مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۲، ۱۳۴-۱۲۷

ارزیابی اثرات اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان تفریخ تخم قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) و درصد بقاء لاروآن در مقایسه با آب اکسیژنه و مالاشیت گرین

مهدی سلطانی[۱]* مهدی اسفندیاری[۲] سهیلا خضرائی نیا[۱] میر مسعود سجادی[۳]

۱) گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران ـ ایران.
۲) گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندر عباس، بندرعباس ـ ایران.
۳) گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس ـ ایران.

(دریافت مقاله: ۲ اردیبهشت ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۳۰ بهمن ماه ۱۳۸۷)

چکیده

به منظور ارزیابی اسانس آویشن شیرازی وآب اکسیژنه درکنترل آلودگی های ناشی از میکروارگانیسم ها درشرائط کارگاهی پرورش قزل آلای رنگین کمان، استحصال تخمک واسپرم از ماهیان مولد ۵-۴ساله مطابق روش معمول کارگاهی صورت گرفت. میزان بقاء تخم های حاصله تا مرحله تفریخ تخم ها و نیز میزان بقاء لاروتا وزن ۱/۲-۱گرم، تحت تاثیر تیمارهای اسانس آویشن به میزان ۷۰ mg/L به مدت ۳۰ دقیقه شستشوی روزانه باسه تکرار، وآب اکسیژنه با غلظت ۵۰۰mg/L به مدت ۳۵ دقیقه شستشوی روزانه باسه تکرارموردسنجش قرارگرفت. مدت زمان تیمارآب اکسیژنه در طی ایام ۱۴۰ - ۷۰ درجه روز به ۵ دقیقه کاهش یافت. گروه کنترل مثبت در معرض ۲mg/L مالاشیت گرین به مدت ۲۰ دقیقه شستشوی روزانه قرارگرفت وگروه کنترل منفی (شاهد) بدون هرگونه مداخله دارویی به کارگرفته شد. در این مطالعه میزان فاکتورهای فیزیکی وشیمیایی آب مورد استفاده قبل وبعد از به کارگیری تیمارهای مذکور، شاملدمای ۱۲-۱۲/۵ درجه سانتیگراد، اکسیژن ۹mg/L-۸، دی اکسید کربن ۲mg/L ±۷، آمونیاک کمتر از ۱mg/L درصد ودرجه سختی ۱۷۰mg/L بوده است. نتایج حاصله نشان داد که میزان تلفات تخم تا مرحله چشم زدگی، درگروه شاهد به طورمعنی داری بیشتر از تیمارهای موردآزمایش بود (p<۰/۰۵). به علاوه میزان تلفات در تیمارآویشن به طور معنی داری بیشتر ازآب اکسیژنه و مالاشیت گرین بود (p<۰/۰۵). همچنین میزان تلفات تخم بین تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین تفاوت معنی داری را نشان نداد (p>۰/۰۵). نتایج تلفات تخم از مرحله چشم زدگی تا تفریخ تخم نشان داد که ۱) میزان تلفات گروه های تیمار به طور معنی داری کمتر ازگروه های شاهد بوده است (p<۰/۰۵). ۲) میزان تلفات درگروه تیمارآویشن در مقایسه با تیمارهای آب اکسیژنه ومالاشیت گرین، به طور معنی داری بیشتر بوده است (p<۰/۰۵). ۳) میزان تلفات درگروه تیمارآب اکسیژنه به طور معنی داری کمتر ازگروه تیمار مالاشیت گرین بوده است (p<۰/۰۵). نتایج تلفات لاروتا وزن ۲/۱-۱گرم نشان داد که میزان تلفات لارودرگروه های تیمارآویشن وشاهد، بطورمعنی داری بیشتر ازگروه های تیمارآب اکسیژنه ومالاشیت گرین بوده است (p<۰/۰۵). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که اگر چه استفاده از اسانس آویشن شیرازی، به میزان ۷۰ میلی گرم در لیتر، موجب بقاء تخم وافزایش درصد تفریخ وبازماندگی لاروها تا وزن یک گرمی گردید، اما قابل رقابت باآب اکسیژنه ومالاشیت گرین نمی باشد.

واژه های کلیدی: آویشن شیرازی، آب اکسیژنه، مالاشیت گرین، تخم و لاروقزل آلای رنگین کمان.

مقدمه

برخی از میکروارگانیسم های با لقوه بیماریزا، مانند باکتری ها، قارچ ها و تک یاخته ای ها از جمله عوامل مشکل زایی هستند که معمولا در کارگاه های تکثیر و پرورش آبزیان موجب کاهش تولید می شوند (۷). تکثیر و پرورش آبزیان بویژه ماهیان سردآبی دراکثرنقاط کشوردرحال توسعه بوده واز جمله موانع و مشکلات اساسی در این زمینه، تلفات بالای دوران انکوباسیون تخم درمراکز تکثیر می باشد (۳۰).

اگرچه استفاده از مالاشیت گرین تا مدت ها به عنوان یک ترکیب موثر در کنترل آلودگی های قارچی، باکتریایی و انگلی آبزیان بویژه در دوران انکوباسیون تخم قزل آلا، مطرح بوده است، ولی به دلیل روشن شدن اثرات و عوارض سوء آن بر روی انسان وانواع آبزیان، از جمله کاهش قدرت باروری، سرطان زایی و جهش زایی، حدود بیش از دو دهه است که استفاده از آن در اغلب نقاط دنیا منع شده است (۱۷). مالاشیت گرین پس از جذب در بافت های بدن ماهی، به لوکومالاشیت گرین احیا میشود که یک ماده چربی دوست و دارای خاصیت ماندگاری طولانی در بافت ها بوده و بیشتر خواص سمی آن را به این متابولیت احیاء شده نسبت می دهند (۳۳).

استفاده از آب اکسیژنه نیز در صنعت آبزی پروری به عنوان یک ماده موثر ضد عفونت های قارچی، باکتریایی و انگلی از دیرباز مطرح بوده است. اثرات قارچ کشی آب اکسیژنه بویژه بر ضد گونه های ساپرولگنیا توسط (۹،۱۹،۲۲،۲۴) اثرات باکتری کشی آن توسط (۲۰)، اثرات ضد انگل آن توسط (۲۱) گزارش شده بطوری که با به کارگیری غلظت های مختلف در شرائط مختلف آزمایشگاهی و کارگاهی نتایج متفاوت ارائه شده است.

