

## مقایسه شاخص درمانی داروهای ضدقارچی فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاس ماهی ایرانی

- بهروز ابطی، گروه آموزشی شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
- رجب محمد نظری، وزارت جهاد کشاورزی، مجتمع تکثیر و پرورش شهید رجایی - سمسکنده - ساری
- علی رسولی، گروه آموزشی فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
- پرویز شفیق زاده سماکوش، کارشناس ارشد شیلات، دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۳

E-mail: abtahibm@modares.ac.ir

### چکیده

این تحقیق با هدف مقایسه سه داروی ضدقارچی فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم از نظر شاخص درمانی و حاشیه سلامتی در تخم های لقاح یافته مولد تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* انجام شد. داروها با غلظت های: فرمالین - ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶، ۳/۲، ۶/۴، ۱۲/۸؛ سبزمالاشیت - ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶، ۳/۲، ۶/۴ و پرمنگنات پتاسیم - ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰، ۶۴۰ قسمت در میلیون حدود ۳۰ ساعت پس از لقاح برای حمام دادن ۳۰ دقیقه ای تخم ها در ۳ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. نگهداری تخم ها در انکوباتور یوشچنکو که اختصاصاً برای این تحقیق اصلاح و کادربندی شده بود، انجام شد. به این ترتیب پنجاه و هفت کادر مجزا در دو دستگاه چهار جعبه ای یوشچنکو، فضای آزمایش تخم ها را تشکیل دادند. در هر کادر با استفاده از توزین و شمارش دقیق، صد تخم ریخته شد. داده های مربوط به اختلاف میانگین تعداد تخم های قارچ زده در تیمارها و گروه شاهد به عنوان اثر درمانی و اختلاف میانگین تعداد تخم های مرده در تیمارها و گروه شاهد به عنوان اثر کشندگی، پس از ۹۶ ساعت با استفاده از روش محاسبه Probit value مورد بررسی قرار گرفت، میانه غلظت کشنده در ۹۶ ساعت (LC<sub>۹۶</sub>h)، میانه غلظت مؤثر (EC<sub>۹۶</sub>h) تعیین شد. در تعیین شاخص درمانی (Therapeutic index) نسبت LC<sub>۹۶</sub>h به EC<sub>۹۶</sub>h محاسبه و بزرگی این شاخص مبنای قضاوت در مورد سلامتی داروهای مورد مطالعه قرار گرفت. شاخص درمانی، نشان دهنده میزان سلامتی داروهاست. بزرگی شاخص درمانی مبین خطرات و عوارض سمی کمتر دارو می باشد. EC<sub>۹۶</sub>h، LC<sub>۹۶</sub>h و شاخص درمانی برای فرمالین به ترتیب: ۱/۹، ۱/۹۲ و ۰/۹۹؛ برای سبزمالاشیت: ۲/۴۵، ۱/۰۹، ۲/۲۵ و برای پرمنگنات پتاسیم: ۱۴۴/۰۹، ۲۶/۸۴ و ۵/۳۷ بدست آمد. بر اساس نتایج این تحقیق پرمنگنات پتاسیم با شاخص درمانی بالاتر، داروی سالم تری نسبت به فرمالین و سبزمالاشیت جهت مبارزه با آلودگی قارچی ساپروولگنیا در تاس ماهی ایرانی محسوب می گردد. فرمالین نسبت به دو داروی دیگر سمیت بیشتر و سلامتی کمتری دارد.

کلمات کلیدی: تاس ماهی ایرانی، شاخص درمانی، فرمالین، سبزمالاشیت، پرمنگنات پتاسیم، ساپروولگنیوز، LC<sub>۹۶</sub>h، EC<sub>۹۶</sub>h.

Pajouhesh & Sazandegi No:67 pp: 42-49

### Comparison of antifungal therapeutic indices of formalin, malachite green and potassium permanganate on Persian sturgeon in farming conditions of north of Iran (Sari)

By: Abtahi B., Assistant Prof.-Fisheries Dept.-Marine Sciences Faculty -Tarbiat Modarres University.

