای گندزدایی محیط پرورش کافیست و نتیجه آلودگی‌های محیطی کاهش خواهد یافت. اگر در بالاترین شرایط مصرف ازون (۰/۱ ppm)، غلاظت‌های این دو ماده ازون و فرمالین با هم مقایسه گردند، ازون در نسبت ۱ به ۱۰۰۰۰ (۰/۱ در مقابل ۱۰۰۰ ppm) مورد استفاده واقع شده ولی اثرات تقریباً یکسانی را در میزان تخم گشایی نشان می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** آلودگی قارچی، ازون، تخم گشایی، فرمالین، ماهیان خاویاری

### تولید شده می‌گردد (Forneris و همکاران، ۲۰۰۳).

اینگونه به نظر می‌رسد که چسبیدن ساپرولگنیا به غشای تخم شامل تولید یک ماده غیر فیری توسط قارچ باشد (Beakes، ۱۹۸۳). ریسه چسبیده شده به قارچ بطور محکمی متصل به سطح تخم می‌گردد (Rand و همکاران، ۱۹۹۳). مدت کوتاهی بعد از تماس، اسپورها و ریسه‌های جوان بر روی تخم ماهی قابل تثیت شدن هستند. توسعه ریسه‌ها و پراکنش و نفوذ آنها بدرون تخم به عنوان مهمترین فاکتورها جهت پایه‌گذاری عفونت در کارگاه‌های تکثیر

### مقدمه

تخم ماهیان مورد تکثیر، به لحاظ داشتن مقداری بالای مواد غذایی در خود، مورد علاقه قارچ‌های ساپروفیتی می‌باشند که از آن به عنوان یک منبع غذایی مناسب استفاده کرده و نیازهای غذایی خود را تأمین می‌کنند. از این‌رو، قارچ‌های آبزی به عنوان مهمترین عامل آسیب رسان به روند تکامل تخم و بچه ماهی می‌توانند محسوب گردند بطوری که خسارت ناشی از آن سالانه منجر به از دست رفتن ۴۰-۲۰ درصد تخم

\*نويسنده مسئول: mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

و Hochheimer Summerfelt) (۱۹۹۷) می‌تواند به عنوان یکی از مطلوب‌ترین مواد جایگزین جهت کنترل آلودگی‌های قارچی استفاده گردد. نابودی قارچ ساپرولگنیا بوسیله ازون در مطالعاتی حاصل شده است (Forneris و همکاران، ۲۰۰۳؛ Benoit و همکاران، ۱۹۶۶؛ Wedemeyer و همکاران، ۱۹۷۹). Forneris و همکاران اثر قارچ‌کشی ازون بر قارچ ساپرولگنیا را متأثر از اثر آن در تأخیر ظهور هیفای قارچ می‌دانند (Forneris و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین اشاره نموداند که مشابه با کلرین می‌باشد. از آنجائی که، بدلیل قدرت بالای اکسید کنندگی ازون، توانایی نابودی قارچ‌های آبزی در تخم ماهی نیز در آن به اثبات رسیده است، هدف از اجرای این طرح پژوهشی، پیشگیری و کاهش آلودگی‌های قارچی تخم ماهی قره‌برون (*Acipenser persicus*) در غلظت‌های مختلف ازون (۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm) و مقایسه آن با غلظت اپتیمم یکی از سوم رایج (۱۰۰۰ ppm فرمالین) نسبت به تیمار شاهد (بدون گندздایی) است.