اثرات سوء زیست محیطی ناشی از استفاده مکرر از آلاینده های شیمیایی در کارگاه های تکثیر و پرورش آبزیان، توجه و علاقه فزاینده ای را برای پیدا کردن جایگزین های مناسب طبیعی شامل انواع عصاره ها و اسانس های گیاهی ایجاد کرده است. از جمله گیاهانی که اخیرا مورد توجه

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۹۵-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: msoltani@ut.ac.ir

قرار گرفته است، گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora bioss*) می‌باشد که عمدتا در قسمت‌های مرکزی و جنوب کشور انتشار دارد (۳۴). ترکیبات شیمیایی اسانس این گیاه شامل تیمول (thymol)، کارواکرول (carvacrol) (۱۳،۲۷)، زاترینال (zatrinal)، اسید اولئانولیک (oleanolic acid)، اسید بتولیک (betulic acid)، اسید رزمارینیک (rosmarinic acid) (۱۰)، مونوترپنوئیدها (monoterpenoids)، سسکوئیترپنوئیدها (sesquiterpenoids)، سیمن (p-cymene) و ترپینن (y-terpinene) (۱۳،۱۴) می‌باشد. خصوصیات ضد قارچی و ضد باکتریایی تیمول و کارواکرول توسط (۱۰،۱۲،۲۷،۲۸) گزارش شده است. به علاوه فعالیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی اسید رزمارینیک موجود در اسانس آویشن شیرازی توسط (۱۵) گزارش شده است. نتایج حاصل از مطالعات فوق نیز بسته به شرایط آزمایشگاهی متفاوت بوده است.

علیرغم وجود تحقیقات فوق الذکر مبنی بر اثرات ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی اسانس آویشن شیرازی، اطلاعات مربوط به تاثیر احتمالی آن در دوران انکوباسیون تخم ماهی اندک است بطوری که در تنها مطالعه موجود بکارگیری غلظت ۵ میلی گرم در لیتر از آن تا مرحله چشم زدگی به مدت یک ساعت در روز، در مقایسه با سایر غلظت‌های به کار گرفته شده (۱، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بالاترین درصد بقاء تخم قزل آلا را ایجاد کرده است (۳۰). همچنین با استفاده از غلظت‌های ۱۰۰- ۲۵ میلی گرم در لیتر نتیجه بهتری از نظر تولید لارو استحصالی در مقایسه با سایر غلظت‌های پائینتر بدست آمده است (۳۰). به هر حال در مطالعه فوق بخشی از فاکتورهای کیفی آب از جمله آمونیوم، نیتریت، CO_2 درجه سختی نامشخص بوده و از طرفی آب مورد استفاده با سایر منابع آبی از جمله رودخانه مخلوط بوده است.

استفاده از آب اکسیژنه نیز اگر چه به عنوان داروی ضد قارچ در مراکز تکثیر برخی گونه‌های ماهیان در اکثر مناطق دنیا رایج است (۱۹،۲۲،۲۴،۳۱)، ،،اطلاعات بیشتری مورد نیاز است تا اثرات این ماده شیمیایی در مراکز تکثیر آزاد ماهیان کشور، بویژه قزل آلا مورد ارزیابی قرار گیرد. بویژه با توجه به حساسیت تخم‌ها در مراحلی از دوران رشد جنینی (۱۴۰- ۷۰ درجه روز) (۸) و شرایط کارگاه‌های تکثیر و پرورش آزاد ماهیان کشور (تفاوت در میزان کیفیت آب در بین کارگاه‌ها) ضرورت مطالعات بیشتر برای دست یابی به غلظت‌های دقیق تر به منظور استاندارد سازی در مراکز تکثیر امری بدیهی است. برای مثال در مطالعه (۳۱) مشخص نیست که ۱) آب اکسیژنه با غلظت‌های مورد اشاره در چه زمان‌هایی پس از انکوباسیون مورد استفاده قرار گرفته است. ۲) با توجه به عدم اطلاع از اثرات ضد قارچی آب اکسیژنه علیه قارچ‌های جداسازی شده توسط آنها، ارائه همبستگی بین شرایط کارگاهی (in vivo) و روی موجود زنده (in vivo) را غیرممکن می‌سازد. با این حال مقایسه اثرات ضد قارچی این نوع مواد شیمیایی برای گونه‌های مختلف ماهیان کاری دشوار می‌باشد.

لذا مطالعه حاضر به منظور ارزیابی مقایسه اثرات اسانس آویشن شیرازی با آب اکسیژنه و مالاشیت گرین، با استفاده از آب چشمه و با کیفیت مطلوب برای گونه قزل آلای رنگین کمان پرورشی انجام گرفته است بطوری که درصد بقاء تخم تا مرحله چشم زدگی و از چشم زدگی تا تفریخ تخم‌ها و نیز درصد بقاء لاروهای حاصله، تا وزن یک گرمی مورد سنجش قرار گرفتند.

مواد و روش کار

۱- تهیه مولد و استحصال تخم: از مولدین قزل آلای ۵ - ۴ ساله بر اساس روش اعمال دوره نوری تهیه شده از یکی از کارگاه‌های تکثیر و پرورش با سابقه سلامت بهداشتی واقع در استان لرستان شهرستان الیگودرز استفاده شد. پس از انتخاب مولدین نر و ماده به شکل تصادفی و انجام معاینات لازم، نسبت به جداسازی مولدین رسیده اقدام گردید. عملیات تخم گیری از مولدین برابر روش معمول و هر ساله کارگاه مذکور بوده بطوری که پس از بیهوشی با اسانس گل میخک (۱۲۰ میلی گرم در لیتر) و انجام عملیات تخم گیری و اسپرم گیری، مخلوط کردن تخمک‌ها با اسپرم با روش لقاح خشک و مرحله جذب آب تخمک‌های لقاح یافته در قالب تیمار و تکرارهای زیر مورد استفاده قرار گرفتند. تخم‌های لقاح یافته به روش معمول کارگاه به آرامی بر طبق روال عملیات تکثیر کارگاه به سینی‌ها منتقل گردیدبه علاوه تخم‌های مربوط به همه تیمارها همزمان استحصال و استفاده شدند.