, Nazari R.M., Ministry of Jihad e Keshavarzi, Rasuli A. Assistant Prof.-Physiology & Pharmacology Dept.-Faculty of Vet. Medicine, Tehran University., and Shafieezade, Tarbiat Modarres University, Mazandaran University

Aquatic fungi (*saprolegnia*) are ubiquitous in natural water supplies of fish hatcheries often causing serious disease and problems. In this research, the therapeutic index of formalin, malachite green and potassium permanganate on *Asipenser persicus* eggs was determined and compared. Formalin, malachite green and potassium permanganate were evaluated in three trials approximately 30 hours after fertilization, using following concentration formalin-0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 and 12.8, malachite green -0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 and 6.4, potassium permanganate, 20, 40, 80, 160, 320 and 640 ppm. Each trial consisted of eighteen 1.8-lit aquaria for six treatments (low to high drug concentration treatment) with three replications per treatment. Therefore the total number of treatments with three untreated treatments was 57. All trials used eggs that were derived from the same egg mass with 77% fertilization rate. 100 eggs of egg mass were randomly assigned to each aquaria in order to treat eggs for 30 minutes. Then eggs transferred to separated incubator and kept there for 96 hours. During 96 hours, infected, hatched and non-hatched eggs exactly enumerated. The difference between dead eggs mean in untreated groups and other treatment used for lethal concentration calculations and the difference of infected eggs mean in untreated groups and other treatments means used for therapeutic concentration calculated by using pharmacologic calculation program and were determined the  $LC_{50}$ ,  $EC_{50}$  and therapeutic indices of candidate fungicides. The therapeutic indices of potassium permanganate, malachite green and formalin were 5.37, 2.25 and 0.99 respectively. In conclusion, Potassium Permanganate was shown to be safer than malachite green and formalin in controlling *saprolegnia* in *A. persicus* eggs.

**Key words:** Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, Formalin, Malachite green, Potassium permanganate, Therapeutic index, *Saprolegnia*.

#### مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل زیان‌آور در صنعت آبی پروری بیماری‌های قارچی می‌باشند، که از لحاظ درجه اهمیت بعد از بیماری‌های باکتریایی قرار دارند (۱۵). این بیماری‌ها از مشکلات جدی دوره انکوباسیون تخم بسیاری از گونه‌ها از جمله تاس ماهیان به حساب می‌آیند (۱). ساپروولگنیوز از دسته عفونت‌های قارچی و مهم‌ترین بیماری قارچی ماهیان آب شیرین و تخم آنها می‌باشد (۲۲، ۱۱). تقریباً تمامی ماهیان آب شیرین طی زندگی خود در معرض خطر انواع قارچ‌ها قرار دارند (۲۱، ۱۷). تخم تاس ماهیان در مراحل پایانی رشد، بسیار مستعد ابتلا به آلودگی‌های قارچی می‌باشند (۸). ساپروولگنیاز از طریق چسبیدن و نفوذ به دیواره سلول‌های مرده (۳۰) و نیز از طریق تخم‌های مرده به تخم‌های سالم سرایت می‌کند (۱۵). رشد مناسب آنها در دمای بین ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است. در درمان ماهیان آلوده به ساپروولگنیوز می‌توان از مواد ضدعفونی کننده مختلفی مانند سبزمالاشیت، سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم، نمک و فرمالین استفاده کرد (۱۸، ۱۰). Rach و همکاران (۲۴) برای ضدعفونی تخم تاس ماهی دریاچه‌ای

(*Acipenser fulvecens*) از غلظت‌های ۱۵۰۰، ۴۵۰۰ و ۷۵۰۰ میکرولیتر در لیتر فرمالین استفاده کردند که در نهایت غلظت ۱۵۰۰ میکرولیتر در لیتر به مدت ۴۵ دقیقه، ۳۶ ساعت پس از لقاح به صورت یک روز در میان را مناسب معرفی کردند. Marking و همکاران (۲۰) غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر فرمالین را برای مبارزه با قارچ ساپروولگنیاز در تخم قزل‌آلای رنگین کمان مفید گزارش کردند. سلطانی و همکاران (۶) تحت شرایط کارگاهی غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ ppm فرمالین را برای ضدعفونی تخم کپور ماهیان بکار برده و در نهایت غلظت ۲۰۰۰ ppm را ۴۰ ساعت پس از انکوباسیون برای ضدعفونی به مدت ۳۰ دقیقه توصیه کردند. Burrows (۱۶) استفاده از سبزمالاشیت با غلظت یک در ۲۰۰۰۰۰ (۵ میلی‌گرم در لیتر) به مدت یک ساعت را مؤثرترین روش درمان توصیه کرد. مطابق بررسی‌های به عمل آمده از سوی Alderman (۱۴) به نظر می‌رسد سبزمالاشیت برای مدت طولانی در بافت‌ها دوام یافته و در اثر درمان‌های مکرر تجمع افزاینده آن در نسوج فراهم می‌گردد.