## مواد و روش کار

**محیط آزمایش و سنجش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب:** این بررسی به مدت ۷۰ روز در کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری انجام گرفت. آب کارگاه از ترکیب آب رودخانه تجن و چاه تامین می‌گردید. اکسیژن محلول آب در سطح اشباع و بیش از ۶ میلی‌گرم در لیتر بود و درجه حرارت و pH آب کارگاه به ترتیب در محدوده  $15 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد و ۷/۱ تا ۷/۷ قرار داشت. اندازه‌گیری اکسیژن محلول (با استفاده از تست کیت‌های اکسیژن متري شرکت Hanna، HI-3810)، درجه حرارت و pH (با استفاده از pH متر دیجیتال شرکت Hanna، HI-98128) دو

محسوب می‌شوند (Bruno و Wood، ۱۹۹۹). طی ۱ تا ۲۴ ساعت پس از زمان تماس، سطح تخم از رشته‌های ریسه‌ای پوشیده می‌شود و توسعه آن گاهی اوقات با حمله به غشای کوریونیک تخم همراه است و بعد از طی زمان ۲۴ ساعت از زمان آلودگی، پوشش می‌سليومی ضعیف تا متوسطی سطح تخم را می‌پوشاند. تخم‌های مرده به طور ویژه حساس به قارچ می‌باشند و عفونت ممکن است بسرعت بسوی تخم‌های زنده نیز گسترش یابد (Rand و همکاران، ۱۹۹۳). مواد غشای کوریونیک تخم به عنوان فاکتورهای تحریک‌کننده گرایش شیمیایی مثبت زئوسپور بطرف تخم‌های زنده ارزیابی شده‌اند (Rand و Munden، ۱۹۹۳).

تحقیقات زیادی در مورد مواد مورد استفاده و روش‌های متنوع کنترل آلودگی قارچی بر روی تخم ماهی انجام شده است (Bailey و Taylor، ۱۹۷۹؛ Waterstrat و Marking، ۱۹۹۵). توصیه شده است که میانگین فعالیت هر ماده شیمیایی قارچ‌کش می‌باید سه بار اندازه‌گیری شود و با میزان اثربخشی مالاشیت گرین مقایسه گردد (Bailey، ۱۹۸۳). البته شایان ذکر است که در بسیاری از کشورها استفاده از مالاشیت گرین بدلیل داشتن عوارض سوء بیشماری که دارد ممنوع شده است و می‌باید از ماده جایگزین دیگری بعنوان مبنای مقایسه استفاده گردد (Roberts و Shepherd، ۱۹۹۷). همچنین به لحاظ تئوری، قارچ‌کش‌های انتخاب شده باید رشد قارچی را در محیط‌های آبی حداقل تا ۴۸ ساعت کنترل نمایند (Bailey، ۱۹۸۳).

نیمه عمر ازون در هوا با فشار معمولی اتمسفر ۱۲ ساعت است و در آب خالص در ۲۰ درجه سانتی‌گراد، حدود ۱۶۵ دقیقه است (Rice و همکاران، ۱۹۸۱). از این‌رو استفاده از ازون به دلیل داشتن نیمه عمر پائین و نداشتن عوارض سوء زیست‌محیطی و همچنین به علت تولید کم محصولات جانبی مضر

جنسی، آماده جهت تکثیر و تولید تخم و اسپرم گردیدند. در این پژوهش، در هر سری آزمایش تخم‌های لقاح یافته از مولدین مختلف، به دو انکوباتور یوشچنکو که دارای ۴ جعبه تخم می‌باشد انتقال یافتند و در هر جعبه تخم تعداد ۵۰۰ عدد تخم انکوباسیون شدند. زمان تخم‌گشایی برای هر سری تخم بطور متوسط تا ۱۸۰۰ درجه-ساعت پس از زمان لقاح به طول انجامید. میزان جریان آب در هر جعبه تخم ۵-۷ لیتر در دقیقه بود.

بار در روز انجام شد. آب سالن انکوباسیون سه بار در هفته مورد آزمایش نیتریت- نیتروژنی ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) و آمونیاک- نیتروژنی ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) با استفاده از تست کیت‌های شیمیائی مربوطه شرکت Hach قرار گرفت و عاری از عوامل مذکور بود.