۲ - تیمار آویشن: تیمار آویشن شیرازی (اسانس تهیه شده به روش تقطیر) (Hydrodistilation) از شرکت باریج اسانس با درجه خلوص ۸۵ - ۸۰ درصد) شامل ۳ تکرار (هر تکرار شامل یک تراف حاوی سه سینی تخم و هر سینی حاوی ۳۵۰ گرم تخم بود که با حذف تلفات ۲۴ ساعت اولیه پس از انکوباسیون تخم مجموعاً شامل ۴۱۶۹۳ عدد تخم (برابر ۲۹۵۷ گرم) مورد استفاده قرار گرفت. عملیات درمانی از ۳۶ ساعت پس از شروع انکوباسیون آغاز و به میزان ۷۰ میلی گرم در لیتر از اسانس آویشن شیرازی به مدت ۳۰ دقیقه در روز به صورت حمام جاری تا مرحله چشم زدگی استفاده گردید.

۳- تیمار آب اکسیژنه: تیمار آب اکسیژنه (محصول مرک آلمان ۳۰ درصد) همانند تیمار آویشن شامل سه تراف و هر تراف حاوی سه سینی و هر سینی حاوی ۳۵۰ گرم تخم که با حذف تلفات ۲۴ ساعت اولیه میزان تخم این تیمار شامل ۴۱۴۹۶ عدد (۲۹۶۴ گرم) تخم بود. میزان غلظت آب اکسیژنه مورد استفاده شامل ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۳۵ دقیقه در روز و از ۳۶ ساعت پس از شروع انکوباسیون تخم‌ها تا مرحله چشم زدگی بود. اضافه می‌نماید که مدت زمان درمان روزانه در طی ایام ۱۴۰-۷۰ درجه روز از ۳۵ دقیقه به ۵ دقیقه کاهش یافت زیرا بر اساس برخی نتایج بدست آمده توسط) ۸) احتمال افزایش حساسیت جنین به آب اکسیژنه در این مرحله بالاست بطوری که آنها عدم مصرف آب اکسیژنه در این مدت را توصیه کرده اند.

۴- تیمار مالاشیت گرین (شاهد مثبت): تیمار مالاشیت گرین (مرک) مانند تیمارهای قبلی شامل سه تراف (هر تراف حاوی ۳ سینی و هر سینی ۳۵۰ گرم تخم) که با حذف تلفات ۲۴ ساعت اولیه تخم مجموعاً شامل ۴۱۵۸۰ عدد تخم (۲۹۴۹ گرم) بود. برای درمان نیز استفاده از مالاشیت گرین به میزان ۲ میلی گرم در لیتر به مدت ۲۰ دقیقه در روز و پس از ۳۶ ساعت اولیه انکوباسیون

شروع و تا مرحله چشم زدگی تخم‌ها ادامه یافت.

۵ - **تیمار شاهد (شاهد منفی)**: برای تیمار شاهد منفی نیز از ۳ تراف (هر تراف حاوی ۳ سینی و هر سینی حاوی ۳۵۰ گرم تخم لقاح یافته) استفاده شد که با حذف تلفات تخم در ۲۴ ساعت اولیه پس از انکوباسیون میزان کل تخم استفاده شده برای تیمار شاهد برابر ۴۱۴۱۱ عدد تخم (۲۹۳۷ گرم) بود.

۶- **تعیین درصد تفریخ تخم**: پس از خواباندن تخم‌های لقاح یافته همانطور که اشاره شد ابتدا نسبت به جمع آوری تخم‌های تلف شده پس از ۲۴ ساعت اولیه اقدام، سپس از جمع آوری تلفات تا مرحله چشم زدگی خودداری نموده و پس از آن به صورت روزانه تخم‌های تلف شده به آرامی و با دقت تمام سیفون و شمارش گردید. در آخر کار میزان درصد تفریخ تخم‌ها با استفاده از فرمول زیر بدست آمد.

تعداد تخم تلف شده تا مرحله تفریخ - تعداد تخم اولیه = تعداد تخم تفریخ شده

تعداد تخم اولیه ÷ (۱۰۰× تعداد تخم تفریخ شده) = درصد تفریخ تخم

۷- **تعیین درصد بقا لاروها تا وزن یک گرمی**: برای تعیین درصد بقاء لاروهای تفریخ شده از هر تیمار نسبت به جمع آوری و ثبت تلفات روزانه تا وزن یک گرمی اقدام گردید و سپس میزان بقاء لاروها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

تعداد لارو تلف شده تا خاتمه آزمایش - تعداد لارو اولیه پس از تفریخ = تعداد لارو باقی مانده تا یک گرمی

تعداد لارو اولیه پس از تفریخ ÷ (۱۰۰ × تعداد لارو باقی مانده تا یک گرمی) = درصد بقاء لارو تا یک گرمی

۸- **کیفیت آب و سایر شرایط نگهداری دوران تفریخ و رشد لاروها**: برای انجام این مطالعه کلیه شرایط معمول کارگاهی در مرکز تکثیر مربوطه مورد استفاده قرار گرفت. بخصوص اقداماتی مانند کنترل دبی آب روزانه، مراقبت برای جلوگیری از تابش نور در دوران انکوباسیون تخم‌ها و عدم دستکاری تخم‌ها و تنظیم آب ورودی روی تخم‌ها و تراف‌های حاوی لاروها بطور مرتب صورت گرفت. آب کارگاه مرکز تکثیر شامل آب چشمه با درجه حرارت ۱۲ - ۱۲/۵ درجه سانتیگراد، اکسیژن ۹ - ۸ میلی گرم در لیتر و دی اکسید کربن ۲±۷ میلی گرم در لیتر، آمونیاک کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر، نیتریت کمتر از ۰/۱ میلی گرم در لیتر و سختی ۱۷۰ میلی گرم در لیتر بود. میزان آب ورودی روی تراف تخم‌ها و نیز بر روی لاروها بر اساس مقادیر توصیه شده (۸ - ۷/۵ لیتر در دقیقه برای تخم‌ها و ۵۰- ۴۵ لیتر در دقیقه برای لاروها) تنظیم گردید(۷). در مورد لاروها نیز تغذیه فعال برابر برنامه معمول کارگاه با شنای فعال حدود ۵۰ درصد لاروها و آمدن آنها به سطح آب شروع و در ابتدا لاروهای تفریخ شده تا وزن ۰/۵ گرمی به میزان ۴/۸ درصد وزن بدن با استفاده از غذای تجاری SFTOO به تعداد حداقل ۱۲ بار در روز تغذیه و سپس تا وزن ۱/۲ گرمی به میزان ۴/۴ درصد وزن بدن با استفاده از غذاهای SFTO و SFT1 تغذیه شدند.