حمام دادن تخم‌ها، پیمانه مدرج جهت تهیه محلول های دارویی با غلظت‌های مختلف، ساچوک فلزی کوچک به‌منظور خروج لاروهای تفریخ شده و شمارش آنها، شلنگ نازک به قطر تقریبی ۷ میلی‌متر برای خارج کردن تخم‌های قارچ زده و شمارش آنها، میز فلزی جهت استقرار ظرف‌ها به‌منظور حمام دهی تخم‌ها، بیپت‌های مدرج ۲۵، ۱۰ و یک میلی‌لیتری و ارلن مایر برای ساخت محلول‌ها، بشر مدرج یک و نیم لیتری، استوانه مدرج نیم لیتری، همزن مغناطیسی جهت ساخت و هم زدن محلول‌های مادر، ظرف در پوش دار یک لیتری جهت ذخیره‌سازی محلول‌های یک لیتری، لوپ آلمانی بزرگ‌نمائی ۱۰ جهت بررسی آلودگی قارچی تخم ناس‌ماهی، pH متر با دقت ۰/۰۱، اکسیژن سنج با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، دماسنج جیوه‌ای با دقت ۰/۲ درجه سانتیگراد.

### روش انجام کار

مولد ماده صید شده جهت تخم‌کشی در این تحقیق ۳۰ کیلوگرم وزن و ۱۶۵ سانتی‌متر طول و مولد نر حدود ۱۴ کیلوگرم وزن و ۹۰ سانتی‌متر طول داشت. مولدین نر و ماده بکار رفته از نظر کارشناسان کارگاه تکثیر مناسب ارزیابی شدند. پس از انجام لقاح و از بین بردن چسبندگی تخم‌ها، تعیین درصد لقاح آغاز شد. منظور از درصد لقاح درصد تخم‌هایی است که به‌طور طبیعی و کامل لقاح یافته و قابلیت تولید لارو زنده را دارند (۲). برای اینکار ۵ ساعت پس از انجام لقاح به‌طور تصادفی ۲۰۰ عدد تخم از جعبه انکوباتور برداشته به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از فیکس کردن تخم‌ها با فرمالین ۴ درصد با استفاده از لوپ و با معیار قرار دادن الگوی تقسیم طبیعی، به جداسازی تخم‌های سالم و دارای تقسیم طبیعی از تخم‌های ناسالم مبادرت شد. در صد لقاح بشرح فرمول ۱ محاسبه گردید (۲):

$$\text{با در نظر گرفتن غلظت‌های درمانی داروهای مورد مطالعه (۲۹) دامنه غلظت فرمول ۱}$$
$$\text{(ل شده + لقاح نیافته + پارتنوژنتیک + پلی اسپرمیک) - تعداد کل تخم}$$
$$100 \times \frac{\text{تعداد کل تخم}}{\text{در صد لقاح}}$$

داروها از حدود نصف دوز توصیه شده درمانی آغاز و با تصاعد هندسی تا پنج غلظت بعدی افزایش یافت (جدول ۱). زمان غوطه‌وری در محلول‌ها نیم ساعت تعیین و معمول شد. برای غوطه‌وری از ظروف پلاستیکی ۱/۸ لیتری استفاده گردید. پس از حدود ۳۰ ساعت از انجام لقاح، تخم‌ها تحت تأثیر محلول‌های دارویی قرار گرفتند. در این تحقیق برای هر غلظت از داروها سه تکرار در کنار گروه شاهد با سه تکرار، در انکوباتور یوشچنکو که اختصاصاً جهت این تحقیق اصلاح و کادربندی شده بود، به‌کار گرفته شد. به این ترتیب پنجاه و هفت کادر مجزا در دو دستگاه چهار جعبه‌ای یوشچنکو، فضای آزمایش تخم‌ها را تشکیل دادند. در هر کادر با استفاده از توزین و شمارش دقیق، صد تخم ریخته شد.