**انکوباسیون تخم‌ها:** توده‌های زیادی از ماهیان مولد نر و ماده قره برون (*Acipenser persicus*) که از دریای مازندران بطور متوالی صید شدند، به حوضچه‌های گرد کارگاه تکثیر منتقل شده و براساس فاکتور درجه حرارت آب و میزان تزریق هورمون‌های رسیدگی

جدول ۱- نتایج اندازه‌گیری غلظت ازوون محلول

آزمایش	شماره	زمان نمونه برداری از ابتدای ازوون ازناسیون (به دقیقه)	تعداد نمونه (Sample)	تعداد شاهد (Blank) (جهت صفر کردن اولیه دستگاه در نمونه‌ها (به ppm))	میانگین غلظت ازوون محلول (Blank) (جهت صفر کردن اولیه دستگاه در نمونه‌ها (به ppm))
۱	۳۰	۵	۰/۰۲۰	۱	۰/۰۲۰
۲	۴۰	۵	۰/۰۲۸	۱	۰/۰۲۸
۳	۶۰	۵	۰/۰۵۲	۱	۰/۰۵۲
۴	۱۲۰	۵	۰/۰۹۸	۱	۰/۰۹۸

شده توسط Bader and Hoigne (۲۰) با استفاده از یک دستگاه اسپکتروفوتومتر DR-2400 شرکت Hach و آمپول‌های معرف (در محدوده ۰ تا ۰/۲۵ ppm) مربوطه اندازه‌گیری شد. تیمارهای این بررسی شامل ۳ تیمار ازوون در غلظت‌های ذکر شده، ۱ تیمار فرمالین (۱۰۰۰ ppm) به مدت ۱۵ دقیقه در روز) بهمراه ۱ تیمار شاهد (بدون گندزدایی) بود که هر کدام ۳ بار مورد تکرار زمانی واقع شدند. هر یک از تیمارهای ازوون به مدت ۱۰ دقیقه یکبار در هر روز، تخم‌ها را مورد ضدغوفونی قرار دادند (Beakes, ۱۹۸۳). ضدغوفونی تخم‌ها در هر تکرار، از روز اول تا قبل از تخم‌گشایی تخم‌ها در روز پنجم ادامه یافت. استفاده از ۱ تیمار فرمالین در این تحقیق، صرفاً جهت مقایسه کارایی ازوون و تیمار شاهد با یکی از مواد گندزدای رایج بوده است.

تولید ازوون محلول، تیمارهای آزمایش: گاز ازوون توسط یک دستگاه مولد ازوون براساس مولد کرونا از هوای معمولی تولید شد. میزان ازوون تولیدی ۴ گرم در ساعت بوده و میزان مصرف انرژی آن ۱۰۰ وات در ساعت بود. ازوون تولیدی توسط یک دستگاه پمپ ونتوری<sup>۱</sup> به یک مخزن ۱۰۰ لیتری انتقال یافت (شکل ۱). بعد از گذشت حدوداً ۴۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه ازوون ازناسیون مداوم توسط این سیستم، غلظت ازوون محلول به ترتیب به حدود ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm رسید. جدول ۱ میانگین غلظت‌های اندازه‌گیری شده ازوون محلول در پنج بار نمونه‌گیری از آب حاوی ازوون را در زمان‌های مختلف ارائه می‌دهد. ازوون محلول توسط روش ایندیگو تری سولفونات<sup>۲</sup> تشریح

