



## In-vitro effects of Aquastart on theronts of *Ichthyophthirius multifiliis* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Jalil Rahmati Taghjih Hassan<sup>1</sup> , Mohammad Yakhchali<sup>2</sup> , Ali Nekouefard<sup>3</sup> 

1. Ph.D candidate, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. Email: [bahram989@gmail.com](mailto:bahram989@gmail.com)

2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (corresponding author). Email: [m.yakhchali@urmia.ac.ir](mailto:m.yakhchali@urmia.ac.ir)

3. Artemia Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Urmia, Iran. E-mail: [a.nekouefard@areeo.ac.ir](mailto:a.nekouefard@areeo.ac.ir)

Article Info	ABSTRACT
<b>Article type:</b> Research Article	Rainbow trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) is one of the economically and nutritionally important fished species of cold-water fish in Iran. <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> is a parasitic infection; that causes economic losses in aquaculture industry. The present study aimed to investigate the <i>in-vitro</i> effect of Aquastart on <i>I. multifiliis</i> theronts isolated from Rainbow trout. From a rainbow trout fish farm, 20 infected fish (average weight: 20±4 gr and average length: 14±2 cm) with <i>I. multifiliis</i> were trapped. They were exposed to 80 non-infected fingerling fish in three phases. The theronts were isolated from throphonts on the skin and gills of infected fish and counted. The concentrations of 5, 10, 20, 50, 100, and 200 mg/kg of Aquastart were provided from stock Aquastart (400 mg/kg), and 300 theronts were added. The lethal effect of Aquastart against the examined theronts were determined along with two control groups of Malachite green (0.05 mg/kg), and 50 ml dechlorinate water without Aquastart. The minimum and maximum lethal effects of Aquastart were at 0.67 ± 0.038 (200 mg/L) and 150 ± 1.2 (5 mg/L), respectively. The duration of the lethal effect of Aquastart had a significant association with concentration. From the results of this study, it was concluded that Aquastart had a toxic effect on theronts of <i>I. multifiliis</i> isolated from Rainbow trout and different concentrations of Aquastart at different time durations eliminated them.
<b>Article history:</b> Received: 4 March 2023 Received in revised form: 21 June 2023 Accepted: 21 June 2023 Published online: 20 March 2024	
<b>Keywords:</b> <i>Aquastart</i> , <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> , <i>Rainbow trout</i> , <i>Theront</i> .	

**Cite this article:** Rahmati Taghjih Hassan, J., Yakhchali, M. & Nekouefard, A. (2024). In-vitro effects of Aquastart on theronts of *Ichthyophthirius multifiliis* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Animal Science*, 55 (1), 181-191. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.355335.653934>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.355335.653934>

**Publisher:** The University of Tehran Press.

### Extended Abstract

#### Introduction

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is one of the economically and nutritionally important fished species of cold-water fish in Iran. *Ichthyophthirius multifiliis* is a parasitic protozoan infection; causes economic losses in both aquaculture and ornamental fish industries. Rainbow trout is a sensitive fish to white spot disease. *Ichthyophthirius multifiliis* is a ciliate protozoan with global distribution and low host specificity. It has the potential to destroy all fish in a farm. There are different levels of resistance among different hosts. So far, no vaccine and resistance has been reported in farmed fish against *I. multifiliis* infection. In earlier years, green malachite was applied as an effective compound against *I. multifiliis*, but it has been prohibited in many countries because of its carcinogenic and teratogenic effects in humans. In addition, other chemical compounds like copper sulfate, sodium chloride, potassium permanganate, and formalin, have some environmental issues such as aquatic ecosystems changes with lower efficiency and higher cost. Thus, the seeking for effective and environmental agents and management procedures to prevent *I. multifiliis* infection is essential. Aquastart is an effective antimicrobial agent against other fish pathogens in aquaculture. Additionally, production time and degradation of Aquastart were introduced it as a suitable disinfectants in aquaculture. The present study aimed to investigate *in-vitro* effect of Aquastart (antiseptic solution) on *I. multifiliis* isolated from rainbow trout.

### **Materials and Methods**

From a rainbow trout fish farm, a total number of 20 infected rainbow trout fish with body weight average  $20 \pm 4$  gr and length  $14 \pm 2$  cm and *I. multifiliis* trophont were trapped from a rainbow trout breeding farm suffering from ICH disease. Then, 80 uninfected fingerling rainbow trout were gotten exposed to each other in three stages. To isolate trophonts, their skin and gills were gently scraped in a petri dish containing chlorine-free water and the scaps transferred to a petri dish containing chlorine-free water. After 2 hours, the tomonts were attached to the bottom of the Petri dish, washed three times with chlorine-free water, and incubated for 24 hours at 23°C. Afterwards to release and counting the theronts, 2  $\mu$ L of parasite containing suspension were placed on the slide and 2  $\mu$ L of 1% formalin were added. Concentrations of 200, 100, 50, 20, 10 and 5 mg/L were prepared from the stock concentration of Aquastart (400 mg/L) and 300 theronts were added. The lethality level of aquastart was evaluated with presence of control groups, i.e. malachite green (0.05 mg/  $\mu$ L) and water without Aquastart (50 $\mu$ L).

### **Results and discussion**

The minimum time of occurrence of the lethal effect of Aquastart at concentration of 200 mg/L was  $0.67 \pm 0.038$  and the maximum time of its effect at a concentration of 100 mg/liter was  $150 \pm 1.2$  seconds. The minimum and maximum lethal effect of Aquastart were at  $0.67 \pm 0.038$  (200 mg/L) and  $150 \pm 1.2$  (5 mg/L), respectively. The duration of lethal effect of Aquastart had significant association with concentration.