طی ۹۶ ساعت دوره آزمایش، انکوباتورها به‌طور منظم مورد بازرسی و مراقبت قرار داشتند تا وقفه‌ای در حرکت همزنی و جریان آب ایجاد نگردد. در این مدت تعداد تخم‌های قارچ زده، مرده و لاروهای تفریخ شده بطور منظم دو بار در روز شمارش، ثبت و از محیط خارج می‌گردید. شاخص قارچ زدگی تخم‌ها تشکیل توده قارچی دور تخم و شاخص مرگ توقف نمو بوده، برای تأیید تشخیص وضعیت تخم از لوپ با بزرگنمایی ۱۰ استفاده گردید.

Willoughby (۳۰) به این نتیجه رسیدند که غلظت ۰/۲۵ppm سبزمالاشیت در مدت زمان ۱۵ دقیقه زئوسپورها و سیست‌های زئوسپور قارچ *Saprolegnia parasitica* را از بین می‌برد و عفونت‌های قارچی را کنترل می‌کند.

شهباززاده (۷) نشان داد که به‌کار بردن سبزمالاشیت به نسبت یک در ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه در کاهش دادن تلفات تخم‌های ماهیان قزل‌آلا در تفریخگاه‌هایی که در حوزه جاجرود قرار دارند بسیار مفید می‌باشد و اگر با روش جدا کردن تخم‌های مرده و کپک زده توأم شود سودمندتر خواهد بود. Piper و همکاران (۲۳) استفاده از پرمنگنات پتاسیم را روش مؤثری علیه بیماری‌های قارچی ماهی و تخم ماهی عنوان کرده‌اند.

Schreck و همکاران (۲۷،۲۶) پژوهش‌هایی را برای مقایسه فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در کنترل عفونت‌های قارچی *Saprolegnia parasitica* بر روی تخم قزل‌آلای رنگین کمان به‌عمل آورده‌اند. Schreck و همکاران (۲۵) در تحقیقی برای تعیین شاخص درمانی داروهای مختلف از جمله فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم روی تخم‌های چشم زده قزل‌آلای رنگین کمان، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ برابر غلظت‌هایی که در عمل برای کنترل آلودگی به‌کار می‌رود را انتخاب کردند که شاخص درمانی آنها در مدت ۱۵ دقیقه تیماردهی به ترتیب ۳ و ۵ و ۲/۵ تعیین گردید.

سادات اخوی (۵) داروها و مواد شیمیایی مختلفی را جهت مبارزه با قارچ تخم‌های تاس‌ماهیان در محیط کشت قارچی به‌کار گرفت. در آن تحقیق اثرات ضدقارچی داروهای فرمالین، پرمنگنات پتاسیم و سبزمالاشیت بررسی شده و در نهایت اثرات ضد قارچی داروهای مذکور به ترتیب ۱۲، ۹۹ و ۹۶ درصد بدست آمد.

در این تحقیق به‌منظور معرفی بهترین داروی ضد قارچی در میان داروهایی که بیشترین کاربرد را در تکثیر ماهیان خاویاری دارند، میانه غلظت‌های مؤثر ( $EC_{50}^{96h}$ ) و کشنده ( $LC_{50}^{96h}$ ) داروهای فرمالین، سبزمالاشیت و پرمنگنات پتاسیم تعیین و با استفاده از آنها شاخص درمانی داروهای مذکور محاسبه و مقایسه شدند. شاخص درمانی، نشان دهنده میزان سلامتی داروهاست. بزرگی شاخص درمانی مبین خطرات کمتر و عوارض سمی‌پائین تر دارو می‌باشد (۹).

### مواد و روش‌ها

کار عملی این تحقیق طی فروردین ماه ۱۳۸۱ در کارگاه شهید رجایی واقع در سمسکنده ساری انجام گردید. مواد مصرفی این تحقیق عبارت بودند از: پرمنگنات پتاسیم، فرمالین ۳۷ درصد، سبزمالاشیت و کیت سختی سنج. ابزارها و مواد غیر مصرفی عبارت بودند از: دو دستگاه انکوباتور یوشچنکو، تخته‌های بریده شده جهت مطبق نمودن جعبه‌های توری انکوباتور، ظروف یکبار مصرف ۱/۸ لیتری جهت

