

فعالية Propolis على الحيوان الابتدائي الهدبي *Ichthyophthirius multifiliis* المتطفل على أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio*

عبد الرزاق لعبيبي الربيعي
قسم تقنيات الانتاج الحيواني، الكلية التقنية المسيب

الخلاصة

الحيوان الابتدائي الهدبي *Ichthyophthirius multifiliis* من الطفيليات الخارجية التي تصيب أسماك المياه العذبة و تسبب مرض البقع البيضاء على أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* . وخلال الفترة من شهر تشرين الاول و تشرين الثاني/ 2007، صممت سلسلة من التجارب باستعمال المستخلص الكحولي لمادة Popolis و تأثيرها على الطفيلي على جسم الأسماك *In vivo* بتركيز (100 ، 200 ، 300 ، 400 ، 500 ، 600 و 700) ملغم/لتر و تأثير المستخلص الكحولي الطفيلي في الزجاج *In vitro* بتركيز (100 ، 200 ، 300 ، 400 ، 500 و 600) ملغم/لتر، كذلك تأثير المستخلص على سلوك و بقاء الأسماك. أوضحت النتائج إن مجموعة السيطرة التي أظهرت معدل إصابة بطفيلي *I. multifiliis* 53.9 على غلاصم و جلد الأسماك و إن التركيز (400 ، 500 ، 600 و 700) ملغم/لتر أظهرت فروقا معنوية و التركيز 700 ملغم/لتر كان كافيا بقتل جميع الطفيليات على جسم الأسماك أما في الزجاج فان التركيز (300 ، 400 ، 500 و 600) ملغم/لتر تفوقت معنويا عند المقارنة مع مجموعة السيطرة و إن التركيز 600 ملغم/لتر قتل جميع الطفيليات في الزجاج. من جانب آخر كانت التركيز (500 ، 750 و 1000) ملغم/لتر غير مؤثرة في سلوك و بقاء الأسماك.

Efficiency of propolis on ciliate protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis* of *Cyprinus carpio*

A. L. AL-Rubaie
Department of Animal Biotechnology,
AL-Mussayab Technical College

Abstract

The ciliate protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* is one of the most virulent ectoparasites of freshwater fishes, causes white spot diseases on common carp *Cyprinus carpio*. During the period from October and November /2007, number trials were conducted to find out *In vivo* influence of the (100 , 200 , 300, 400 , 500 , 600 and 700) mg/L propolis alcoholic extract and trials *In vitro* effect of the same material in different concentration (100 , 200 , 300 , 400 , 500 , 600) mg/L and its effect on behavior and survival percentage of fishes. Results showed that control group which resulted 53.9% infection of skin and gills. On the other hand concentration (400 , 500 , 600 and 700) mg/L showed a significant differences. The mass of the parasites were eliminated completely under 700 mg/L concentration. The concentration (300 , 400 , and 600) mg/L *In vitro* resulted a significant superiority as compared with the control treatment. In this case 600 mg/L was quite enough to eliminate parasite completely, whereas (500 , 750 and 1000) mg/L had no effect on the fishes behavior.

المقدمة

الطفيلي الهدبي *Ichthyophthirius multifiliis* من أكثر الطفيليات الخارجية الممرضة لاسماك المياه العذبة و يعد من الطفيليات الواسعة الانتشار عالمياً Worldwide في مزارع الأسماك (Woo, 2007) يتغذى على سوائل الانسجة و كريات الدم الحمر مسبباً تتخر Causes necrosis أنسجة الجلد و إحداثاً اضراراً بنسجة الغلاصم Gills مسبباً موتها و

يسمى المرض الذي يسببه هذا الطفيلي Ichthophthiriasis (Ich) أو مرض البقعة البيضاء (Lahnsteiner and Weismann, 2007) White sport diseases.

الإصابات الشديدة تؤدي إلى موت أسماك المزارع بعد 8-12 ساعة (Ekanem et al., 2004).