### **Conclusion**

From the results of this study, it was concluded that Aquastart had toxic effect on theronts of *I. multifiliis* and different concentrations of Aquastart at different time durations eliminated them.



## مطالعه اثرات برون تنی آکوااستارت بر ترونت‌های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس در ماهی قزل آلابی رنگین کمان

جلیل رحمتی طاقچه حسن<sup>۱</sup> | محمد یخچالی<sup>۲</sup> | علی نکوئی فرد<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری انگل شناسی، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: [bahram989@gmail.com](mailto:bahram989@gmail.com)
۲. نویسنده مسئول، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: [m.yakhchali@urmia.ac.ir](mailto:m.yakhchali@urmia.ac.ir)
۳. مرکز تحقیقات آرتمیای کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران. رایانامه: [a.nekouefard@areeo.ac.ir](mailto:a.nekouefard@areeo.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>نوع مقاله:</b> مقاله پژوهشی</p> <p><b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۱/۱۲/۱۳</p> <p><b>تاریخ بازنگری:</b> ۱۴۰۲/۰۳/۳۱</p> <p><b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۲/۰۳/۳۱</p> <p><b>تاریخ انتشار:</b> ۱۴۰۳/۰۱/۰۱</p> <p><b>کلیدواژه‌ها:</b> آکوااستارت، اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس، ترونت، قزل آلابی رنگین کمان.</p>	<p>ماهی قزل آلابی رنگین کمان یکی از گونه‌های پرورشی با اهمیت اقتصادی و غذایی از ماهیان سردآبی ایران است. اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس آلودگی انگلی است که موجب بروز خسارت‌های اقتصادی زیادی در صنعت آبزی پروری می‌شود. مطالعه حاضر برای بررسی تاثیر برون تنی آکوااستارت بر ترونت‌های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس جدا شده از ماهی قزل آلابی رنگین کمان انجام شد. از یک مزرعه پرورش ماهی قزل آلابی رنگین کمان مبتلا به ایک، ۲۰ قطعه ماهی زنده (میانگین وزن بدن <math>20 \pm 4</math> گرم و طول <math>14 \pm 2</math> سانتی متر) آلوده به تروفونت اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس صید شدند. ۸۰ قطعه بچه ماهی انگشت قد قزل آلابی رنگین کمان بدون آلودگی در ۳ مرحله مجاورت داده شدند. ترونت‌ها از تروفونت‌های جدا شده از پوست و آبشش ماهیان آلوده تهیه و شمارش گردیدند. از غلظت پایه آکوااستارت (۴۰۰ میلی گرم در لیتر) غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میلی گرم در لیتر تهیه و ۳۰۰ ترونت اضافه شد. میزان کشندگی آکوااستارت در حضور دو گروه شاهد شامل مالاشیت سبز (۰/۰۵ میلی گرم در میکرولیتر) و آب بدون آکوااستارت (۵۰ میکرولیتر) ارزیابی گردید. کمترین زمان بروز اثر کشندگی آکوااستارت در غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر <math>0.38 \pm 0.67</math> و بیشترین زمان اثر آن در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر <math>1.2 \pm 1.50</math> ثانیه بود. مدت زمان بروز اثر کشندگی آکوااستارت با غلظت آن ارتباط معنی داری داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که آکوااستارت بر ترونت‌های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس جدا شده از ماهی قزل آلابی رنگین کمان اثر سمی دارد و غلظت‌های مختلف آن در زمان‌های مختلف موجب از بین رفتن آن‌ها می‌گردد.</p>

**استناد:** رحمتی طاقچه حسن، جلیل، یخچالی، محمد و نکوئی فرد، علی (۱۴۰۳). مطالعه اثرات برون تنی آکوااستارت بر ترونت‌های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیپس در ماهی قزل آلابی رنگین کمان. نشریه علوم دامی ایران، ۵۵ (۱)، ۱۹۱-۱۸۱. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.355335.653934>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.355335.653934>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

## مقدمه

ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس یک تک‌یاخته مژه‌دار و انگل پوست و آبشش ماهی محسوب می‌شود. این انگل عامل لکه سفید در ماهی است (Gholipour-Kanani et al., 2012; Raissy & Ansari, 2012). اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس یک چرخه زندگی مستقیم و دارای سه مرحله ترونت عفونی، تروفونت انگلی و تومونت زایشی است. ترونت‌ها فعالانه در آب شنا می‌کنند و برای تغذیه با ورود به مخاط، بافت آبشش و پوست به تروفونت تبدیل می‌شوند. تروفونت‌ها پس از رشد به تروفونت بالغ تبدیل می‌شوند. تروفونت انگل (۱ - ۰/۵ میلی متر) در روی پوست به صورت لکه‌های سفید ظاهر می‌شود. تروفونت‌های بالغ به طور فعال پوست و آبشش ماهی را ترک و به تومونت کپسوله تبدیل می‌شود و برای تشکیل تومیت‌ها تقسیم و به شکل ترونت، آزاد می‌شوند (Matthews, 2005; Abdel-Hafez et al., 2014). اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس به دلیل تحمل تغییرات دمایی گسترده و حساسیت میزبانی پایین می‌تواند موجب بروز خسارات اقتصادی زیادی پرورش دهندگان ماهی شده است (Traxler et al., 1998; Aihua & Buchmann, 2001; Matthews, 2005; Jorgensen et al., 2008). البته گزارش ثبت شده‌ای از خسارات اقتصادی بیماری ایک (بیماری لکه سفید، اکتیوفتیریازیس) با اینکه می‌تواند یک معضل بزرگ آبروی پروری باشد، نبود.