مرده در تیمار شاهد به‌عنوان تلفات غیرمتأثر از داروهای مورد مطالعه از تعداد تخم‌های با قابلیت بازماندگی کسر گردید. به این ترتیب جمعیت تلفات پذیر این تحقیق به‌دست آمد. برای تعیین تأثیر کشنده هر یک از غلظت‌ها، میانگین تلفات تخم در شاهد از میانگین تلفات تیمارها کسر شد تا تلفات ناشی از داروها بدست آید. داده‌ها در این بخش به‌صورت: غلظت، میانگین تخم‌های مرده در اثر دارو و میانگین جمعیت تأثیرپذیر از دارو وارد برنامه مذکور شد. جهت تعیین شاخص درمانی نسبت  $LC_{50}^{96h}$  به  $EC_{50}^{96h}$  محاسبه و بزرگی این شاخص مبنای قضاوت در مورد سلامتی داروهای مورد مطالعه قرار گرفت.

### نتایج

#### درصد لقاح تخم‌های مورد استفاده

لقاح برحسب تعداد تخمی که شروع به تقسیمات بلاستولایی نموده‌اند در یک نمونه شامل ۲۰۰ تخم محاسبه شد (فرمول ۲).  
تعداد تخم‌های پلی‌اسپرمیک: ۱۷، تعداد تخم‌های پارتنوزنتیک: ۴، تعداد تخم‌های لقاح نیافته: ۱۲، تعداد تخم‌های له شده: ۱۳، تعداد تخم‌های منواسپرمی (طبیعی) = ۱۵۴

فرمول ۲-

$$\text{درصد لقاح} = \frac{200 - (17 + 4 + 12 + 13)}{200} \times 100 = 77\%$$

جدول ۱- غلظت‌های بکار رفته (ppm) داروهای مورد تحقیق

غلظت‌ها	دارو
۰/۴ - ۰/۸ - ۱/۶ - ۳/۲ - ۶/۴ - ۱۲/۸	فرمالین
۰/۲ - ۰/۴ - ۰/۸ - ۱/۶ - ۳/۲ - ۶/۴	سبزمالاشیت
۲۰ - ۴۰ - ۸۰ - ۱۶۰ - ۳۲۰ - ۶۴۰	پرمنگنات پتاسیم

پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در دوره انجام تحقیق دوبار در شبانه روز با استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی هیدروشیمی و همکاری کارشناسان مرکز تکثیر اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. پارامترهایی که مورد اندازه‌گیری قرار می‌گرفتند شامل درجه حرارت، اسیدیته، سختی و اکسیژن بود (جدول ۲). جهت تعیین  $EC_{50}^{96h}$  ابتدا میانگین تخم‌های قارچ زده در گروه‌های تیمار و شاهد محاسبه شد. میانگین تخم‌های قارچ زده شاهد به‌عنوان جمعیت درمان پذیر و اختلاف بین میانگین قارچ‌زدگی شاهد و میانگین تیمار به‌عنوان تأثیر دارو یا جمعیت درمان شده تعیین شد. سپس داده‌ها بر حسب غلظت دارو، میانگین تخم‌های درمان شده و میانگین جمعیت درمان پذیر وارد نرم افزار محاسبات دارو شناسی (Pharmacologic Calculation System-version 4.0) شده و  $EC_{50}^{96h}$  بدست آمد. برنامه یاد شده از روابط Wilcoxon و Litchfield استفاده کرده، به روش محاسبه Probit value از رگرسیون لگاریتم غلظت دارو و میزان تأثیر دارو عمل می‌کند.

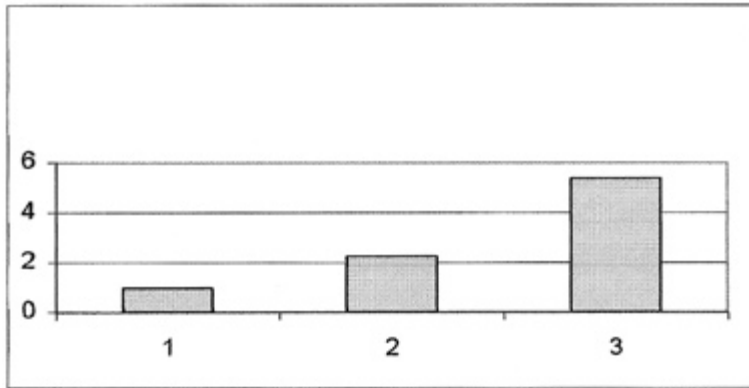
برای تعیین  $LC_{50}^{96h}$  ابتدا با در نظر گرفتن درصد لقاح تعداد تخم‌های با قابلیت بازماندگی برای همه تکرارها محاسبه شد. سپس میانگین تخم‌های

