

مطالعه اثر درمانی فرمالین بر میزان تفریح تخم ماهی کپور معمولی

در شرایط کارگاهی ایران (مرکز شهید رجایی ساری)

دکتر مهدی سلطانی^۱ دکتر محمدرضا کلباسی^۲ دکتر رجب محمدنظر^۳ حسین مصطفوی^۳

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، ۷۱-۶۹، (۱۳۸۰)

معمولی شده که در مقایسه با گروه کنترل قابل توجه می باشد. سایر مطالعات انجام شده در این زمینه، استفاده از فرمالین را به عنوان یک عامل ضد قارچ مؤثری مورد حمایت قرار داده است اما هیچ یک از مطالعات فوق به شرایط کیفی زمان آزمایشها و مطالعات خود اشاره ای ننموده است (۱۴، ۱۱، ۹، ۸، ۷، ۵، ۳، ۱).

لذا با توجه به اهمیت اطلاع از شرایط کیفی آب زمان مطالعات و از آنجایی که فون قارچی آبهای مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت بوده، توصیه غلظتهای مناسبی از یک عامل ضد قارچ مستلزم انجام آزمایشهای منطقه ای / کارگاهی است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات درمانی فرمالین در میزان تفریح تخم کپور معمولی در شرایط کارگاهی استان مازندران می باشد. بهر حال عوامل دیگری مانند جلوگیری از دستکاریهای غیر ضروری، عدم استفاده از فشار بالا، آبهای با کیفیت نامناسب و تجرد؛ کارشناسان مربوط به انکوباسیون تخمها همگی در کاهش قارچ زدگی تخمها و افزایش درصد تفریح لارو نقش دارند.

مواد و روش کار

۱. مواد مصرفی: مواد مصرفی در این مطالعه شامل تخم ماهی کپور معمولی به دست آمده از مولدین سازمان پرورش ماهی نصر، محلول کاربامید برای حذف چسبندگی تخمها، فرمالین ۳۷ درصد (Merck)، الکل متانول (Merck)، EDTA برای تعیین سختی آب به روش تیتراسیون با EDTA (۶).

۲. مواد غیر مصرفی: مواد غیر مصرفی و تجهیزات مورد نیاز شامل تمامی وسایل و تجهیزات موجود در مرکز تکثیر ماهی شهید رجایی ساری بود که از جمله می توان به انکوباتورهای ویس برای انکوباسیون تخمها، انکوبارهای زوک برای نگهداری لاروهای حاصله، پمپهای هواده، pH متر، اکسیژن متر و حرارت سنج اشاره نمود.

۳. روش کار: الف) شمارش تخمهای لقاح یافته و عملیات ضد عفونی: پس از انجام عمل تخمگیری و لقاح به روش متداول کارگاه تکثیر سازمان پرورش نصر و انتقال تخمهای لقاح یافته به مرکز تکثیر شهید رجایی ساری (انتقال تخمها ۲۴ ساعت پس از عمل لقاح صورت گرفت) نسبت به شمارش و تعیین درصد لقاح در یک میلی متر (تعداد تخمهای لقاح یافته در یک میلیمتر تقسیم بر تعداد کل تخم (لقاح یافته و لقاح نیافته) در یک میلی لیتر ضربدر عدد صد) از تخمها به روش توصیه شده توسط Piper و همکاران (۱۹۸۲) اقدام، سپس به ازای هر ویس میزان ۲۰ ml از تخمهای لقاح یافته منتقل گردید. تعداد ۱۸ ویس در شش گروه آزمایش و یک گروه شاهد در نظر گرفته به طوری که هر گروه آزمایش شامل سه تکرار و یک گروه شاهد در سه تکرار در نظر گرفته شد. قبل از انتقال تخمها به ویس ها برای سهولت در امر هوادهی و ضد عفونی داخل تخمها، ابتدا جریان آب ورودی به ویس ها قطع و عملیات درمانی با استفاده از غلظتهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرو لیتر به ازای هر لیتر فرمالین خالص حاوی الکل متانول (۱۰ درصد) (برای جلوگیری از تشکیل پارافرمالددید)