توانایی اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس در انطباق با میزبان‌ها و محیط‌های متفاوت، انتشار آن را در گونه‌های آب شیرین در سراسر جهان تسهیل کرده است. تاکنون هیچ گونه مقاومی گزارش نشده است (Dickerson, 2006; Chang et al., 2001). این انگل توانایی مرگ و میر در ماهیان یک مزرعه حتی در بین مولدین را دارد (Rintamäki-Kinnunen, 1997). آلودگی به اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس از ماهیان پرورشی بیشتر مناطق دنیا به استثنای آمریکا گزارش شده است (Ogut et al., 2005). اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس برای اولین بار در فرانسه گزارش شد (Picón-Camacho et al., 2012). حضور تک‌یاخته اکتیوفتیریوس مولتی فیلیپس عامل بیماری ایک برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۵۹ گزارش شد (Mokhir, 1980).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از جمله ماهیان حساس به بیماری ایک است (Maki, 2003). زمانی که ترونت‌های انگل در مرحله شنای آزادند، انگل در حساس‌ترین شرایط تکاملی خود قرار دارد، به طوری که تومنت‌های کف استخر و تروفونت‌های واقع در عمق اپیدرم می‌توانند خود را از خطر مواد شیمیایی پنهان سازند (Tucker & Robinson, 1990).

شناسایی ترکیبات ضدانگلی مؤثر بر ترونت‌ها و قطع چرخه‌ی زندگی انگل حائز اهمیت می‌باشد. درمان شیمیایی در سیستم‌های آبی با دو مشکل بروز سمیت برای ماهی و آلودگی زیست‌محیطی همراه است (Ling et al., 2010). استفاده از مالاشیت‌گرین به همراه خوراک ماهی، به دلیل اثرات سرطان‌زایی و تراژوژنیک در انسان، در بسیاری از کشورها ممنوع گردیده است (Picón-Camacho et al., 2012). همچنین استفاده از برخی ترکیبات مانند کلریدسدیم، فرمالین و سولفات مس، باعث نگرانی‌های زیست‌محیطی شده است (Picón-Camacho et al., 2012). بنابراین، ارزیابی ترکیبات مختلف ضد انگل جهت شناسایی و کاربرد ترکیباتی با نفوذ و بقای کم در بافت ماهی و همچنین حداقل آسیب به محیط زیست مورد نیاز است.

آکواستارت یک ضد عفونی کننده عمومی بر پایه پراسیداستیک (۳-۵ درصد)، اسید استیک (۱۵-۵ درصد) و پراکسید هیدروژن (۲۳-۲۵ درصد) است که به صورت تجاری در ایران تولید می‌شود. فعالیت ضد میکروبی آکواستارت ناشی از اکسیداسیون و اختلال در غشای سلولی است (Marchand et al., 2012). استفاده از آکواستارت و پراکسید هیدروژن در محیط‌های آبی را جهت کنترل و درمان عوامل بیماری‌زای ماهیان نظیر یرسینیا توصیه شده است (Gesto et al., 2018). این ترکیب به سرعت به اکسیژن، اسیداستیک و آب تجزیه شده و به سرعت توسط میکروارگانیسم‌ها متابولیزه می‌شود و پتانسیل جایگزینی با سایر مواد شیمیایی مضر مانند فرمالین، سولفات مس و ترکیبات آمونیوم چهارتایی را دارد (Pedersen et al., 2013; Lieke et al., 2020). بنابراین هدف از مطالعه حاضر، مجاورت دادن آکواستارت با ترونت‌های اکتیوفتیریوس

مولتی فیلیپس جدا شده از ماهی قزل آلی رنگین کمان و بررسی اثرات ضد ترونت و ارزیابی زمان و میزان مرگ و میر ترونت ها در غلظت های مختلف آکواستارت در شرایط برون تنی بود.

## روش شناسی پژوهش

### روش نمونه برداری

از یک مزرعه پرورش قزل آلی رنگین کمان مبتلا به ایک، ۲۰ قطعه ماهی زنده آلوده (میانگین وزن بدن  $20 \pm 4$  گرم و طول  $14 \pm 2$  سانتی متر) به تروفونت / اکتیو فیتیریوس مولتی فیلیپس با علایم پرش و شنا در سطح آب استخر، ناراحتی تنفسی، ترشح موکوس، فرسایش باله ها و پوست، تیرگی پوست و زخم جمع آوری شدند. شاخص های دما ( $13 \pm 0/5$  درجه سانتی گراد)، اکسیژن محلول (۸ میلی گرم در لیتر) و pH ( $7/0 \pm 2/2$ ) آب مزرعه نیز ثبت شدند. ماهی های جمع آوری شده در مخازن آب با منبع تامین اکسیژن به آزمایشگاه منتقل شدند.