جدول ۲- نتایج مربوط به پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب

پارامتر	حداقل	حداکثر	میانگین
اکسیژن (ppm)	۷/۸۲	۸/۵۷	۸/۰۷ ± ۰/۴۴
درجه حرارت (°C)	۱۶	۱۷/۲	۱۶/۶۲ ± ۰/۳۸
اسیدیته (pH)	۷/۵	۷/۸۴	۷/۶۷ ± ۰/۱۱
سختی (میلی‌گرم در لیتر $CaCO_3$ )	۲۷۵	۲۷۹	۲۷۷/۲ ± ۱/۶۱

جدول ۳- نتایج حاصله از تیمارهای مختلف داروی فرمالین

غلظت (ppm)						نتایج بدست آمده از سه تکرار
۰/۴	۰/۸	۱/۶	۳/۲	۶/۴	۱۲/۸	
۷	۶	۴/۶۷	۳/۳۳	۱/۶۷	۰	میانگین درصد تخم قارچ زده
۴۱	۳۰/۶۷	۶۵/۶۷	۸۱	۹۱/۶۶	۱۰۰	میانگین درصد تخم مرده
۵۲	۶۲/۳۳	۲۹/۶۶	۱۵/۶۷	۶/۶۷	۰	میانگین درصد لارو تفریح شده



نمودار شماره ۱- مقایسه شاخص درمانی داروهای فرمالین (۱)، سبز مالاشیت (۲) و پرمنگنات پتاسیم (۳)

خاصی دارای اهمیت در آبی‌ری پروری هستند از نظر میزان سلامتی برای تاس ماهی ایرانی، از نظر تأثیر ضدقارچی و همچنین توانایی ایجاد مسمومیت حاد بررسی و مقایسه شدند. کاربرد فرمالین به صورت حمام کوتاه مدت در جهت مبارزه با ساپروولگنیا امروزه مورد توجه است و به پیش‌بینی Stoskope (۲۹) استفاده از این دارو در آینده معمول خواهد گردید. کاربرد فرمالین در سال‌های اخیر در ایران مورد توجه بوده است (۱۲،۶،۴). ویژگی‌های این دارو که موجب توسعه آن شده سالم بودن نسبی آن از نظر باقیماندگی در گوشت ماهی، اثرات نامطلوب کمتر بر محیط‌های زیست آبی و مضرات کمتر برای کاربران می‌باشد (۲۸). در این تحقیق  $LC_{50}^{۹۶h}$  فرمالین برابر ۱/۹ و  $EC_{50}^{۹۶h}$  آن ۱/۹۲ قسمت در میلیون به‌دست آمد. شاخص درمانی حاصل از دو مقدار مذکور ۰/۹۹ محاسبه شد، که بیانگر اثرات سمی این دارو بر تخم تاس ماهی ایرانی است. در تحقیق سادات اخوی (۵) نیز کمترین اثر ضد قارچی در محیط کشت

### تیمارهای داروهای مورد مطالعه

در گروه شاهد میانگین درصد تخم قارچ زده ۸، میانگین درصد تخم مرده ۳۵/۶۷ و میانگین درصد لارو تفریخ شده ۵۶/۳۳ به‌دست آمد.

نتایج مربوط به تعداد تخم‌های قارچ زده، مرده و لاروهای تفریخ شده تیمارهای مورد مطالعه به‌ترتیب در جداول ۳ تا ۵ نشان داده شده است. میانگین نتایج بدست آمده از تکرارهای هر یک از غلظت‌های داروهای مورد بررسی که برای ورود به برنامه محاسباتی از آنها استفاده شده به‌شرح جدول شماره ۶ می‌باشند.

نتایج محاسبه میانه غلظت مؤثر و میانه غلظت کشنده و شاخص درمانی حاصل از آنها در جدول شماره ۷ آورده شده است.

طبق نتایج بدست آمده سلامتی سه داروی مورد مطالعه در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

### بحث و نتیجه‌گیری

جستجو و به‌کار بردن داروی مناسبی که ضمن کارایی مطلوب، دارای حداقل اثرات سمی باشد همواره در جهت مبارزه با بیماری‌های قارچی از اهمیت بالایی برخوردار است. این مسئله به‌ویژه در ماهیان خاویاری از جمله تاس ماهی ایرانی که دارای ارزش اقتصادی و اعتبار جهانی است، اهمیت مضاعفی دارد.