1- Venturi aspirator pump

2- Indigo trisulphonate

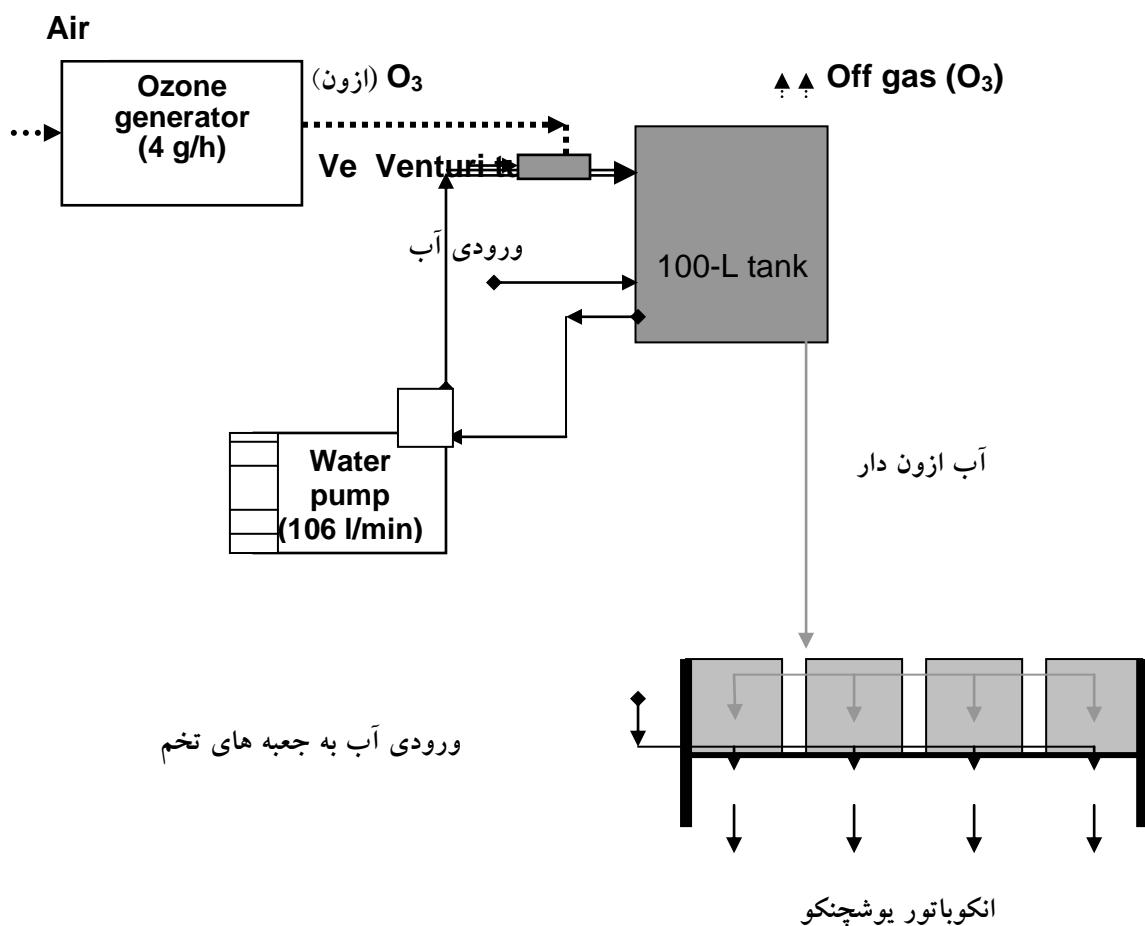
آزمون دان肯 ( $P < 0.05$ ) انجام شد.

## نتایج

میانگین درصد قارچ زدگی تخم‌ها و همین‌طور میانگین درصد تخم‌گشایی تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. مطابق این جدول تیمار چهارم ( $1000 \text{ ppm}$  فرمالین) دارای بهترین اثر در کنترل آلودگی قارچی و افزایش میزان تخم‌گشایی بوده است ولی اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین چهار تیمار استفاده کننده از مواد گند زدا در درصد تخم‌گشایی و درصد قارچ زدگی تخم‌ها مشاهده نشد.

همچنین جمع‌آوری تخم‌های قارچ زده و مرده (تیمار فیزیکی) توسط عمل سیفون کردن ۵ بار در روز در تمامی تیمارها صورت می‌گرفت و تخم‌های مرده و قارچ زده شمارش می‌گردید. درصد تخم‌گشایی با شمارش لاروهای تخم‌گشائی شده در هر جعبه تخم و درصد قارچ زدگی نیز با شمارش تخم‌های قارچ زده در طی روزهای انکوباسیون محاسبه می‌گردید.