### روش جداسازی ترونت ها

جهت آلودگی تجربی به تک یاخته / اکتیو فیتیریوس مولتی فیلیپس، در ۳ مرحله ۸۰ قطعه بچه ماهی انگشت قد قزل آلی رنگین کمان عاری از آلودگی به ماهیان آلوده در آکواریوم مجاور سازی شدند. بعد از ۱۰ روز که ماهی ها به انگل آلوده شدند، تعداد ۴ قطعه ماهی آلوده صید شدند. برای جدا کردن تروفونت ها، پوست و آبشش آن ها به آرامی در یک پتری دیش حاوی آب بدون کلر خراش داده شدند و به پتری دیش حاوی آب بدون کلر (آب چاه قبل از استفاده در تانکر ۲۰ مترمکعبی وارد و با ایرجت هوادهی شد). منتقل گردیدند. بعد از ۲ ساعت تومنت ها به کف پتری دیش چسبیدند و با آب بدون کلر سه بار شستشو داده شدند و ۲۴ ساعت در ۲۳ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از آزاد شدن ترونت ها، تعداد آن ها با گذاشتن ۲ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی انگل بر روی لام و افزودن ۲ میکرولیتر فرمالین ۱ درصد شمارش گردیدند (Zhang et al., 2013).

### روش آزمایش

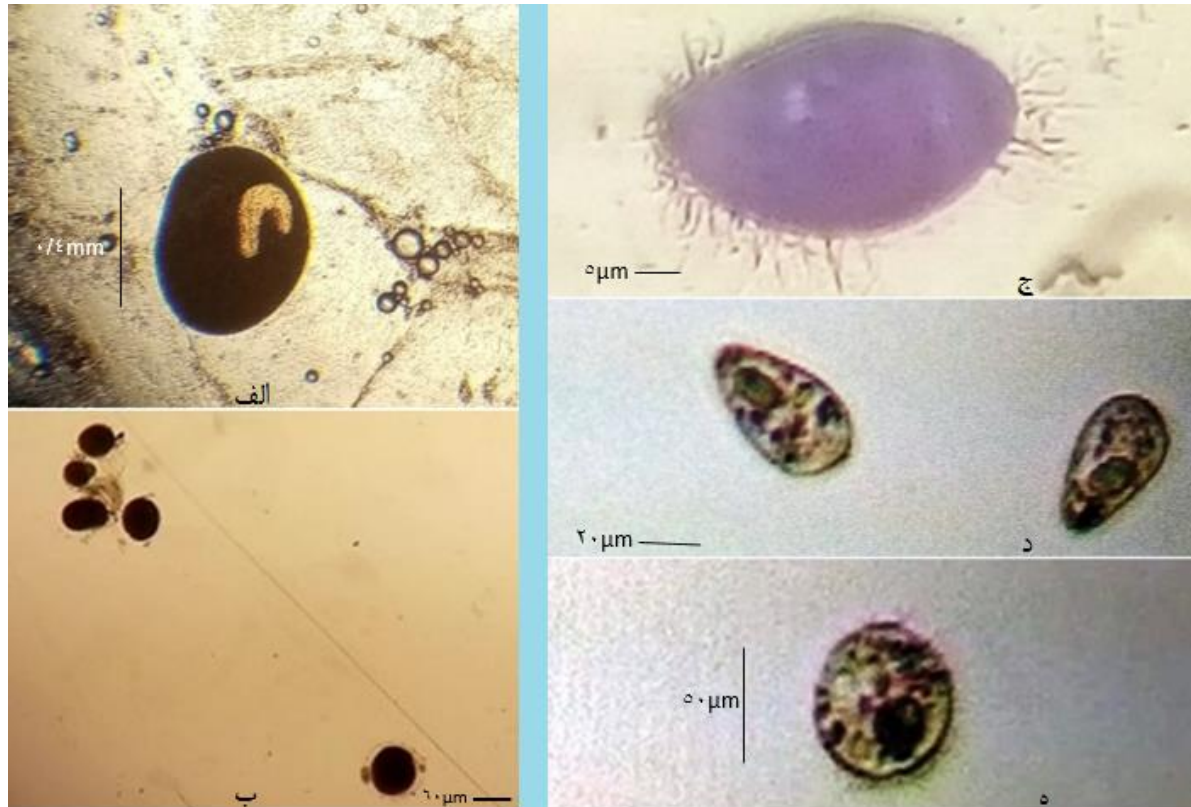
از غلظت پایه آکواستارت ۵ درصد (۴۰۰ میلی گرم در لیتر) (ماده ضد عفونی کننده با نام تجاری پراستیک اسید (رامیار شیمی تهران) و اجزای تشکیل دهنده پراسید استیک (۳-۵ درصد)، آب اکسیژنه (۲۳-۲۵ درصد) استیک اسید (۱۵-۵ درصد)؛ غلظت های ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میلی گرم در لیتر تهیه گردید. به هر چاهک از میکروپلیت ۹۶ چاهکی، ۵۰ میکرولیتر آب بدون کلر در حدود ۳۰۰ ترونت اضافه شد. برای هر غلظت از آکواستارت ۳ تکرار و برای هر تکرار دو چاهک شامل ۵۰ میکرولیتر مالا شیت سبز (فرمول شیمیایی  $C_{23}H_{25}ClN_2$ ) به عنوان کنترل مثبت از غلظت پایه ۰/۰۵ میلی گرم در میکرولیتر و آب بدون کلر و فاقد آکواستارت به عنوان کنترل منفی (۵۰ میکرولیتر) تهیه شدند. سپس مدت زمان کشندگی آکواستارت بر حسب ثانیه (عدم حرکت و دفورمه شدن ترونت ها) در هر چاهک در فاصله زمانی ۳ دقیقه برای هر غلظت در هر تکرار در نگاه ریزی با لوپ (نیکون مدل SMZ645) در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد ارزیابی و ثبت گردید (Zhang et al., 2013).