عملیات بیومتری (وزن کشی) از لاروهای تفریخ شده نیز به تعداد ۵ بار برای ۱۵ - ۱۰ روز یک مرتبه انجام شد. برای انجام بیومتری در هر مرتبه حداقل وزن ۱۰۰ عدد لارو تعیین و میانگین وزن آنها با دقت ۰/۰۱ گرم محاسبه و ثبت گردید.

آنالیز آماری: نتایج حاصله با استفاده از برنامه Excel و آنالیز واریانس دو طرفه مقایسه و اختلافات مربوطه در حد $p=0.05$ محاسبه گردید.

نتایج

الف - نتایج تلفات تخم تا مرحله چشم زدگی: نتایج تلفات تخم در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج مذکور میزان تلفات تخم تا مرحله چشم زدگی برای تیمارهای آویشن، آب اکسیژنه و مالاشیت گرین به ترتیب ۵۸۰۹، ۳۲۲۹ و ۳۰۶۰ عدد تخم بود در حالی‌که این میزان برای گروه شاهد برابر ۷۸۹۶ عدد تخم بود. به عبارت دیگر میزان بقاء تخم تا مرحله چشم زدگی برای تیمارهای فوق به ترتیب ۸۶/۰۶ درصد (۳۵۸۸۴ عدد)، ۹۲/۲ درصد (۳۸۲۶۷عدد) و ۹۲/۶۸ درصد (۳۸۵۲۰عدد) بود در حالی‌که برای گروه شاهد برابر ۸۰/۹۳ درصد (۳۳۵۱۵ عدد) برآورد گردید. مقایسه آماری این نتایج نشان می‌دهد که ۱) تلفات تخم تا مرحله چشم زدگی در گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای مورد آزمایش بود ($p<0/05$). ۲) میزان تلفات در تیمار آویشن به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین بود ($p<0/05$). ۳) تفاوت معنی‌داری بین تلفات تخم در بین تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین وجود نداشت ($p>0/05$).

ب- نتایج تلفات تخم از مرحله چشم زدگی تا مرحله تفریخ تخم‌ها: نتایج حاصل از تلفات تخم از مرحله چشم زدگی تا مرحله تفریخ تخم‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج مذکور میزان تلفات تخم در فاصله چشم زدگی تا تفریخ برای تیمارهای آویشن، آب اکسیژنه و مالاشیت گرین به ترتیب برابر ۳۶/۶ درصد (۹۲۳۲ عدد)، ۱۵/۷ درصد (۳۲۷۱ عدد) و ۲۴/۸۳ درصد (۷۲۶۱عدد) بوده است، در حالی‌که تلفات گروه شاهد برابر ۴۷/۵ درصد (۱۱۷۸۸ عدد) تخم برآورد شد. مقایسه آماری این میزان تلفات نشان می‌دهد که ۱) تلفات گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های تیمار بوده است ($p<0/05$)، ۲) تیمار آویشن بطور معنی‌داری از تلفات بیشتری در مقایسه با تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین برخوردار بوده است ($p<0/05$)، ۳) تلفات تیمار آب اکسیژنه بطور معنی‌داری کمتر از تیمار مالاشیت گرین می‌باشد ($p<0/05$).

ج- نتایج تلفات لارو از مرحله تفریخ تا وزن یک گرمی: نتایج حاصله از تلفات لارو قزل آلا از مرحله تفریخ تا وزن یک گرمی برای تیمارهای مختلف مورد آزمایش در جدول ۲ و نمودار ۱ نشان داده شده است. براساس نتایج فوق میزان تلفات در تیمارهای آویشن، آب اکسیژنه و مالاشیت گرین به ترتیب ۱۰/۸۶ درصد (۲۸۹۷عدد) ۴/۹۳ درصد (۱۷۲۷عدد) و ۴/۷۷ درصد (۱۴۸۹عدد) می‌باشد درحالی‌که تلفات گروه شاهد برابر ۱۲/۶۷ درصد (۲۷۵۰ عدد) می‌باشد. درصد بازماندگی لارو تا یک گرمی در تیمارهای آویشن، آب

جدول ۱- نتایج حاصل از تلفات و بازماندگی تخم‌های قزل آلا درمان شده با آویشن (۷۰ میلی گرم در لیتر) آب اکسیژنه (۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و مالاشیت گرین (۲ میلی گرم در لیتر) در دمای ۱۳-۱۲ درجه سانتیگراد.

تیمار	تعداد تخم اولیه (گرم)	تعداد تخم تلف شده تا چشم زدگی (گرم)	تعداد تخم تلف شده از چشم زدگی تا تفریخ (درصد)	مجموع تخم تلف شده تا تفریخ (گرم)	تعداد بازماندگی تخم تا چشم زدگی (درصد)	تعداد بازماندگی تخم تا مرحله تفریخ (لارو اولیه) (درصد)
آویشن	۴۱۶۹۳ (۲۹۵۷)	۵۸۰۹ (۴۱۲)	۹۲۳۲ (۳۶/۶)	۱۵۰۳۱ (۱۰۶۶)	۳۵۸۸۴ (۸۶/۰۶)	۲۶۶۶۲ (۶۳/۹۴)
آب اکسیژنه	۴۱۴۹۶ (۲۹۶۴)	۳۲۲۹ (۲۲۹)	۳۲۷۱ (۱۵/۷)	۶۵۰۰ (۴۶۱)	۳۸۲۶۷ (۹۲/۲)	۳۴۹۹۶ (۸۴/۳)
مالاشیت گرین	۴۱۵۸۰ (۲۹۴۹)	۳۰۶۰ (۲۱۷)	۷۲۶۱ (۲۴/۸۳)	۱۰۳۲۱ (۷۳۲)	۳۸۵۲۰ (۹۲/۶۸)	۳۱۲۵۹ (۷۵/۱۷)
شاهد	۴۱۴۱۱ (۲۹۳۷)	۷۸۹۶ (۵۶۰)	۱۱۷۸۸ (۴۷/۵)	۱۹۶۸۴ (۱۳۹۶)	۳۳۵۱۵ (۸۰/۹۳)	۲۱۷۲۷ (۵۲/۵)

اکسیژنه، مالاشیت گرین و گروه شاهد منفی به ترتیب ۸۹/۱۳درصد، ۹۵/۰۶درصد، ۹۵/۲۳درصد و ۸۷/۳۴درصد بر آورد شد. مقایسه آماری بین تیمارهای آویشن و شاهد منفی و نیز مقایسه تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین با یکدیگر نشان می‌دهد که از اختلاف معنی‌داری برخوردار نمی‌باشد ($p>0/05$). بهرحال میزان تلفات لارو در تیمار آویشن و گروه شاهد منفی بطورمعنی‌داری بیشتر از دو تیمار آب اکسیژنه و مالاشیت گرین می‌باشند ($p<0/05$). بطوری که مقایسه آماری بقاء لارو تا یک گرمی بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای آویشن و شاهد منفی و بین تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین می‌باشد ($p>0/05$) در حالی‌که درصد بقاء لارو در تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین بطورمعنی‌داری از تیمار آویشن و شاهد منفی بیشتر بوده است ($p<0/05$).