دورة حياة طفيلي *I. multifiliis* مباشرة تتراوح من 3-6 أيام عند درجة حرارة 25م و عشرة أيام بدرجة حرارة 15م وأكثر من شهر عند درجة حرارة 10م (Noga, 1996) بينما أشار خليفة (1986) يصل الطفيلي إلى حجمه الكامل خلال فترة تتراوح بين (1-3) أسابيع اعتماداً على درجات الحرارة و بين (1989) Roberts ان الطفيلي بعد إختراقه الجلد يسقط في الماء و يتكيس و يتكاثر لاجنسياً مكون بحدود (2000) طفيلي هديبي يدعى Tomites بعدها ينفلق الكيس و تتحرر هديبات يافعة تدعى Theron.

سجل *I. multifiliis* لأول مرة في العراق من جلد و غلاصم سمكة البياح *Mugil dussumieri* من قبل الباحث الالمانى (Herzog (1969) في شط العرب، ثم سجل لاحقاً من 23 مضيافاً من مناطق مختلفة من جنوب و شمال العراق (Mhaisen, 2007) و سجل أيضاً في أسماك السلال و البنيني صغير الفم و الصقنقور الاعتيادي و البلطي (السعدي، 2007). يعد هذا الطفيلي أكثر أنواع الطفيليات أنتشاراً في مزارع الأسماك في العراق (محمد، 2000).

إستعملت المواد الكيماوية لمعالجة الاسماك المصابة بـ *I. multifiliis* فوجد Selosse and Rowlad (1990) ان ملح الطعام NaCl يؤثر في الطفيلي عند تركيز 5غم/لتر خلال أسبوع و بدرجة حرارة تتراوح بين 19-26 م فيما أشار Shinn et al. (2003) إستعمال مادة Amprolium hydrochloride بتركيز 65 ppm و بتركيز مختلفة من الفورمالين Formalin و برمنجنات البوتاسيوم Potassium permanganat و بروكسيد الهيدروجين فيما إستعمل (Lahnsteiner and Weismann (2007) مجموعة من المواد الكيماوية لعلاج مرض البقعة البيضاء فاستعمل الفورمالين و كلوريد الصوديوم و بروكسيد الهيدروجين و بايكوس Baycox و ايفومك Ivomec بتركيز مختلفة و استعمل (Meinelt et al. (2007) مادة Malachite green و وجد (Colorni et al. (2008) ان مادة Piscidin 2 ذات فعالية على مرض البقعة البيضاء و أشار (Mifsud and Rowland (2008) ان ملح كلوريد الصوديوم ذو تأثير على الطفيلي *I. multifiliis*. في العراق استعملت عدد من المركبات الكيماوية للتخلص من بعض طفيليات الأسماك باستعمال مبيدات حشرية Insecticides للسيطرة على إنتشار الطفيليات و كذلك إستعملت بعض المركبات مثل الفورمالين و ملح الطعام و كبريتات النحاس و حامض الخـليك (Al-Aubaidi et al., 2000) و الكيموكوز Chemogoz (التميمي، 2001).

مادة Propolis من المواد الطبيعية و هي عبارة عن مادة صمغية لزجة تجمعها عاملات النحل Worker bees من قلف الأشجار و الأوراق و براعم بعض الأشجار كالنخيل و الصنوبريات و اليوكالبتوس و غيرها من النباتات العطرية و غير العطرية (Duran et al. (2008).