### روش ارزیابی آماری

به منظور تعیین میزان کشندگی آکواستارت، پردازش آماری داده ها با استفاده از بسته آماری SPSS (version 26, Chicago, USA) به روش ANOVA دو طرفه تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری ( $p < 0/05$ ) بود.

## یافته‌های پژوهش

در این تحقیق، اثر کشندگی آکواستارت بر ترونت‌های *ایکتیوفتیریوس مولتی‌فیلیس* با کاهش در سرعت تحرک ترونت‌ها آغاز می‌شد و سپس ترونت‌ها به دور خود می‌چرخیدند تا اینکه بعد از مرگ به حالت کروی در آمدند (شکل ۱):



شکل شماره ۱. *ایکتیوفتیریوس مولتی‌فیلیس* جدا شده از آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. (الف) تروفوفت (بزرگنمایی  $\times 10$ )، (ب) تومونت (بزرگنمایی  $\times 50$ )، (ج) ترونت رنگ آمیزی شده با گیمسا (بزرگنمایی  $\times 100$ )، (د) ترونت بدون رنگ آمیزی (بزرگنمایی  $\times 100$ ) و (ه) ترونت مواجهه یافته با آکواستارت (بزرگنمایی  $\times 100$ ).

اثر کشندگی آکواستارت بر ترونت‌های *ایکتیوفتیریوس مولتی‌فیلیس* رابطه مستقیمی با غلظت آن داشت. به طوری که در شرایط آزمایشگاهی مدت زمان لازم برای از بین بردن کامل ترونت‌ها در غلظت‌های بالای آکواستارت به طور معنی‌داری کمتر از غلظت‌های پایین آن بود و در طول مدت آزمایش در گروه کنترل منفی هیچ مرگ و میری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ) (شکل ۱). کمترین زمان بروز اثر کشندگی آکواستارت در غلظت  $200$  میلی‌گرم در لیتر  $0.38 \pm 0.67$  و بیشترین زمان اثر آن در غلظت  $5$  میلی‌گرم در لیتر  $1/2 \pm 150$  ثانیه بود (جدول ۱):

جدول ۱. نتایج اثر آکواستارت بر ترونت های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس در شرایط آزمایشگاهی.

سطح اطمینان		میانگین زمان مرگ و میر (ثانیه، میانگین $\pm$ انحراف معیار)	غلظت (میلی گرم در لیتر)
حد بالا	حد پایین		
۱۵۲/۹۸	۱۴۷/۰۲	$\pm ۱۵۰$ ۱/۲	۵
۵۸/۶۹	۵۴/۱۸	$۵۶/۴۳ \pm ۰/۹۰۷$	۱۰
۲۵/۹۳	۲۴/۴۱	$۲۵/۱۷ \pm ۰/۳۰۶$	۲۰
۱۲/۷۶	۱۱/۴۴	$۱۲/۱۰ \pm ۰/۲۶۵$	۵۰
۰/۹۸	۰/۷۶	$۰/۸۷ \pm ۰/۰۴۴$	۱۰۰
۰/۷۶	۰/۵۷	$۰/۶۷ \pm ۰/۰۳۸$	۲۰۰
۴۳۱/۲۷	۳۵۵/۳۸	$۳۹۲/۳ \pm ۱۵/$	کنترل مثبت (مالاشیت سبز)
$۰۰ \pm ۰۰$	$۰۰ \pm ۰۰$	$۰۰ \pm ۰۰$	کنترل منفی (آب فاقد کلر)

## بحث

واکسیناسیون به عنوان یک روش پیشگیری بالقوه در برابر بیماری ایک در آبی پروری مطرح است (Jørgensen, 2017; Xu et al., 2009). ولی تاکنون واکسنی برای بیماری ایک به صورت تجاری ارایه نشده است (Dickerson and Findly, 2014). بنابراین مطالعات متعددی برای درمان ماهیان آلوده و یا آب حاوی ترونت های فعال انجام شده است (Jørgensen, 2017). امروزه در مزارع پرورشی ماهیان سردآبی از ضد عفونی کننده ها برای درمان و کنترل آلودگی های ناشی از انگل های خارجی استفاده می شود (Roque et al., 2010; Pedersen et al., 2013). غلظت و نسبت آکواستارت اثر میکروب کشی آن را تعیین می کند. فعالیت ضد میکروبی آن ناشی از اکسیداسیون و متعاقب آن اختلال در غشای سلولی میکروب است و در طیف وسیعی از دماها عمل می کند ولی در شرایط قلیایی فعالیت آن کاهش می یابد (Marchand et al., 2012). باتوجه به مدت زمان تولید و اضمحلال آکواستارت، آن را جایگزینی مناسب برای سایر ضد عفونی کننده های رایج در آبی پروری معرفی کرده اند (Danner & Merrill, 2005; Pedersen et al., 2009; Lahnsteiner & Kletzl, 2016; Liu et al., 2017).

Hooshangi et al. (2016) مرگ و میر برای آکواستارت در تیمارهای با غلظت ۱، ۱۰ و ۶۵ میلی گرم در لیتر ثبت نشد و حداکثر غلظت مجاز استفاده از آکواستارت در ماهی قزل آلی رنگین کمان را ۸/۹ میلی گرم در لیتر در شرایط ایتیمم زیستی توصیه کردند. آکواستارت به دلیل سرعت تجزیه شدن به اکسیژن و آب نسبت به سایر ضد عفونی کننده ها یک ماده ضد عفونی کننده عمومی با رفتار و اثرات پاتولوژیک ایمن برای استفاده در مزارع پرورشی ماهی قزال آلا گزارش نمودند.