د- نتایج وزن کشی لاروهای تولیدی تا وزن یک گرمی: نتایج حاصله از بیومتری لاروهای تولیدی در نمودار ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج فوق گرچه میزان رشد لاروهای حاصل از تیمار آب اکسیژنه از رشد بالاتری برخوردار بوده است اما تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف و نیز شاهد وجود نداشت ($p>0/05$).

بحث

با توجه به توسعه سریع و قابل توجه صنعت آبزی پروری در کشور بویژه تکثیر و پرورش قزل آلا و مشکلات عمده مراکز تکثیر آن بویژه تلفات شدید دوران انکوباسیون تخم و نیز با توجه به ممنوعیت استفاده از برخی مواد شیمیایی نظیر مالاشیت گرین، یافتن داروی جایگزین مناسب امری ضروری است. بویژه استفاده از مواد گیاهی و یا ترکیباتی که کمترین مشکلات زیست محیطی را در بر داشته و برای گونه‌های پرورشی نیز واجد حداقل عارضه باشد، یکی از نیازهای امروز مراکز تکثیر می‌باشد.

براساس نتایج حاصل از این مطالعه روند تلفات تخم از مرحله چشم زدگی تا مرحله تفریخ تخم‌ها در گروه شاهد منفی بیشتر از تیمارهای مورد

جدول ۲- نتایج حاصل از تلفات و بازماندگی لارو قزل آلای تولیدی تا وزن یک گرمی حاصل از ترافهای تخم درمان شده با آویشن (۷۰ میلی گرم در لیتر) آب اکسیژنه (۵۰۰ میلی گرم در لیتر) و مالاشیت گرین (۲ میلی گرم در لیتر) در دمای ۱۳ -۱۲درجه سانتیگراد.

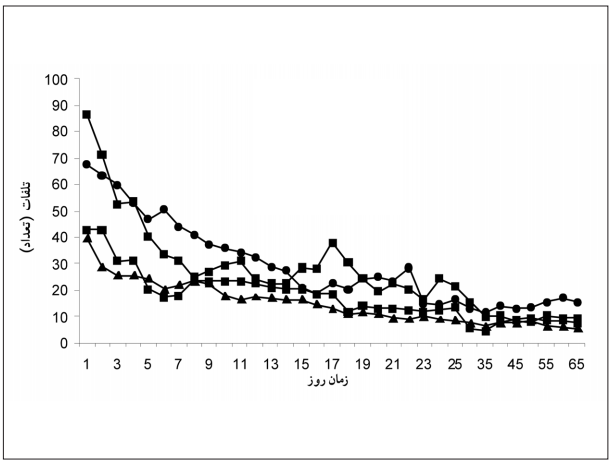
تیمار	تعداد لارو اولیه	تعداد لارو تلف شده (درصد)	تعداد لارو باقی مانده (درصد)
آویشن	۲۶۶۶۲	۲۸۹۷ (۱۰/۸۶)	۲۳۷۶۵ (۸۹/۱۳)
آب اکسیژنه	۳۴۹۹۵	۱۷۲۷ (۴/۹۳)	۳۳۲۶۸ (۹۵/۰۶)
مالاشیت گرین	۳۱۲۵۹	۱۴۸۹ (۴/۷۷)	۲۹۷۷۰ (۹۵/۲۳)
شاهد	۲۱۷۲۷	۲۷۵۰ (۱۲/۶۷)	۱۸۹۷۷ (۸۷/۳۴)

آزمایش بود بویژه این افزایش تلفات در روزهای اولیه پس از چشم زدگی قابل توجه بود ($p<0/05$). به علاوه روند تلفات تخم تا مرحله چشم زدگی برای تیمارهای آویشن، آب اکسیژنه و مالاشیت گرین سیر نزولی داشته است. مقایسه میزان تلفات بین این تیمارها نشان می‌دهد که میزان تلفات در تیمار مالاشیت گرین بطور معنی‌داری کمتر از تیمار آویشن بوده است. به علاوه مقایسه تلفات در بین تیمارهای مالاشیت گرین و آب اکسیژنه نشان می‌دهد که از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبود ($p>0/05$).

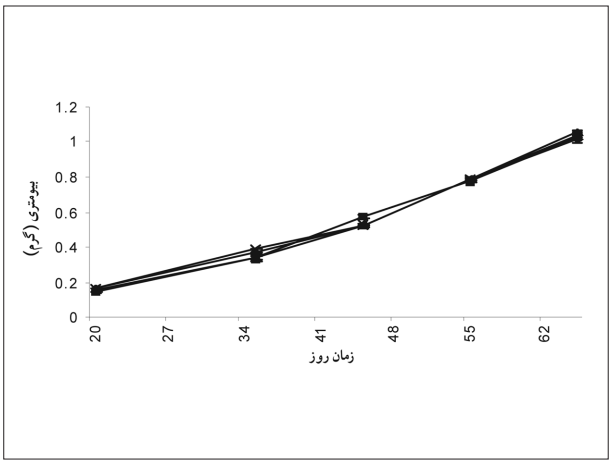
براساس نتایج تلفات لارو از مرحله تفریخ تا وزن یک گرمی میزان تلفات و روند آن در تیمار شاهد و آویشن در مقایسه با تیمار آب اکسیژنه و مالاشیت گرین در دوره ۱۵ روزه اول پس از تفریخ بطور معنی‌داری بیشتربوده است ($p<0/05$). ولی پس از آن بطور کلی روند تلفات برای همه تیمارها تقریباً مشابه بوده است. به علاوه اگرچه مقایسه میزان تلفات لاروها برای تیمارهای آب اکسیژنه و مالاشیت گرین تا مرحله یک گرمی بیانگر تلفات بیشتر برای آب اکسیژنه می‌باشد اما فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار مالاشیت گرین بوده است ($p>0/05$).