تقوم شغلات النحل بنزع مادة Propolis بفوكها العلوية و تفرز عليها من غددها الفكية مواد تساعد بمزج هذه المراد مع أنواع مختلفة من الانزيمات الفعالة و التي تفرز من الغدد الموجودة في رأس و صدر النحلة (Kaal, 1991). يستعمل Propolis من قبل النحل بسد الثقوب و تقوية و تثبيت الاطارات في الخلية و يستعمل كمادة طاردة للحشرات و تحنيط الحشرات الميتة التي لا تستطيع إخراجها من الخلية لمنع تفسخها و تحليلها داخل الخلية و تقوم الشغلات بتضيق مدخل الخلية بمادة Propolis لغرض تعقيم نفسها عند الخروج و الدخول الى الخلية (Kaal, 1991). تحافظ مادة Propolis على البيض و يرقات النحل ضد أنواع الفيروسات و البكتريا و الفطريات و بهذه المادة فعاليات حيوية Biological activities ضد البكتريا Anti-bacterial و ضد الفيروسات Anti-viral و ضد الفطريات Anti-fungal و ضد الحيوانات الابتدائية Anti-protozoan و ضد السرطان (Marcucci et al., 2001) فقد اوضح Yu and Shi (2006) ان مادة Propolis ذات تأثير فعال على المشعرات المهبلية *Trichomonas vaginalis* و أشار Freitas et al. (2006) ان الطور الخضري لطفيلي *Giardia duodenalis* يتأثر بهذه المادة و بين (Machado et al. (2007) ان مادة Propolis تأثيراً فعالاً على أنواع جنس الشمانيا *Leishmania spp.* فيما أشار (Aires et al. (2007) الى فعالية Propolis على طفيلي الشمانيا *L. amazonensis* و بين (Duran et al. (2008) بوجود مؤشرات معنوية فعالة باستعمال Propolis في التأثير على الشمانيا الجلدية *L. tropic* في الزجاج.

إن إستعمال المركبات الكيماوية المختلفة في تقليل من إنتشار و شدة الاصابات الطفيلية بالأسماك المعالجة قد يحدث اختلالاً بالنظم البيئية تؤثر بالموازنة الطبيعية فقد تسبب تلك المركبات في زيادة عدد الطفيليات و ظهور سلالات مقاومة لتلك المركبات و نظراً لعدم وجود دراسة سابقة لمعالجة أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* من طفيلي *I. multifiliis*

باستعمال مستخلصات مادة Propolis لذا كان الهدف من هذا البحث معرفة تأثير المستخلص الكحولي على الطفيلي في الزجاج و على جسم الأسماك و على سلوكها و بقاءها.

المواد و طرائق العمل

جمعت كميات مناسبة من Propolis من مناحل شمال مدينة الحلة خلال شهر تشرين الاول 2007. أخذ 60 غم من مادة Propolis و قطع الى قطع صغيرة Small pices ووضع في دورق حجمي و إضيف اليه 200 مل كحول ايثانول Ethanol تركيز 70% و ترك لفترة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، رشح المحلول الناتج بعد أن رج باستعمال جهاز Magnetic stirrer لفترة 15 دقيقة ثم رشح خلال ورقة ترشيح (Whatman NO:3) جفف الراشح بواسطة جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة حرارة 40م و بعدها وزن المستخلص و وضع في ثلاجة بدرجة 4م لحين الاستعمال (Ayres et al., 2007).

أسماك التجربة

جمعت أسماك الكارب الاعتيادي *C. carpio* من مزرعة خاصة شمال محافظة بابل، تتراوح أطوالها بين 5-6 سم، نقلت الأسماك الى المختبر باستعمال حاوية مملوءة بماء المزرعة، و وضعت الاسماك في أحواض زجاجية أبعادها 30 X 75 X 30 سم مزودة بماء عذب و تهوية اصطناعية وزودت بعليقة تجارية. تركت لفترة اسبوع واحد، يتم التأكد يوميا من كمية الاوكسجين المذاب و درجة حرارة الماء (25±3) م و قياس الاس الهيدروجيني pH و التي كانت ضمن المعدلات الطبيعية. أخذت عينات من الأسماك فوجد جميعها مصابة بطفيلي *I. multifiliis* على الجلد و الغلاصم.

تأثير مستخلص Propolis على بقاء طفيلي *I. multifiliis* على جسم أسماك الكارب *In vivo* المصابة

حضرت تسع أحواض زجاجية ذات ابعاد 15 X 30 X 40 سم و وضعت في كل حوض عشرة أسماك و عوملت بما يأتي:-

المجموعة الاولى : عدت مجموعة سيطرة اذ لم يعط لها اي تراكيز من مستخلص Propolis المجموعة الثانية : عوملت بملح الطعام NaCl 2 غم/لتر. أما المجاميع السبعة الباقية فعوملت بالمستخلصات المذكورة و بالتراكيز التالية و ابتداء من الاولى : (100، 200، 300، 400، 500، 600، 700 ملغم/لتر)