اثرات درمانی ضد قارچ فرمالین با غلظتهای ۲۵۰ ppm، ۵۰۰ ppm، ۱۰۰۰ ppm، ۱۵۰۰ ppm و ۲۰۰۰ ppm بر روی میزان تفریح تخم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و در شرایط کارگاهی شامل اکسیژن محلول ۷/۳±۰/۸ mg/lit، درجه حرارت ۱۹/۸±۱/۹ درجه سانتیگراد، pH برابر ۸/۱±۰/۱، درجه سختی ۲۸۶ mg/lit و میزان دبی آب برابر ۱/۸±۱/۰۶ lit/min مطالعه شده است. عملیات درمانی به مدت ۳۰ دقیقه و در فاصله زمانی ۴۰ ساعت پس از شروع انکوباسیون تخمها انجام گردید. نتایج حاصله نشان داد که اولاً درصد تفریح لارو در تمامی گروههای درمان نسبت به گروه شاهد از اختلاف معنی داری برخوردار بوده است ($P < 0.05$). ثانیاً اختلاف معنی داری بین درصد تفریح لارو در گروههای درمانی ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm و نیز بین گروههای ۱۰۰۰ ppm و ۱۵۰۰ ppm مشاهده نگردید ($P > 0.05$). در حالی که درصد تفریح لارو در سایر گروههای درمانی نسبت به همدیگر از اختلاف معنی داری برخوردار بود ($P < 0.05$). با توجه به بیشترین درصد تفریح لارو (۹۳/۷ درصد) در گروه درمانی با ۲۰۰۰ ppm و کمترین آن (۵۹/۷۳ درصد) در گروههای درمانی ۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm توصیه می شود که به منظور جلوگیری از قارچ زدگی تخم کپور معمولی، در فاصله زمانی ۴۰ ساعت پس از شروع انکوباسیون تخمها نسبت به ضد عفونی آنها با غلظت ۲۰۰۰ ppm فرمالین به مدت ۳۰ دقیقه در این منطقه جغرافیایی اقدام شود. واژه های کلیدی: فرمالین، قارچ زدگی، تخم ماهی، کپور معمولی.

یکی از مشکلات متداول مراکز تکثیر ماهی در بسیاری از مناطق دنیا قارچ زدگی تخمها در دوران انکوباسیون است به طوری که خسارات اقتصادی قابل توجهی را به این گونه مراکز تحمیل می نماید. از جمله عوامل عمده و اصلی قارچ زدگی تخمها می توان به کپکهای آبی از خانواده ساپروولگنیاسه اشاره نمود که عواملی مانند کیفیت نامناسب آب، بار مواد آلی موجود در آب، دستکاریهای غیر ضروری دوران تفریح، افزایش شدت جریان آب ورودی به ترفاهای حاوی تخم موجب تثبیت و تشدید این گونه قارچها روی تخمها و در نتیجه قارچ زدگی آنها می شود (۱۵، ۱۳، ۱۲، ۴). به همین دلیل اتخاذ شیوه های کنترلی و درمانی برای حذف عوامل قارچی دوران انکوباسیون امری ضروری به ویژه برای آن دسته از مراکزی که دوره انکوباسیون طولانیتر و نیاز به درجه حرارت های پایبندی دارند، امری رایج می باشد.

اگرچه سبزمالاشیت یکی از مؤثرترین عوامل شیمیایی ضد قارچ در مرحله انکوباسیون تخمها است ولی امروزه مصرف آن به خاطر جنبه های بهداشت عمومی و زیست محیطی ممنوع می باشد (۲). لذا یافتن عوامل شیمیایی جایگزین یکی از نیازهای اساسی مراکز تکثیر ماهی می باشد. مطالعات انجام شده توسط Marking و همکاران (۱۹۹۴) نشان داد که فرمالین یک داروی ضد قارچ مؤثری است. همچنین طی مطالعه ای توسط Rach و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که استفاده از فرمالین در کاهش خسارات ناشی از قارچ زدگی تخمها در دوران انکوباسیون برخی گونه های سرد آبی و گرم آبی از جمله کپور معمولی مؤثر می باشد. براساس نتایج محققین مزبور مصرف ۱۵۰۰ µl/lit فرمالین به مدت ۴۵ دقیقه موجب تفریح ۶۴ درصد تخم کپور

۱) گروه آموزشی بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) گروه شیلات - دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران.

۳) مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران، مازندران - ایران.