در این مطالعه، غلظت های مورد استفاده آکواستارت موجب از بین رفتن ترونت های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس در کمتر از ۳ دقیقه شدند. در تحقیقی Meinelt et al. (2007) نشان دادند آکواستارت در غلظت کمتر از ۰/۳ میلی گرم در لیتر در مدت ۵ دقیقه تعداد ترونت های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس جدا شده از ماهی ساندر لوسیوپرکا را در مقایسه با گروه شاهد ۲۴ درصد کاهش داد. Rintamäki-Kinnunen et al. (2005a,b) آلودگی به اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس را در ماهیان قزل آلا و آزاد با مخلوطی از آکواستارت و فرمالین کاهش دادند. Straus & Meinelt (2009) اثر سمی آکواستارت بر ترونت های اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس را در غلظت ۴/۵ درصد در شرایط برون تنی گزارش کردند. Gesto et al. (2018) نیز اثر سمی آکواستارت بر ترونت اکتیو فیتوریوس مولتی فیلیس را در غلظت های ۰/۳ میلی گرم در لیتر و ۰/۸ میلی گرم در لیتر گزارش نمودند. در تحقیقی Meinelt et al. (2009) اثر آکواستارت ۴۰ درصد را بر تومونت آزاد و کپسول دار و تومیت های

در حال رشد را بررسی کردند و نشان دادند آکواستارت در غلظت کمتر از ۲ میلی گرم در لیتر موجب مرگ تمامی تومونت‌ها در ۴۸ ساعت شد. ولی تومونت‌های تازه آزاد شده و در حال رشد تعداد ترونت‌های کمتری تولید کردند.

Sudová et al. (2010) گزارش کردند که غلظت ۱ میلی گرم در لیتر آکواستارت قادر به حذف/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس در آبشش، پوست و باله کپور ماهیان آلوده بود. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با کاهش سطح کورتیزول پلاسمایی می‌تواند به قرار گرفتن مکرر در معرض آکواستارت عادت کند و با حضور استرس‌زای/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس مقابله نماید (Gesto et al., 2018). در مطالعه Hoshangi et al. (2016) در تیمارهای با غلظت ۱، ۱۰، ۶۵ میلی گرم در لیتر مرگ و میر/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس ثبت نشد و رفتارشان طبیعی بود. حداقل غلظت کشنده ۵۰ درصد برای آکواستارت را ۴/۹۶ میلی گرم در لیتر گزارش کردند. Nekuieifard et al. (2018) استفاده از آکواستارت در مقایسه با فرمالین و مالاشیت گرین را برای کنترل بار قارچی آب و تخم سبز قزل‌آلای رنگین کمان گزارش کردند و غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر را برای کاهش بار قارچی در آلودگی تخم و آب پیشنهاد نمودند. (Weitkamp et al. (2016) (2007) انگل‌های خارجی ماهیان پرورشی از جمله تریکودینا و ژیروداکتیلوس را با استفاده از غلظت ۲/۶ میلی گرم در لیتر آکواستارت در طی ۳ روز از بین بردند. بنابراین آکواستارت بر مراحل آزادزی و غیر انگلی/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس موثر می‌باشد.

### نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این مطالعه نشان داد در شرایط برون‌تنی غلظت‌های مختلف آکواستارت ۵ درصد موجب از بین رفتن کامل ترونت‌های/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس شده و غلظت ۵ میلی گرم در لیتر آن ضد عفونی کننده مناسبی بر ضد ترونت‌های/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس بود. از آنجایی که هیچ شدن تومونت و ترونت/یکتیوفتیریوس موتی فیلیپس در روی بدن ماهی همزمان نیست، غلظت مناسب آکواستارت در مقیاس طولانی مدت باید در هنگام درمان بر ضد این تک یاخته انگل خارجی در شرایط میدانی تعیین شود. البته به دلیل ناپایداری آکواستارت، بایستی درمان ماهیان آلوده در شرایط دینامیکی انجام شود تا از در معرض قرار گرفتن آن‌ها با غلظت‌های ثابت این ترکیب اطمینان حاصل شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه که با تصویب و حمایت مالی از پایان نامه به شماره ۱-۱۴۰۰ امکان انجام مطالعه را فراهم آوردند و نیز همکاران سازمان آرتمیای کشور و اداره کل دامپزشکی استان آذربایجان غربی، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### منابع

- جلالی جعفری، بهیار (۱۳۷۷). انگل‌ها و بیماری‌های انگلی ماهیان آب شیرین ایران. اداره کل آموزش و ترویج، ۱۶۷-۱۳۱.
- جلالی، بهیار، محبوبی صوفیانی، نصرالله، اسدالله، سعید و برزگر، مریم (۱۳۹۱). بررسی انگل‌های ماهیان تالاب حنا، سمیرم، اصفهان. *مجله علمی شیلات ایران*، شماره ۱، صفحات ۲۵-۳۸.
- خلجی، مهتاب، سرخوش، جعفر، امینی، شهره، صیامی، مسعود، زنگنه، مسعود و اسداله‌هی، سعید (۱۳۹۵). مطالعه رابطه بین اندازه ماهی و شدت آلودگی به برخی تک یاختگان انگلی ماهیان مولی (*Poecilia latipinna*) قنات جرقویه اصفهان. *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۵ (۳)، ۲۵۱-۲۵۷.
- مخیر، بابا (۱۳۵۹). بررسی انگل‌های ماهیان حوزه سفید رود. نامه دانشکده دامپزشکی، ۳۶ (۴)، ۷۴-۶۱.
- نکوئی فرد، علی، سپهداری، ابوالفضل، دادگر، شهرام، عبدی، کاظم، رهنما، شهرام (۱۳۹۸). مطالعه اثر مقایسه ای آکواستارت (*Aqua start*) در تخم سبز و لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی با مالاشیت سبز و فرمالین. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی



کشور، فیپاک، شماره فروست ۵۶۸۱۵، ۶۴ صفحه.