بعد 72 ساعة من المعاملة قتلت جميع الأسماك ثم أخذت مسحات متعددة من الجلد و الغلاصم باستعمال القاشطة Spatule و باستعمال إبرة لأخذ مسحة، ثم إضيف اليها قطرة واحدة من المحلول الفسلجي على شريحة زجاجية (الدراجي، 1986) و بعدها فحصت الشرايح بالمجهر المركب تحت قوة تكبير 80 x 10 لتحري على وجود الطحور الخصري لطفيلي *I. multifiliis*.

تأثير مستخلص Propolis على بقاء طفيليات *I. multifiliis* في الزجاج *In vitro*

جمعت طفيليات *I. multifiliis* من أحواض الخزن و التي تركت لفترة أسبوع، عزلت الطفيليات حسب طريقة Ekanem et al. (2004) من جلد الأسماك بواسطة فرشاة صغيرة Small brash و جمعت في طبق بئري Petri dish حاوياً على محلول فسلجي و تم حساب عدد الطفيليات في قطرة واحدة واعيدت هذه العملية خمس مرات و للحصول على معدل ثمان طفيليات. حضرت زجاجة ساعة [عدد 40 (5 لكل تركيز)] و وضعت في كل زجاجة وزن معين من مستخلص Propolis و وضعت في كل واحدة معدل ثمان طفيليات بما يأتي:

المجموعة الاولى : عدت مجموعة سيطرة اذ لم يعط لها اي تراكيز من مستخلص Propolis. المجموعة الثانية : عوملت بملح الطعام NaCl 2 غم/لتر. أما المجاميع السبعة الباقية فعوملت بالمستخلصات المذكورة و بالتراكيز التالية و ابتداء من الاولى : (100، 200، 300، 400، 500، 600 ملغم/لتر)

تأثير مستخلص Propolis على اسماك الكارب الاعتيادي *C. carpio*

حضرت خمس أحواض زجاجية ذات ابعاد 15 X 30 X 40 سم و وضعت في كل حوض خمس أسماك تراوحت أطوالها 5-6 سم و عوملت بتراكيز Propolis لغرض معرفة تأثير التركيز على سلوك و فعالية و بقاء الاسماك بما يأتي :- المجموعة الاولى : عدت مجموعة سيطرة اذ لم يعط لها اي تراكيز من مستخلص Propolis. المجموعة الثانية : عوملت بملح الطعام NaCl 2 غم/لتر. أما المجاميع الثالثة و الرابعة و الخامسة الباقية فقد عوملت بالتراكيز: (500، 750 ملغم/لتر، 1 غم / لتر على التوالي بالمستخلص نفسه)

التحليل الاحصائي

إستعمل التصميم العشوائي (CRD) في دراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة، و قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار Duncan متعدد الحدود، و إستعمل البرنامج SAS (2001) في التحليل الاحصائي.

النتائج و المناقشة

بينت نتائج الدراسة في الجدول (1) تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص على بقاء الطفيلي على غلاصم و جلد الأسماك *I n vivo* المصابة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي اظهرت معدل إصابة 53.9 و لم تظهر التراكيز (100، 200 و 300) ملغم/لتر اي فروقات معنوية مع مجموعة السيطرة فيما كانت التركيز (400 ، 500 ، 600 و 700) ملغم/لتر فروقات معنوية تحت احتمالية 0.01 و إن التركيز 700 ملغم/لتر كان كافياً في قتل جميع الطفيليات على غلاصم و جلد الاسماك المصابة و من الجدول (1) إن مادة كلوريد الصوديوم (2 غم/لتر) كان تأثيرها معنوية باحتمالية 0.01 و من جدول (2) تأثير المستخلص على بقاء طفيلي المذكور في الزجاج *In vitro*، عند المقارنة مع المجموعة السيطرة لم تكون هناك فروقات معنوية عند التركيز (100 و 200) ملغم/لتر بينما التراكيز (300 ، 400 ، 500 و 600) تفوقت معنوياً تحت احتمالية 0.01 مقارنة مع مجموعة السيطرة و إن التراكيز 600 ملغم /لتر كان ذات فعالية قاتلة لجميع الطفيليات في الزجاج. اما تأثير التراكيز (500 و 750) ملغم/لتر و 1 غم/لتر كانت غير مؤثرة في الأسماك و لم يشاهد عليها زيادة في نشاطها او حركاتها التنفسية و كانت تسبح بشكل طبيعي.