روش آماری: میانگین تخم‌گشایی و میانگین قارچ زدگی تخم‌ها در هر تیمار با استفاده از نرم‌افزار SPSS-14 و آنالیز واریانس یک طرفه مورد تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از



شکل ۱- مشخصات سیستم ازوناسیون جهت گندزدایی تخم‌های تاسماهی ایرانی

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد تخم‌گشایی و درصد قارچ زدگی تیمارهای مختلف در تخم‌های تاسماهی ایرانی\*

تیمارها	میانگین تخم‌گشایی ± SD	میانگین قارچ زدگی ± SD
تیمار اول (۰/۰۳ ppm ازو)	۶۷/۶ ± ۷/۰ <sup>a</sup>	۲۷/۶ ± ۴/۴ <sup>a</sup>
تیمار دوم (۰/۰۵ ppm ازو)	۷۰/۲ ± ۵/۸ <sup>a</sup>	۲۷/۴ ± ۲/۸ <sup>a</sup>
تیمار سوم (۰/۱ ppm ازو)	۷۱/۴ ± ۴/۹ <sup>a</sup>	۲۶/۸ ± ۴/۴ <sup>a</sup>
تیمار چهارم (۱۰۰۰ ppm فرمالین)	۷۴ ± ۶/۳ <sup>a</sup>	۲۴/۱ ± ۳/۹ <sup>a</sup>
تیمار پنجم (بدون گندزدایی)	۵۷/۲ ± ۱۲/۴ <sup>b</sup>	۴۰/۴ ± ۹/۰ <sup>b</sup>

\* آزمون مقایسه میانگین دانکن ( $P < 0.05$ ) برای میانگین های هر عامل در هر ستون ارائه شده است.

\*\* میانگین هایی که دارای حروف مشابه در هر ستون هستند دارای اختلاف معنی دار نمی باشند ( $P > 0.05$ ).

نمی شود ( $P > 0.05$ ). در تحقیقات صورت گرفته توسط Forneris و همکاران (۲۰۰۳) و Ghomi و همکاران (۲۰۰۵) نیز غلظت ۱/۰ ppm ازو بالاترین میزان تخم‌گشایی (به ترتیب ۶۹/۴ و ۸۱/۴ درصد) را در بین تیمارهای مختلف ازو حاصل داده است که با نتایج بررسی حاضر مطابقت می نماید. در پژوهش دیگر انجام شده توسط Ghomi و همکاران (۲۰۰۷)، غلظت ۰/۱۵ ppm ازو بالاترین میزان تخم‌گشائی ۷۶/۴ درصد را در ماهی قره برون به دنبال داشت. از آنجایی که در بررسی حاضر اختلاف معنی داری بین میزان تخم‌گشائی و کاهش درصد قارچ زدگی غلظت ۰/۱ ppm ازو با غلظت ۱/۰ ppm فرمالین وجود ندارد ( $P > 0.05$ ), ازو قادر به کترل تقریباً یکسان آلدگی قارچی در غلظتی به مرتب کمتر از فرمالین و سایر سموم قارچ کش بوده و از این جهت بکارگیری ازو منجر به کاهش قابل توجه آلدگی ها و عوارض زیست محیطی می گردد. به علاوه، استفاده از فرمالین نیز همراه با مشکلات زیست محیطی ناشی از آن است و بنابر گزارش Marking و همکاران (۱۹۹۴) استفاده از فرمالین در قارچ کشی تخم ماهی در آمریکا محدود شده است. می باید توجه داشت که هیچیک از روش های کترل آلدگی قارچی در تخم ماهی قادر به کترل کامل قارچ نمی باشد، چرا که بنا بگفته Roberts و