علیرغم اینکه مالاشیت گرین دارای کارایی زیادی در کنترل انواع آلودگی‌های قارچی، باکتریایی و انگلی سیستم‌های تکثیر و پرورش آبزیان می‌باشد، به دلیل اثرات سوء زیست محیطی استفاده از آن در کارگاه‌های پرورش آبزیانی که مصارف انسانی دارند منع شده است (۱۷،۳۳) لذا با توجه به اثرات سوء آن عدم استفاده از این ماده در مراکز تکثیر کشور می‌باید بطور جدی در برنامه کاری دستگاه‌های اجرایی و نظارتی قرار گیرد.

استفاده از آب اکسیژنه به عنوان یک ماده ضد باکتری، انگل، ویروس و اسپور قارچ طی سال‌های اخیر توصیه شده است (۸،۱۹،۲۰،۲۱،۲۲) اثرات آب اکسیژنه بر حسب غلظت و مدت زمان به کار رفته، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، حساسیت تخم‌ها و نوزادان گونه‌های مختلف آبزیان، متفاوت می‌باشد. برای مثال طبق گزارش (۲۳) تخم قزل آلای رنگین کمان، قبل و بعد از مرحله چشم زدگی به ترتیب از حساسیت بالا و پائین نسبت به آب اکسیژنه برخوردار است. همچنین براساس مطالعات (۳) بچه ماهیان قزل آلا در غلظت‌های ۴۲۰ و ۵۴۰ میلی گرم درلیتر از آب اکسیژنه به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت ۱۵ درجه سانتیگراد دچار مرگ و میر بالای ۲۰درصد شدند و مقادیر LC50 بر



نمودار۱- مقایسه میانگین تلفات لارو قزل آلا تا یک گرمی درمان شده با آب اکسیژنه (۵۰۰ میلی گرم در لیتر)، آویشن (۷۰ میلی گرم در لیتر) و مالاشیت گرین (۲ میلی گرم در لیتر) در دمای ۱۳-۱۲ درجه سانتیگراد. **آویشن** —●— H2O2 —■— مالاشیت گرین —▲— شاهد —■—.



نمودار۲- مقایسه میانگین وزن لارو قزل آلا حاصل از تخم‌های درمان شده با آب اکسیژنه (۵۰۰ میلی گرم در لیتر)، آویشن (۷۰ میلی گرم در لیتر) و مالاشیت گرین (۲ میلی گرم در لیتر) در دمای ۱۳-۱۲ درجه سانتیگراد. **آویشن** —●— H2O2 —■— مالاشیت گرین —▲— شاهد —✕—.

حسب سن بچه ماهیان قزل آلا، درجه حرارت آب و مدت زمان به کار گرفته شده از ۳۹۳ تا ۸۶۶۰ میلی گرم درلیتر متغیر است (۱۸). طبق مطالعات(۳۲)غییرات pH تحت تاثیر آب اکسیژنه بر حسب درجه سختی آب متغیرمی باشد به طوری که به کارگیری آب اکسیژنه در آب‌های با درجه سختی پائین تراز ۱۵۴ میلی گرم درلیتر، موجب کاهش pH شده و اسیدی شدن آب می تواند برای تخم ماهیان آسیب رسان باشد. بنابراین برای مقابله با این مسئله، به کارگیری سیستم‌های بافرینگ توسط محققان فوق الذکر پیشنهاد شده است که البته باید اثرات این سیستم‌ها نیز روی ماندگاری و بقاء تخم‌ها بررسی شود. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه بکارگیری آب اکسیژنه با غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۳۵ دقیقه از ۳۶ ساعت پس از لقاح تا مرحله چشم زدگی بیانگر کارآیی این ماده شیمیایی در افزایش میزان تفریخ تخم قزل آلا می باشد. قابل ذکر است که استفاده از این ماده در ایام ۰ ۱۷-۴۰ درجه روز توسط)۸)توصیه نشده است. به هر حال بکارگیری غلظت مذکور در مقایسه با اسانس آویشن شیرازی از کار آیی بالاتری برخوردار می‌باشد.

با این حال هنوز به علت وجود عوارض جانبی مواد شیمیایی مانند مالاشیت گرین و حتی آب اکسیژنه یافتن مواد با کارآیی مناسب و دوستدار محیط و با کمترین عوارض جانبی برای صنعت آبزی پروری امری ضروری است. استفاده از جایگزین‌های طبیعی با منشا گیاهی به جای آلاینده‌های شیمیایی در سیستم‌های تکثیر و پرورش آبزیان در حال افزایش است. حاصل مطالعات انجام شده تا کنون بیانگر اثرات ضد قارچی، ضدباکتری، ضد ویروسی، محرک ایمنی و خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی می‌باشد. فعالیت ضد قارچی عصاره‌های اتانولیک و متانولیک این گیاه علیه ۱۴ گونه کاندیدا (candida)، توسط (۳۴) گزارش شده است. گزارش هایی نیز مبنی بر فعالیت قارچ کشی عصاره‌های این گیاه بر ضد گونه‌های آسپرژیلوس، پنیسیلیوم توسط (۴،۲۵) و ساپرولگنیا توسط (۹)ارائه گردیده است.به علاوه گزارش‌های متعددی مبنی بر فعالیت باکتری کشی عصاره‌های این گیاه علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد. اثرات باکتری کش عصاره آویشن بر ضد گونه‌های باسیلوس (*Bacillus*) توسط (۱۶)استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، باسیلوس سوبتیلیس(*Bacillus sobtilis*)و اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) توسط (۵)باسیلوس سرئوس(*Bacillus cereus*)، توسط (۱)، سالمونلا تیفیموریوم (*Salmonellla typhimurium*) و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) توسط (۲) گزارش شده. براساس مطالعات(۱۲،۲۷،۲۸) ترکیبات موثر ضد باکتری و ضد قارچ عصاره آویشن، تیمول و کارواکرول هستند. این ترکیبات فنولیک چربی دوست بوده و می‌توانند تغییراتی در ساختار اسیدهای چرب غشاء سلول‌های میکربی ایجاد کنند (۵،۱۱). این تغییرات منجر به افزایش قابلیت نفوذ پذیری غشاء پلاسمایی و رها شدن محتویات سلول می‌گردد (۲۶). خصوصیات ضد ویروس، آنتی اکسیدان و محرک ایمنی اسانس این گیاه نیز توسط (۱۵،۲۹) گزارش شده است.