الجدول (1) تأثير معاملات Propolis على *I. multifiliis* في أسماك الكارب الاعتيادي

المعاملة	عدد المشاهدات	المتوسط \pm الانحراف القياسي
مجموعة السيطرة	10	A * 11.82 \pm 53.90
ملح الطعام 2غم/لتر	5	AB 4.93 \pm 47.2
تركيز 100 ملغم/لتر	10	AB 1.18 \pm 51.30
تركيز 200 ملغم/لتر	10	AB 6.51 \pm 48.40
تركيز 300 ملغم/لتر	10	AB 5.50 \pm 47.60
تركيز 400 ملغم/لتر	10	BC 4.71 \pm 46.30
تركيز 500 ملغم/لتر	10	C 4.81 \pm 40.40
تركيز 600 ملغم/لتر	10	D 3.58 \pm 22.80
تركيز 700 ملغم/لتر	10	E 0.0 \pm 0.0
مستوى المعنوية	----	(P < 0.01)

* الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية

الجدول (1) تأثير معاملات Propolis على *I. multifiliis* في الزجاج

المعاملة	عدد المشاهدات	المتوسط \pm الانحراف القياسي
مجموعة السيطرة	5	A * 0.00 \pm 8.00
ملح الطعام 2غم/لتر	5	B 0.44 \pm 6.2
تركيز 100 ملغم/لتر	5	A 0.89 \pm 7.40
تركيز 200 ملغم/لتر	5	A 0.44 \pm 7.2
تركيز 300 ملغم/لتر	5	B 0.24 \pm 6.4
تركيز 400 ملغم/لتر	5	B 0.83 \pm 5.8
تركيز 500 ملغم/لتر	5	C 0.89 \pm 3.8
تركيز 600 ملغم/لتر	5	D 0.00 \pm 0.00
مستوى المعنوية	----	(P < 0.01)

* الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية

من هذه النتائج يتضح ان مادة Propolis ربما نتيجة تماسها المباشر مع الجلد و غلاصم الاسماك إذ تدخل هذه المادة الى الطبقة الطلائية مؤثرة بذلك على الطفيليات الخارجية على الأسماك او في الزجاج و ان هذه التأثيرات الحياتية Biological