هوشنگی، رامتین، سلطانی، مهدی، حسینی شکرابی، سید پژمان (۱۳۹۶). تعیین غلظت کشندگی متوسط (LC50) داروی ضد عفونی کننده آکواستارت و بررسی آسیب شناسی آبشش در بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پاتوبیولوژی مقایسه ای، ۱۴ (۲)، ۲۲۱۶-۲۲۰۷.

## REFERENCES

- Abdel-Hafez, G., Lahnsteiner, F., & Mansour, N. (2014). Possibilities to control *Ichthyophthirius multifiliis* infestation with medicated feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and chub (*Leuciscus cephalus*). *Parasitology Research*, 113(3), 1119-1126. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3749-9>.
- Aihua, L., & Buchmann, K. (2001). Temperature-and salinity-dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology*, 17(6), 273-276. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2001.00279.x>.
- Chang, C. F., Yang, C. H., Shu, Y. O., Chen, T. I., Shu, M. S., & Liao, I. C. (2001). Effects of temperature, salinity and chemical drugs on the in vitro propagation of the Dinoflagellate parasite, *Amyloodinium ocellatum*. *Asian Fish Soc*, 31.
- Danner, G. R., & Merrill, P. (2005). Disinfectants, disinfection, and biosecurity in aquaculture. *Aquaculture Biosecurity: Prevention, Control, and Eradication of Aquatic Animal Disease*, Wiley Online Library, pp: 91-128.
- Dickerson, H. W. (2006). *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* (phylum Ciliophora). Fish diseases and disorders: Protozoan and metazoan infections, Vol. 1, pp. 116-153.
- Dickerson, H. W., & Findly, R. C. (2014). *Immunity to Ichthyophthirius infections in fish: a synopsis*. *Developmental & Comparative Immunology*, 43(2), 290-299.
- Gesto, M., Liu, D., Pedersen, L. F., Meinelt, T., Straus, D. L., & Jokumsen, A. (2018). Confirmation that pulse and continuous peracetic acid administration does not disrupt the acute stress response in rainbow trout. *Aquaculture*, 492, 190-194. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.009>.
- Gholipour-Kanani, H., Sahandi, J., & Taheri, A. (2012). Influence of garlic (*Allium sativum*) and Mother worth (*Matricaria chamomilla*) extract on *Ichthyophthirius multifiliis* parasite treatment in Sail Fin Molly (*Poecilia latipinna*) ornamental fish. *APCBEE Procedia*, 4, 6-11.
- Hooshangi, R., Soltani, M., & Hosseini Shokrabi., S.P. (2016). Determining the average lethal concentration (LC50) of Aquastart disinfectant and investigating gill pathology in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Pathobiology*, 14(2), 2207-2216. (In Persian).
- Jalali Jafari, B. (1998). *Parasites and parasitic diseases of Iranian freshwater fish*. General Directorate of Education and Promotion, pp: 131-167. (In Persian).
- Jalali, B., Mahbobi Soofiani, N., Asadollah, S., and Barzegar, M. (2012). An investigation on fish parasites in Hanna Wetland, Semirom, Isfahan Province. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 21(1), 25-38. (In Persian).
- Jorgensen, T. R., Larsen, T. B., & Buchmann, K. (2008, November). Parasitic infections in model trout farms. In Control of pathogens in warm water aquaculture and recirculated model trout farms. Proceedings of the SCOFDA Workshop. November 4 and 5, 2008. University of Copenhagen, Frederiksberg, Denmark. Printed by Frederiksberg Bogtrykkeri, Denmark ([www.fishnet.dk/scofda](http://www.fishnet.dk/scofda)).
- Jørgensen, L. (2017). The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* host immunology, vaccines and novel treatments. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 586-595. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.044>.