جدول ۱- نتایج تفریح تخم کپور معمولی درمان شده با غلظتهای مختلف فرمالین در شرایط کارگاهی (مرکز تکثیر شهید رجایی)

غلظت فرمالین (μL-L-1) مورد استفاده	تعداد تکرار (N)	مینیمم تفریح	ماکزیمم تفریح	میانگین تفریح در تکرارها	انحراف معیار (Std. Er)	خطای معیار (Std. Err)	میانگین درصد تفریح
۰	۳	۶۵۲	۶۷۸	۶۶۵/۰۰	۱۳/۰۰	۷/۵۱	۳۲/۷
۲۵۰	۳	۱۰۹۶	۱۲۹۴	۱۲۱۸/۳۳	۱۰۶/۹۳	۶۱/۷۴	۵۹/۹۲
۵۰۰	۳	۹۹۳	۱۳۵۰	۱۲۱۴/۳۳	۱۹۳/۳۰	۱۱۱/۶۰	۵۹/۷۳
۱۰۰۰	۳	۱۶۰۱	۱۶۹۳	۱۶۴۱/۳۳	۴۷/۰۴	۲۷/۱۶	۸۰/۷
۱۵۰۰	۳	۱۸۰۶	۱۸۷۴	۱۸۴۱/۳۳	۳۴/۰۸	۱۹/۶۸	۹۰/۵۷
۲۰۰۰	۳	۱۸۷۳	۱۹۴۷	۱۹۰۵/۶۷	۳۷/۷۵	۲۱/۸۰	۹۳/۷

بحث

اگر چه استفاده از غلظتهای مختلف فرمالین به عنوان یک عامل ضد قارچ دوره انکوباسیون تخم ماهیان، توسط محققین متعددی توصیه شده است اما در بسیاری از موارد مطالعات مذکور فاقد سوابق کیفیت آب دوران درمان می‌باشند (۱۴، ۱۱، ۹، ۷، ۵، ۴، ۳).

به هر حال Scherier و همکاران (۱۹۹۶) در مطالعه خود غلظتهای ۱۵۰۰-۱۰۰۰ را به مدت ۱۵ دقیقه برای ضد عفونی تخم قزل آلا توصیه نموده است. اگر چه غلظتهای مذکور در تحت شرایط $\mu\text{l/lit}$ کیفی آب شامل درجه حرارت 20°C ، اکسیژن محلول برابر ۹، >، دبی آب ورودی برابر 3 lit/min و pH برابر ۸ توصیه شده است اما نامبرندگان به نتایج درصد تفریح اشاره‌ای ننموده‌اند. Rach و همکاران (۱۹۹۷) در مطالعه خود با استفاده از غلظت $\mu\text{l/lit}$ ۱۵۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه و در تحت شرایط کیفی آب شامل درجه حرارت 20°C ، اکسیژن محلول $\mu\text{l/lit}$ $9/82-7/72$ ، pH برابر $7/7-8/2$ دبی آب ورودی $25 \pm 24 \text{ lit/min}$ و سختی $140-138 \text{ ppm}$ موفق به ۶۴ درصد تفریح لارو کپور معمولی گردیدند. در مطالعه حاضر و در شرایط کیفی آب مشابه شامل pH، درجه حرارت و اکسیژن محلول میزان تفریح لارو ۹۳-۹۱ درصد برای هر یک غلظتهای ۱۵۰۰-۲۰۰۰ ppm فرمالین به مدت ۳۰ دقیقه حاصل گردید. اگر چه مقایسه نتایج این مطالعه با مطالعه Rach و همکاران (۱۹۹۷) تا حدی کار دشواری است، زیرا برخی فاکتورهای کیفی آب متفاوت می‌باشد. اما نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با توجه به وجود گونه‌های مختلف قارچهای ساپروولگنیاسه در آبهای مناطق مختلف جغرافیایی، نژاد مولدین مورد استفاده و روشهای تکثیر مصنوعی، ضروری است تا هر منطقه‌ای نسبت به انجام این گونه مطالعات و استاندارد کردن غلظتهای درمانی فرمالین در شرایط کارگاهی خود اقدام نمایند. با توجه به کوتاه بودن طول دوره انکوباسیون تخم کپور معمولی و سایر گونه های کپور پرورشی و با توجه به نتایج این مطالعه، توصیه می‌شود تا ۳۰-۴۰ ساعت پس از شروع انکوباسیون تخمها، نسبت به ضد عفونی با استفاده از فرمالین با غلظت $\mu\text{l/lit}$ ۲۰۰۰ آنها برای یک مرتبه و به مدت ۳۰ دقیقه اقدام شود تا از خسارات ناشی از قارچ زدگی جلوگیری شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از زحمات کارکنان مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری و جناب آقای مهندس مقدسی ریاست مرکز و نیز جناب آقای دکتر حسین خوش باور رستمی رییس مرکز تحقیقات شیلاتی مازندران به خاطر حمایت‌های به عمل آمده برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