activities ناتجة عن مواد مختلفة فقد أشار Santana *et al.* (1995) إن مادة Propolis أثرت بشكل معنوي على طفيليات المشعرات المهبلية البشرية *T. vaginalis* فيما بين Freitas *et al.* (2006) تأثير Propolis على *Giardia duodenalis* من خلال تأثيره على الأطوار الخضرية Trophozoites و حدوث تغيرات على شكل الطفيلي و فقدانه للاسواط و وجد Xu and Shi (2006) تأثير طفيلي المشعرات المهبلية *T. vaginalis* بشكل معنوي باستعمال تراكيز مختلفة من Propolis و في دراسة إجريت في مصر أوضح Abdel-Fattah and Nada (2008) تأثير طفيلي *G. lamblia* بفعل Propolis مع زيــــــــــــادة في معدلات الخلايا المفاوية Lymphocyte ratio ناتجة عن تنشيط الرد الفعل المناعي نتيجة إستعمال Propolis و وجد Topalkara *et al.* (2007) ان الحيوان الابتدائي *Acanthamoeba castellanii* أثر به المستخلص الكحولي للماده Propolis على الطور الخضري و طور الكيس و بين Machado *et al.* (2007) إن مادة Propolis أظهرت فعالية عالية على طفيليات جنس اللشمانيا *Leishmania* في البرازيل و شملت الدراسة أنواع *L. amazonesis*, *L. braziliensis*, *L. chagas*, *L. major* وان الفعالية الحياتية Bioactive الى Propolis لاحتواءه على مركبات Phenolic acids و Trepenoids و Flavonoids و Aromatic acids و Ester و Fatty acid و بين (Duran *et al.* 2006) ان بعض محتويات Propolis مثل Fatty acid الموجودة في Propolis تعمل على تثبيط انزيمات Phospholipase و Lipoxygenase المسؤولة عن الانزيمات المحللة Lysosomal enzymes بينما وجد Ayres *et al.* (2007) ان طفيلي *L. amazonesis* بطور امامي السوط Promastigotes يزداد حجمه قبل تهشمه Damage نتيجة تآثره بمستخلص Propolis و من جانب اخر لا تتأثر خلايا البلعمة الكبيرة Macrophages بمادة Propolis فيما أشار Sforzin (2007) ان مادة Propolis من الممكن ان تؤثر على جزئية الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA أو على العمليات التنفسية في بيــــــــــــوت الطاقة Mitochondrial respiration او على فعالية نقل الالكترونات للاغشية الخلية للفطريات و البكتريا و الحيوانات الابتدائية. و بين (Duran *et al.* 2008) تأثير طفيلي اللشمانيا المدارية (الجلدية) *L. tropica* المعاملة بمستخلص Propolis في الزجاج بشكل معنوي و وجد Freitas *et al.* (2006) فعالية Propolis على الطور الخضري لطفيلي *G. duodenalis* في الزجاج ناتج عن وجود مواد فعالة مثل Flavonoids و Aromatic acids اثرت على تثبيط Inhibited نمو الطور الخضري.

ومن خلال نتائج البحوث اعلاه جاءت نتائج هذه الدراسة لتتفق معها حتى تبين ان مادة Propolis ذات تأثير على بعض الحيوانات الابتدائية المعوية و الدميه و تعد هذا الدراسة الاولى في استعمال Propolis ضد طفيليات الاسماك الخارجية و التي بينت النتائج تأثيرها المعنوي على الطفيلي المتسبب بمرض البقعة البيضاء.

المصادر:

التميمي، سعد ستار جبوري (2001). كفاءة الفورمالين و مبيد الكيموز الحشيري و بعض المستخلصات النباتية في معالجة أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* المصابة بالمخزرات أحادية المنشأ. أطروحة دكتوراه، كلية التربية (ابن الهيثم)، جامعة بغداد.

خليفة، خليفة أحمد (1986). أمراض الأسماك. مديرية دار الكتب للطباعة و النشر، جامعة الموصل.

الدراجي، سالم عبد مطلق (1986). مسح لطفيليات خمسة أنواع من الأسماك المتواجدة في هور الحمّار. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة.

السعدي، بشار عبدالحسين عليوي (2007). المجموعة الحيوانية المتطفلة على أسماك نهر الفرات: دراسة مسحية في مدينة المسيب. رسالة ماجستير، الكلية التقنية- المسيب، هيئة التعليم التقني.

محمد، صلاح كمال (2000). مسح ميداني للطفيليات الخارجية و العين لأسماك الكارب المستزرعة في منطقة الإسكندرية (بابل). رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

Abdel-Fattah, N. S. and Nada, O. H. (2007). Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. J. Egypt Soc. Parasitol. 37 (2): 691-710.

Al-Aubaidi, I.; Mhaisen, F. and Balasem, A. (2000). Treatment of common carp (*Cyprinus carpio*) infected with monogenetic trematodes by dipping with chemicals. J. Diala, 1(No. 8 Parts): 74-86.