علیرغم وجود این اطلاعات تاثیر ضد عفونی کنندگی این اسانس نه تنها به عنوان ضد قارچ بلکه به عنوان ضد باکتری و ویروس در مراکز تکثیر و پرورش ماهی (دوران انکوباسیون تخم) بسیار اندک است. شریف روحانی (۱۳۸۴) در مطالعه خود از غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسانس آویشن شیرازی در فاصله زمانی ۲۴ ساعت پس از لقاح تا مرحله چشم زدگی در دمای ۱۱ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت در روز استفاده نمود و بیشترین (۴۲/۹ درصد) و کمترین (۳ /۳۱ درصد) درصد تخم چشم زده به ترتیب در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر بدست آمد. به علاوه بیشترین (۴ /۳۴ درصد) و کمترین (۴/۲) درصد تفریخ تخم به ترتیب در تیمارهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر حاصل شد. همچنین در مطالعه ایشان بیشترین (۴ /۱۰ درصد) و کمترین (۲/۵ درصد) درصد لارو تولیدی به ترتیب در غلظت‌های

۱ و ۵۰ میلی گرم در لیتر بدست آمد. در مطالعه وی عدم همخوانی بین درصد تخم چشم زده، تفریخ تخم و لارو استحصالی در غلظت‌های مختلف امکان نتیجه گیری را مشکل می سازد. در مطالعه حاضر که با استفاده از آب چشمه و شرایط کیفی مناسب انجام گرفته است، استفاده از غلظت ۷۰ میلی گرم در لیتر اسانس آویشن به مدت یک ساعت در روز منجر به ۸۶/۰۶ درصد بقاء تخم تا مرحله چشم زدگی، ۶۳/۹۴ درصد از چشم زدگی تا مرحله تفریخ و ۸۹/۱۳ درصد تا تولید لارو یک گرمی گردید که اگر چه در مقایسه با آب اکسیژنه از بازماندگی کمتری برخوردار بوده است اما می‌تواند به عنوان یکی از جایگزین‌های مالاشیت گرین مورد استفاده قرار گیرد. به هر حال مطالعات بیشتری مورد نیاز است تا در شرائط کیفی آب مناسب به بررسی کارآیی غلظت‌های بالاتر اسانس آویشن پرداخته شود. به ویژه چنانچه بتوان قبل از استفاده از این اسانس با استفاده از حلال‌های مناسب و بی ضرر برای تخم و لارو تولیدی، نسبت به حل نمودن آن در آب اقدام نمود احتمال افزایش کارآیی آن را بالا می برد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری و مساعدت شرکت ماهیاران در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. بخشی از هزینه‌های این مطالعه با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است.

References

1. Akhound-Zadeh Basti,A., Misaghi, A., Gheibi, S. (2005) Effects of essential oil of *Zataria multiflora* on *Bacillus cereus* growth in liquid extract of brain. Herbal Med. 16: 48-55.
2. Akhound-Zadeh Basti, A., Misaghi, A., Khaschabi, D. (2007) Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, pH and temperature on *salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aurous*. LWT - Food. Sci. Tech. 40: 973-981.
3. Arndt, R. E., Wanger, E. J. (2007) The toxicity of hydrogen peroxide to rainbow trout Oncorhynchus mykiss and cutthroat trout Oncorhynchus clarki fry and fingerlings. J. World. Aqua. Soci. 28: 150-157.
4. Daferera, D. J. ,ziogas, B. N, polissiou, M. G. (2000) Analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. J. Agri. Food. Chem. 48:2576-81.
5. DiPasqua, R., Hoskins, N., Betts, G., Mauriello, G. (2006) Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde and eugenol in the growing media. J. Agric. Food Chem. 54: 2745-2749.
6. Fan, M., Chen, J. (2001) Studies on antimicrobial activity of extracts from thyme. Acta microbio. Sinica. 41: 499-504.
7. Farzan, A. (2004) Salmonid Aquaculture. Iranian Fisheries research center publication, Tehran, Iran.pp.167.
8. Gaikowski, M.P., Rach, J.J., Olson, J.J., Ramsay, R.T. (1998) Toxicity of hydrogen peroxide treatments to rainbow trout eggs. J. Aqut. Anim. Health. 10: 241-251.
9. Gaikowski, M. P., Rach, J.J., Lee, L.A. (2001) Efficacy of hydrogen peroxide to control mortality associated with saprolegniasis caused by Saprolegnia parasitica in walleye eggs (Stizostedion vitreum). Study report. U.S. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine 10-023. pp. 332.
10. Javidnia, K., Tabatabai, M., Shafiee, A. (1999) Volatile constituents and antimicrobial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. Iranian. J. Chem.