References

۱. شهباززاده، د. (۱۳۶۶): بررسی آلودگی با قارچ ساپروولگنیاسه در تخمهای کارگاه پرورش ماهی قزل آلا رنگین کمان جاجرود. پایان نامه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

به هر یک از گروههای شش گانه اضافه و عمل درمان به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت. در ابتدای عمل ضد عفونی و نیز ۱۵ دقیقه پس از آن شرایط کیفی آب شامل درجه حرارت، pH، میزان اکسیژن محلول و درجه سختی آب اندازه گیری و ضمناً هواده به طور مداوم فعال بوده است. پس از مدت مذکور نسبت به برقراری جریان آب ورودی به ویس ها اقدام گردید.

ب) تعیین درصد تفریح: پس از اتمام دوره انکوباسیون (حدود ۹۰ ساعت) و با مشاهده اولین لاروها در ویس ها، تخمهای هر ویس به زوکهای جداگانه منتقل و بعد از تفریح کامل لاروها، آب ورودی هر زوک قطع و نسبت به سیفون آب زوکها اقدام (با استفاده از شیلنگ با قطر ۲ cm و طول ۱/۵ متر و لوله پلیکا ۷۰ cm که در انتهای آن توری با قطر ۷۰ میکرون برای جلوگیری از خروج لاروهانصب شده بود) و لاروهای هر زوک به داخل تشتکهایی منتقل و براساس روش توصیه شده توسط Scherier و همکاران (۱۹۹۶) (فرمول زیر) شمارش چشمی و درصد تفریح هر ویس تعیین گردید.

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{تعداد لاروهای تفریح شده در هر ویس}}{\text{تعداد کل تخم لقاح یافته در ۲۰CC - تعداد تخم در ۲۰ml}} \times 100$$

۴. آنالیز آماری داده‌ها: به منظور تعیین سطح اختلاف معنی دار بین غلظتهای مختلف فرمالین با همدیگر و نسبت به گروه شاهد و تعیین هموزنیستی در سطح ۹۵ درصد اطمینان از آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) و Tukey HSD و با استفاده از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

نتایج

۱. شرایط کیفی آب: نتایج شرایط کیفی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH، سختی و میزان دبی آب در طول آزمایش به ترتیب شامل $1/8 \pm 1/06 \text{ lit/min}$ و 286 mg/lit ، $8/1 \pm 0/11$ ، $7/32 \pm 0/8 \text{ mg/lit}$ ، $19/8 \pm 1/98^{\circ}\text{C}$ بوده است. البته میزان سختی آب پس از افزودن فرمالین از ۲۸۶ به ۲۵۶ میلیگرم در لیتر کاهش پیدا کرد.

۲. درصد تفریح: نتایج درصد تفریح تخمهای درمان شده با هر یک از غلظتهای فرمالین در جدول ۱ نشان داده شده است. هم چنان که مشخص است بیشترین درصد میانگین تولید لارو (تفریح) در تیمار درمان شده با غلظت 2000 ppm به میزان $93/7$ درصد و کمترین آن در غلظتهای ۲۵۰ و 500 ppm به میزان $59/73$ درصد و $59/92$ درصد حاصل شده است. درصد تفریح در گروههای درمانی 1000 ppm و 1500 ppm به ترتیب $80/7$ درصد و $90/57$ درصد بوده است که در مقایسه با گروه شاهد ($32/7$ درصد) از اختلاف معنی داری برخوردار است ($P < 0/05$). مقایسه درصد تفریح در گروههای مختلف درمانی با فرمالین با گروه شاهد و نسبت به همدیگر نشان داد که اولاً همه گروههای درمانی اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد داشته ($P < 0/05$)، ثانیاً گروههای درمانی با غلظتهای ۲۵۰ و 500 ppm نسبت به همدیگر اختلاف معنی دار نداشته ($P > 0/05$)، ثالثاً گروههای 1000 و 1500 ppm نسبت به همدیگر فاقد اختلاف معنی دار بوده است در حالی که سایر گروههای درمانی نسبت به همدیگر از اختلاف معنی داری برخوردار می‌باشند ($P < 0/05$).