## بحث و نتیجه گیری

میزان تخم‌گشایی و درصد قارچ زدگی تخم‌ها در همه تیمارهای استفاده شده از مواد گندزدا (تیمارهای اول تا چهارم) دارای اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) نسبت به تیمار شاهد (تیمار پنجم) بوده است (جدول ۲). بنابراین استفاده از مواد گندزدایی مذکور توانایی کترل آلدگی های قارچی تخم‌ها (گندزدایی انکوباتورها) و افزایش تخم‌گشایی را داشته است. فرمالین دارای بالاترین قابلیت در افزایش میزان تخم‌گشایی (۷۴ درصد) و کاهش درصد قارچ زدگی در بین همه تیمارها بوده است، هر چند که اختلاف معنی داری بین فرمالین و تیمارهای حاوی ازو مشاهده نشد (جدول ۲). Forneris و همکاران (۲۰۰۳) نیز با استفاده از ۱۰۰۰-۲۰۰۰ ppm فرمالین، بیشترین میزان تخم‌گشایی (۷۴/۷ درصد) را در بین تیمارهای مختلف در تخم قزلآلای قهوه‌ای Schreier و همکاران (۱۹۹۶) ۷۳/۵ درصد تخم‌گشایی را با استفاده از ۱۵۰۰ ppm فرمالین در قزلآلای رنگین کمان (Oncorhynchus mykiss) بدست آوردند. همچنین (Salmo trutta) بدست آوردند.

استفاده از آوردنده، همچنین (Oncorhynchus mykiss) بدست آوردند. مطابق جدول ۲ غلظت ۰/۱ ppm ازو بالاترین میزان تخم‌گشایی (۷۱/۴ درصد) را در بین غلظت‌های ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm نشان داده است هر چند اختلاف معنی داری در میزان تخم‌گشایی آنها دیده

ترجیح داده می‌شود و می‌تواند به عنوان یکی از بهترین مواد گندزا در نظر گرفته شود، به آن دلیل که غلظت کمتری از ازون برای گندزادایی محیط پرورش کافیست و در نتیجه آلودگی‌های محیطی کاهش خواهد یافت. ولی در مقابل، تجهیزات مولد ازون و انتقال‌دهنده گاز ازون بدرون آب به مراتب گرانتر از فرمالین و سموم رایج دیگر موجود در بازار بوده و از این بابت در بیشتر موارد موجب کاهش گراشی کارگاه‌های تکثیر به استفاده از سیستم ازون می‌گردد. وضع قوانین سختگیرانه‌تر برای استفاده از مواد و سموم شیمیایی رایج در کشور می‌تواند موجب توسعه روش گندزادایی ازون گردد.

Shepherd (۱۹۹۷) 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 سایر تخم‌های سالم مجاور گسترش می‌یابد. بطور کلی، استفاده از تیمارهای شیمیایی و فیزیکی، تنها موجب عدم گسترش و شیوع هیفای قارچ به تخم‌های سالم مجاور می‌گردد. به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، اگر در بالاترین شرایط مصرف ازون ( $0/1 \text{ ppm}$ ) غلظت‌های این دو ماده ازون و فرمالین با هم مقایسه گردد، ازون در نسبت ۱ به  $10000 \text{ ppm}$  فرمالین ( $0/1 \text{ ppm}$ ) مورد استفاده واقع شده ولی اثرات تقریباً یکسانی را در نابودی قارچ‌های آبرزی نشان می‌دهد. از این‌رو استفاده از ازون نسبت به فرمالین

#### منابع

1. Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G.B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L., and Zoccarato, I., 2003. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture*, 221: 157-166.
2. Beakes, G.W., 1983. A comparative account of cyst coat ontogeny in saprophytic and fish lesion isolates of the *Saprolegnia diclina-parasitica* complex. *Canadian Journal of Botany*, 61: 603-625.
3. Rand, T.G., and Munden, D., 1993a. 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*, 5: 233-239.
4. Bruno, D.W. and Wood, B.P., 1999. *Saprolegnia* and other Oomycetes. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W.(Eds.), *Fish Disease and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infectios*. NCABI Publishing. pp. 599-659.
5. Rand, T.G., Munden, D., 1993b. Chemotaxis of *Saprolegnia diclina* zoospores. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5: 240-245.
6. Taylor, S.G., and Bailey, J.E. 1979. Saprolegnia: control of fungus on incubating eggs of pink salmon by treatment with seawater. *Progressive Fish Culturist*, 41: 181-183.
7. Marking, L.L., Rach, J.J. and Schreier, T.M. 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. *Progressive Fish Culturist*, 56: 225-231.
8. Bailey, T.A., 1983. Method for in vitro screening of aquatic fungicides. *Journal of Fish Diseases*, 6: 91-100.
9. Dawson, V.K., Rach, J.J., Schreier, T.M., 1994. Hydrogen peroxide as a fungicide for fish culture. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 2: 54-56.
10. Schreier, T.M., Rach, J.J. and G.E. Howe, 1996. Efficacy of formalin, Hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture*, 140: 323-331.
11. Walser, C.A., Phelps, R.P., 1993. The use of formalin and iodine to control *Saprolegnia* infections on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, eggs. *Journal of Applied Aquaculture*, 3: 269-278.
12. Waterstrat, P.R., Marking, L.L., 1995. Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride for the treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall chinook salmon eggs. *Progressive Fish Culturist*, 57: 287-291.