Chem. Eng.18: 1-5.
11. Kelemba, D., Kunicka, A. (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10: 813-829.
12. Khalili, M.B., Vahidi, A.R. (2006) The anti-microbial effect of Zataia Multiflora drops on three bacterial species cause gastrointestinal disease. World J. Med. Sci. 1: 162-163.
13. Mohagheghzadeh, A., Shams-Ardakani, M., Ghannadi, A. (1999) Linalol-rich essential oil of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). Flavour Fragrance J. 15: 119-22.
14. Mohagheghzadeh, A., Shams-Ardakani, M., Ghannadi, A. (2000) Volatile constitutes of callus and flower-bearing tops of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). Flavour Fragrance J.15: 373-6.
15. Mohagheghzadeh, A., Shams-Ardakani, M., Ghannadi, A., Minaeian, M. (2004) Rosmarinic acid from *Zataria multiflora* tops and in vitro cultures. Fitoterapia. 75: 315-321.
16. Ozcan, M.M., Sagdiç, O., Ozkan, G. (2006) Inhibitory effects of spice essential oils on the growth of Bacillus species. J. Med. Food. 9: 418-421.
17. Plakas, S.M., Can, J. (1996) Found general background information about toxicity of malachite green and its uptake in Catfish. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 1427-1433.
18. Rach, J.J., Schreier, T.M., Howe, G.E., Redman, S.D. (1997) Effect of species, life stage and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. Progr. Fish- Cult. 59: 41-46.
19. Rach, J.J., Schreier, T.M., Howe, G.E. (1998) Efficacy of hydrogen peroxide treatments to control and prevent saprolegniasis infections on salmonid eggs. Final report submitted to the Division of Therapeutic Drugs for Food Animals, Center for Veterinary Medicine (FDA)WD, USA. pp.134.
20. Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Ramsay, R.T. (2000 a) Pivotal dose titration studies to evaluate the efficacy of hydrogen peroxide to control mortalities associated with external flavobacter infections on cultured fish and selected fish hatcheries. Final report submitted to the U.S. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine. WD, USA. pp.339.
21. Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Ramsay, R.T. (2000 b) Pivotal studies to evaluate the efficacy of of hydrogen peroxide to control parasite infestation on cultured fish and selected fish hatcheries. U.S. Food and Drug Administration Center for Vet. Med.WD, USA. pp.279.
22. Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Schreier, T.M. (2001a) Efficacy of hydrogen peroxide to control mortality associated with saprolegniasis on paddlefish. Final report submitted to the U.S. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine INAD 10-023.WD, USA. pp.111.
23. Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Schreier, T.M., Perkins, C.A., Schleps, S.M. (2001b) Safety of hydrogen peroxide to non-eyed and eyed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss eggs). Final report submitted to the U.S. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine INAD WD, USA. 10-023. pp.202.
24. Rach, J.J., Schreier, T.M., Schleis, S.M., Gaikowski, M.P. (2003) Efficacy of hydrogen peroxide to control fungus (saprolegniasis) on channel catfish eggs (Ictalurus punctatus). Final report submitted to the U.S. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine. WD, USA. pp. 149.
25. Rassooli, I. , Rezaei, M. B., Allameh, A. (2006) Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergills niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlok.* Food control 17:359-64.
26. Rhayour, K., Bouchikhi, T., Elaraki, T.A., Sendide, K., Remmal, A. (2003) The mechanism of bactericidal action of Oregano and Clove essential oil on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. J. Essential Oil. Res. 15: 356-362.
27. Saleem, M., Nazli, R., Afza, N., Sami, A., Ali, MS. (2004) Biological significance of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. Nat. Prod . Res.18: 493-7.
28. Shafiee, A., Javidnia, K. (1997) Composition of essential oil of *Zataria multiflora.* Planta Med. 63: 371-372.
29. Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M. (2007) In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities

of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* boiss. Food Control. 18: 800-805.

30. Sharif Rohani, M., Khosravi, A. R., Shokri, H., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Soltani, M., Rostamibeshman, M. (2009) A study of the effect of some Iranian herbal essences against saprolegina Spp. Mycophathologia. 25: 362-368.
31. Vahabzadeh, R. H., Ahmadi, M. R., Keyvan, A., Masoumian, M. (2004) Evaluation of hydrogen Peroxide effectiveness in fungal desinfection of *Acipenser Persicus* eggs. Iranian Sci. Fish. J. 14: 161-176.
32. Wagner, E.J., Arndt, R., Forest, A., Oplinger, R., Bartley, M. (2008) Rainbow trout egg disinfection with higher doses of hydrogen peroxide and iodine for shorter durations. Ichthyogram. 19: 3-5.
33. Wendy, C., Andesen, Sherri, B., Turnipseed, Jose, E., Roybal. (2005) Quantitative and confirmatory analyses of malachite green and leucomalachite green residues in fish and shrimp. Lab. Inf. Bull. 4363:
34. Zarei Mahmoudabadi, A., Dabbagh, M.A., Fouladi, Z. (2006) In Vitro Anti-Candida Activity of *Zataria multiflora* Boiss. Evid. Complem. Alte Medi. 3: 351-353.

J.Vet.Res. 64,2:127-134,2009

EFFECTS OF *ZATARIA MULTIFLORA* ESSENTIAL OIL ON RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS)* EGG HATCHABILITY AND SURVIVAL OF LARVAE COMPARED WITH HYDROGEN PEROXIDE AND MALACHITE GREEN

Soltani, M.[1]*, Esfandiary, M.[2], Khazraeenia, S.[1], Sajadi, M. M.[3]

[1]*Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

[2]*Department of Fisheries, Bandar Abas branch of Isalmic Azad University,Bandar Abas-Iran.*

[3]*Department of Marine Biology, Faculty of Basic Sciences, Universit y of Hormozgan, Bandar Abas-Iran.*

(Received 22 April 2008 , Accepted 19 February 2009)

Abstract:

Zataria multiflora essential oil, hydrogen peroxide(H_2o_2) and malachite green (MG) were used to assess their effects on rainbow trout egg hatchability and survival of larvae up to 1-1.2 g body weight using spring water at 12.5 °C, dissovled oxygen 8-9 mg/L, carbon dioxide 7±2 mg/L, ammunia <0.01 and total hardness about 170 mg/L . *Zataria* was used at 70 mg/L for 30 minutes per day , at 500 mg/L for 35 minutes per day with a reducing in the time treatment to 5 minutes during 70-140 degree-day and MG as the positive control at 2mg/L for 20 minutes per day. Normal control without any treatment was also included. Each treatment trial was provided in three replicates. The treatment trials started 36 hours post-incubation and were continued until the eyed-egg stage. The obtained results showed that the mortality level in normal control was significantly higher than other groups ($p<0.05$). Also, the mortality rate in eggs treated with Zataria was significantly higher than both MG and H_2o_2 groups ($p<0.05$). No significant different was seen between MG and H_2o_2 groups until the eyed-egg stage ($p>0.05$). Level of mortality in egg treated with Zataria was significantly higher than MG from eyed-egg stage until the hatching stage ($p<0.05$). In addition, the mortality rate of the produced larvae kept to 1-1.2 g body weight was significantly higher in both Zataria group and normal control groups than other two groups ($p<0.05$), while no significant difference was seen in weight of the produced larvae among all examined groups ($p>0.05$).The results showed that use of Zataria at 70 mg/L is incomparable with H_2o_2 and MG , although it is able to significantly improve the survival rate of rainbow trout eggs and larvae during incubation period.

Key words: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*, hatchability, *Zataria multiflora*, hydrogen peroxide, malachite green.

***Corresponding author's email: msoltani@ut.ac.ir, Tel: 021-61117195, Fax: 021-66933222**