- Khalaji, M., Sarkhosh, J., Amini, S. H., Siyami, M., Zangene, M., & Asadolahi, S. (2016). The relation between size and parasite load in the Molly fish (*Poecilia latipinna*) of Jarghoyeh qanat, Isfahan Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 25(3) 251-257. (In Persian).
- Lahnsteiner, F., & Kletzl, M. (2016). Investigations on the effect of formalin and iodophor on embryo and larvae development in pikeperch, *Sander lucioperca*. *Journal of Applied Aquaculture*, 28(1), 47-51.
- Lieke, T., Meinelt, T., Hoseinifar, S. H., Pan, B., Straus, D. L., & Steinberg, C. E. (2020). Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 943-965. <https://doi.org/10.1111/raq.12365>.
- Ling, F., Wang, J. G., Liu, Q. F., Li, M., Ye, L. T., & Gong, X. N. (2010). Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in goldfish (*Carassius auratus*) by potassium ferrate (VI) treatment. *Veterinary Parasitology*, 168(3-4), 212-216.
- Liu, D., Pedersen, L. F., Straus, D. L., Kloas, W., & Meinelt, T. (2017). Alternative prophylaxis/disinfection in aquaculture-adaptable stress induced by peracetic acid at low concentration and its application strategy in RAS. *Aquaculture*, 474, 82-85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.027>.
- Maki, J. L., & Dickerson, H. W. (2003). Systemic and cutaneous mucus antibody responses of channel catfish immunized against the protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 10(5), 876-881.
- Marchand, P. A., Phan, T. M., Straus, D. L., Farmer, B. D., Stüber, A., & Meinelt, T. (2012). Reduction of in vitro growth in *Flavobacterium columnare* and *Saprolegnia parasitica* by products containing peracetic acid. *Aquaculture Research*, 43(12), 1861-1866.
- Matthews, R. A. (2005). *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and *ichthyophthiriosis* in freshwater teleosts. *Advances in parasitology*, 59, 159-241.
- Meinelt, T., Richert, I., Stüber, A., & Bräunig, I. (2007). Application of peracetic acid to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in Sander (*Sander lucioperca*) breeding. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 114, 244-251. <https://doi.org/10.2377/0341-6593-114-244>.
- Meinelt, T. H. O. M. A. S., Matzke, S., Stüber, A., Pietrock, M., Wienke, A., Mitchell, A. J., & Straus, D. L. (2009). Toxicity of peracetic acid (PAA) to tomites of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 86(1), 51-56. <https://doi.org/10.3354/dao02105>.
- Mokhir, B. (1980). Survey of fish parasites of Sefidroud basin. *College of Veterinary Medicine Letters*, 36(4), 61-74. (In Persian).
- Nekuieifard, Ali, Sephadari, Abolfazl, Dadgar, Shahram, Abdi, Kazem, Rahmana, Shahram (2018). Studying the comparative effect of *Aquastart* on green eggs and larvae of rainbow trout reared with malachite green and formalin. *Fisheries Science Research Institute of the country, FIPAK*, Frost number 56815, 64 pages. (In Persian).
- Ogut, H., Akyol, A., & Alkan, M. Z. (2005). Seasonality of *Ichthyophthirius multifiliis* in the trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms of the eastern black sea region of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5(1), 23-27.
- Pedersen, L. F., Meinelt, T., & Straus, D. L. (2013). Peracetic acid degradation in freshwater aquaculture systems and possible practical implications. *Aquacultural Engineering*, 53, 65-71.
- Pedersen, L. F., Pedersen, P. B., Nielsen, J. L., & Nielsen, P. H. (2009). Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 296(3-4), 246-254. <https://doi.org/10.1023/A:1009277012959>.
- Picon-Camacho, S. M., Marcos-Lopez, M., Bron, J. E., & Shinn, A. P. (2012). An assessment of the use of drug and non-drug interventions in the treatment of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876, a protozoan parasite of freshwater fish. *Parasitology*, 139(2), 149-190. <https://doi.org/10.1017/S0031182011001867>.
- Raissy, M., & Ansari, M. (2012). Parasites of some freshwater fish from Armand river, chaharmahal va Bakhtyari province, Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 7(1), 73.

- Rintamäki-Kinnunen, P., & Valtonen, E. T. (1997). Epizootiology of protozoans in farmed salmonids at northern latitudes. *International Journal for Parasitology*, 27(1), 89-99. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)00162-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)00162-2).
- Rintamäki-Kinnunen, P., Rahkonen, M., Mannermaa-Keränen, A. L., Suomalainen, L. R., Mykrä, H., & Valtonen, E. T. (2005a). Treatment of *ichthyophthiriasis* after malachite green. I. Concrete tanks at salmonid farms. *Diseases of Aquatic Organisms*, 64(1), 69-76. <https://doi.org/10.3354/dao066015>.
- Rintamäki-Kinnunen, P., Rahkonen, M., Mykrä, H., & Valtonen, E. T. (2005b). Treatment of *ichthyophthiriasis* after malachite green. II. Earth ponds at salmonid farms. *Diseases of Aquatic Organisms*, 66(1), 15-20.
- Roque, A., Yildiz, H. Y., Carazo, I., & Duncan, N. (2010). Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) exposure. *Aquaculture*, 304(1-4), 104-107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.024>.
- Straus, D. L., & Meinelt, T. (2009). Acute toxicity of peracetic acid (PAA) formulations to *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *Parasitology Research*, 104(5), 1237-1241. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1361-9>.
- Sudová, E., Straus, D. L., Wienke, A., & Meinelt, T. (2010). Evaluation of continuous 4-day exposure to peracetic acid as a treatment for *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitology Research*, 106(2), 539-542. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1666-8>.
- Traxler, G. S., Richard, J., & McDonald, T. E. (1998). *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich) epizootics in spawning sockeye salmon in British Columbia, Canada. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(2), 143-151. <https://doi.org/10.1577/1548-8667>.
- Tucker, C. C., & Robinson, E. H. (1990). *Channel catfish farming handbook*. Springer Science & Business Media.
- Weitkamp, H., Meinelt, T., Bräunig, I., Staaks, J., Jander, G. (2007). Einsatz von Peressigsäure bei Fisch-Ektoparasitosen. In: Wahli, T., Segner, H., Schmidt-Posthaus, H., Bernet, D. (eds) Tagungsband XI. Gemeinschaftstagung der Deutschen, der Österreichischen und der Schweizer Sektion der European Association of Fish Pathologists (EAFP). EAFP, Murten, pp. 1-21.
- Xu, D. H., Klesius, P. H., & Shoemaker, C. A. (2009). Effect of immunization of channel catfish with inactivated trophonts on serum and cutaneous antibody titers and survival against *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(4), 614-618.
- Zhang, Q., Xu, D. H., & Klesius, P. H. (2013). Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Parasitology*, 198(1-2), 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.019>.