13. Roberts, R.J., and Shepherd, C.J., 1997. Handbook of trout and salmon diseases. Blackwell Science Inc. 256 pp.
14. Rice, R.G., Robson, C.M., Miller, G.W., and Hill, A.G., 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. Journal American Water Works Association, 73: 1-44.
15. Summerfelt, S.T., and Hochheimer, J.N., 1997. Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture. Progressive Fish Culturist, 59: 94-105.
16. Benoit, R.F., and Matlin, N.A., 1966. Control of saprolegniasis on eggs of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with ozone. Transaction of the American Fisheries Society, 95: 403-412.
17. Ghomi, M.R., Esmaili, A., Vossoughi, G., Keyvan, A., and Nazari, R.M. 2005. Effect of ozone and physical treatment to control *Saprolegnia* on Iranian sturgeon (*Acipenser persicus*) eggs. Proceeding for 12th International Conference "Diseases of Fish and Shellfish". 11-16 September 2005, Denmark. p. 27.
18. Ghomi, M.R., Esmaili, A., Vossoughi, G., Keyvan, A., and Nazari, R.M., 2007. Comparison of ozone, hydrogen peroxide and removal of infected eggs on prevention of fungal infection in a sturgeon hatchery. Fisheries Science, 73: 1332-1337.
19. Wedemeyer, G.A., Nelson, N.C., and Yasutake, W.T., 1979. Potentials and limits for the use of ozone as a fish disease control agent. Ozone Science Engineering, 1: 295-318.
20. Bader, H., and Hoigne, J., 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. Water Research, 15: 449-456.

## Evaluation of antifungal effect of ozone on water inlet of a sturgeon hatchery

\***M.R. Ghomi<sup>1</sup> and R.M. Nazari<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Dept. of Fishery & Environment, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran  
<sup>2</sup>Shahid Rajaee Sturgeon Hatchery Center, Sari, Iran

---

### Abstract

Water molds are assumed as one of the most important injurious microorganisms to fish egg production procedure, while, fungal infection can extensively destroy the fish eggs in hatcheries. The aim of this study was to evaluate antifungal effect of ozone and formalin on prevention of fungal infection on Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and increasing the hatching ratio. Effects of 0.03, 0.05 and 0.1 ppm of ozone and 1000 ppm of formalin were examined on hatching ratio. Egg disinfection by 1000 ppm formalin resulted in the greatest hatching ratio (74%) among all treatments. Among ozone treatments, 0.1 ppm showed the highest hatching ratio (71.4%) and there was not a significant difference among ozone treatments ( $P>0.05$ ). Hatching ratio of the control group (without disinfectant) was 56.2%, and there was a significant difference ( $P<0.05$ ) with other treatments. Ozone is preferred to formalin and can be considered as one of the favorable disinfectants, because of a lower concentration of ozone required to disinfect the culture medium, consequently, environmental pollution will be decreased. Comparison of both disinfectants showed that ozone almost revealed the equal effect on hatching ratio but with the proportion of 1:10000 to formalin (with the dose of 0.1 and 1000 ppm ozone and formalin, respectively).

**Keywords:** Fungal infection; Ozone; Hatching ratio; Formalin; Sturgeon hatchery

---

\*Corresponding author; mghomi@tonekabon.iau.ac.ir