- Ayres, D. C.; Marcucci, M. C. and Giorgio, S. (2007).** Effects of Brazilian propolis *Leishmania amazonensis*. Men. Inst. Oswaldo Cruz. 102(2): 215-228.
- Colorni, A.; Ullal, A.; Heinisch, G. and Noga, E. (2008).** Activity of the antimicrobial polypeptide piscidin 2 against fish ectoparasites. J. Fish Diseases 31: 423-432.
- Duran, G.; Duran, N. and Culha, G. (2008).** *In vitro* antileishmanial activity of Adana propolis samples on *Leishmania tropic*: a preliminary study. Parasitol. Res. 102: 1217-1225.
- Ekanem, A. P.; Obiekezie, A.; Kloas, W. and Knopf, K. (2004).** Effect of crude extracts of *Mucuna pruries* (Fabaceae) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. Parasitol. Res. 92: 361-366.
- Freitas, S. F.; Shinohara, L.; Sforcin, M. and Guimara, S. (2006).** *In vitro* effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. Phytomedicine 13 (3): 170-175.
- Herzog, P. H. (1969).** Untersuchungen über die parasiten der süßwasserfische des Iraq. Arch. Fischereiwiss., 20 (2/3): 132-147.
- Kaal, J. (1991).** Natural medicine from honey bees. (Apitherapy) Amsterdam.
- Lahnsteiner, F. and Weismann, T. (2007).** Treatment of ichthyophthiriasis in rainbow trout and common carp with common and alternative therapeutics. J. Aquat. Anim. Health. 19 (3): 186-194.
- Machado, G. M.; Leon, L. L. and De Castro, S. L. (2007).** Activity of Brazilian propolis against different species *Leishmania*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 102 (1): 73-77.
- Marcucci, M.; Ferreres, F.; Garcia-Vigueira, C.; Bankova, V.; De Castro, S.; Dantas, A.; Valente, P. and Paulino, N. (2001).** Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J. Ethnopharmacol. 74: 105-112.
- Meinelt, T.; Richert, I.; Stuber, A. and Braunig, I. (2008).** Application of peracetic acid for the treatment of juvenile sander (*Sander lucioperca*) during *Ichthyophthirius multifiliis* infestation. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 114 (7): 244-251.
- Meinelt, T.; Richert, I.; Stüber, A. and Bräunig, I. (2007).** Application of per acetic acid for the treatment of juvenile sander (*Sander lucioperca*) during *Ichthyophthirius multifiliis* infestation. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 114 (7): 244-251.
- Mhaisen, F. T. (2007).** Index-catalogue of parasites and disease agents of fishes of Iraq. (Unpublished).
- Mifsud, C. and Rowland, S. (2008).** Use of salt to control ichthyophthiriosis and prevent saprolegniosis in silver perch, *Bidyanus bidyanus*. Aquaculture Res.: 1-6.
- Noga, E. J. (1996).** Fish disease: diagnosis and treatment. Mosby-Year Book, St. Louis.
- Roberts, R. J. (1989).** Fish pathology. 2nd edn. Bailliere Tindail, London.
- Santana, P.; Lugones, B.; Peres, S. and Castillo, B. (1995).** Vaginal parasites and acute cervicitis: local treatment with propolis. Preliminary report. Rev. Cubana Enferm. 11 (1): 51-56.
- SAS (2001).** SAS/STAT, User's guide for personal computer release 6.12 SAS Institute. Inc. Cary, NC.
- Selosse, P. M. and Rowland, S. J. (1990).** Use of common salt to treat Ichthyophthiriasis in Australian warmwater fishes. The progressive fish-culturist 52: 124-127.
- Sforcin, J. M. (2007).** Propolis and the immune system: a review. J. Ethnopharmacol. 113: 1-14.

- Shinn, A.; Wootten, R.; Côté, I. and Sommerville, C. (2003).** Efficacy of selected chemotherapeutics against *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora: Ophryoglenidae) infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Dis. Aquat. Organ. 55 (1): 17-22.
- Topalkara, A.; Vural, A.; Polat, Z.; Toker, M.; Arici, M.; Ozan, F. and Cetin, A. (2007).** *In vitro* amoebicidal activity of propolis on *Acanthamoeba castellanii*. J. Ocul. Pharmacol. Ther. 23 (1): 40-45.
- Woo, P. T. (2007).** Protective immunity in fish against protozoan diseases. Parasitologia 49: 85-91.
- Xu, B. H. and Shi, M. Z. (2006).** An *in vitro* test of propolis against *Trichomonas vaginalis*. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. 24 (6): 477-478.