2. Alderman D.J. (1985): Malachite green: A review- Journal of Fish Diseases 8. 289-298.
3. Bills. T.D., Marking, L.L. and Chandler, J.H. (1977): Formalin: Its toxicity to fish and detoxification of antimycin. U.S. Fish and Wildlife Service Investigations in Fish Control 73.
4. Bruno D.W. and Poppe T.T.(1997): Fungal diseases. In: A color Atlas of Salmonid Diseases Bruno D.W. and Poppe T.T.(eds). Academic Press. PP. 57-64.
5. Clemens, H.P and Sneed, K.E. (1959): Lethal doses of several commercial chemicals for fingerling channel catfish. U.S. Fish Wildlife Service, Special Scientific Report Fisheries PP: 319.
6. Clesceri, L. Greenberg A.E. and Trussell, R.R. (1989): Standard Methods for examination of water and waste water. American Public Health Association 1015NW, Washington DC.
7. Cline, T.F., and Post. G. (1972): Therapy for trout eggs infected with *Saprolegnia*. Progressive Fish-Culturist 34:148-151.
8. Forelich, S.L., and Engelhardt, T. (1996): Comparative effects of formalin and salt treatment on hatch rates of Koi carp eggs. Prog. Fish-Cult. 58:209-211.
9. Horwath, L. (1984): Special Methods in Pond Fish Husbandry. National Academy of Sciences (USA), PP: 31.
10. Marking, L.L., Rach, J.J., and Schreier, T.M. (1994): Evaluation of antifungal agents for fish culture. Prog. Fish-Cul. 56:225-231.
11. Piper, R.C., I.B.Mc Elwain, Orme, L.E. Craren, J.P. Mc. Flower, L.G. and Leonard, J.R. (1982): Fish hatchery management U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. PP: 517.
12. Rach, J.J. Howe, G.E. and Schreier M.T. (1997): Safety of formalin treatment on warm and cool water fishes, Aquaculture 149:183-191.
13. Schreier, T.M. Rach. J.J. and Howe, G.E. (1996): Efficacy of formalin hydrogen peroxide and sodium chloride of fungal infected rainbow trout eggs. Aquaculture 14:323-331.
14. Waterstrat, P.R., Marking, L.L. (1995): Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride for treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall chinook salmon eggs Progressive. Fish Culturist, 57, 287-291.
15. Willoughby, L.G. (1994): Fungi and Fish diseases. Pisces Press, Stirling, Scotland, P: 57.

Therapeutic effects of formalin on hatch rate of common carp (*Cyprinus carpio*) eggs under farmed conditions in (Shahid Rajaii Center Sari) Iran

Soltani, M.¹, Kalbassi, M.R.², Mohammad Nazar, R.³
 Mostafavi. H.³

¹ Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran. ² Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Marine Science, University of Tarbiat Moddaress, Tehran -- Iran. ³ Mazandaran Research Center of Fisheries, Sari, Iran. **J. Fac. Vet. Med. Tehran. Univ. 56, 4: 69-71, 2001.**

Antifungal effects of formalin was evaluated on hatch rate of common carp (*Cyprinus Carpio*) eggs under water quality variables including dissolved oxygen (7.3 ± 0.8 mg/L), water temperature (19.8 ± 1.8 C°), PH(8.1 ± 0.1), total hardness (286 mg/L) and inletwater (1.8 ± 1.06 L/min). Groups of eggs were treated with formalin at concentrations of 250, 500, 1000, 1500 and 2000 μ L/L for 30 minutes about 40 hours after incubation period. The obtained results showed that there was significantly difference between the hatch rates of all treated eggs groups and control one ($P < 0.05$). Also there was no significant difference between the hatch rates of groups treated with formalin at concentrations of 200 and 500 μ L/L and groups treated at concentrations of 1000 and 1500 μ L/L ($P > 0.05$). However, there was significantly differences between other treated groups ($P < 0.05$). Maximum hatch rate of %93.7 was obtained in group treated with 2000 μ L/L of formalin, while minimum hatch rate of %59.73 was found in fish treated with both 250 and 500 μ L/L. Therefore, in aquaculture practice it is recommended to use formalin at a concentration of 2000 μ L/L for 30 minutes about 30-40 hours after eggs incubation in this area.

Key words: Formalin, Common Carp eggs, *Cyprinus carpio* Antifungal effect.