در این تحقیق سه داروی ضد قارچی که هر یک از جنبه

جدول ۴- نتایج حاصله از تیمارهای مختلف داروی سبز مالاشیت

غلظت (ppm)						نتایج بدست آمده از سه تکرار
۶/۴	۳/۲	۱/۶	۰/۸	۰/۴	۰/۲	
۲/۳۳	۲/۳۳	۳/۳۳	۴/۳۳	۵/۳۳	۶	میانگین درصد تخم قارچ زده
۹۵/۳۴	۶۸/۶۷	۵۳/۶۷	۳۲	۲۴/۳۳	۴۱	میانگین درصد تخم مرده
۲/۳۳	۲۹	۴۳	۶۳/۶۷	۷۰/۳۴	۵۳	میانگین درصد لارو تفریخ شده

جدول ۵- نتایج حاصله از تیمارهای مختلف پرمنگنات پتاسیم

غلظت (ppm)						نتایج بدست آمده از سه تکرار
۶۴۰	۳۲۰	۱۶۰	۸۰	۴۰	۲۰	
۰	۱	۱/۳۳	۲/۶۷	۳/۳۳	۴	میانگین درصد تخم قارچ زده
۱۰۰	۸۵/۶۷	۶۹/۶۷	۵۴	۳۸/۳۴	۲۸	میانگین درصد تخم مرده
۰	۱۳/۳۳	۲۹	۴۳/۳۳	۵۸/۳۳	۶۸	میانگین درصد لارو تفریخ شده

جدول ۶- میانگین اثرات درمانی و کشندگی داروها در تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد

دارو	غلظت (ppm)	میانگین تعداد پیشگیری از قارچ زدگی در اثر دارو در مقایسه با شاهد	درصد	میانگین تعداد تلفات تخمها در اثر دارو در مقایسه با شاهد	درصد
فرمالین	۰/۴	۱	۱۲/۵	۵/۳۳	۱۳
	۰/۸	۲	۲۵	۰	۰
	۱/۶	۳/۳۳	۴۱/۶۲	۳۰	۴۵/۶۸
	۳/۲	۴/۶۷	۵۸/۳۷	۴۵/۳۳	۵۶
	۶/۴	۶/۳۳	۷۹/۱۲	۵۵/۹۹	۶۱
	۱۲/۸	۸	۱۰۰	۶۴/۳۳	۶۴/۳۳
سبزمالاشیت	۰/۲	۲	۲۵	۵/۳۳	۱۳
	۰/۴	۲/۶۷	۳۳/۳۷	۰	۰
	۰/۸	۳/۶۷	۴۵/۸۷	۰	۰
	۱/۶	۴/۶۷	۵۸/۳۷	۱۸	۳۳/۵
	۳/۲	۵/۶۷	۷۰/۸۷	۳۳	۴۸
	۶/۴	۵/۶۷	۷۰/۸۷	۵۹/۶۷	۶۲/۶
پرمنگنات پتاسیم	۲۰	۴	۵۰	۰	۰
	۴۰	۴/۷۶	۵۹/۵	۲/۶۷	۷
	۸۰	۵/۳۳	۶۶/۶۲	۱۸/۳۳	۹۴/۳۳
	۱۶۰	۶/۷۶	۸۴/۵	۳۴	۴۸/۸
	۳۲۰	۷	۸۷/۵	۵۰	۵۸/۳۶
	۶۴۰	۸	۱۰۰	۶۴/۳۳	۶۴/۳۳

جدول ۷- میانه غلظت‌های کشنده، مؤثر و شاخص درمانی داروها

دارو	میانه غلظت کشنده (ppm) در ۹۶ ساعت	میانه غلظت مؤثر (ppm) در ۹۶ ساعت	شاخص درمانی
فرمالین	۱/۹	۱/۹۲	۰/۹۹
سبزمالاشیت	۲/۴۵	۱/۰۹	۲/۲۵
پرمنگنات پتاسیم	۱۴۴/۰۹	۲۶/۸۴	۵/۳۷

## تشکر و قدردانی

نگارندگان بدین وسیله مراتب سپاس خود را از مدیریت و کارکنان محترم مجتمع شیلاتی شهید رجایی سمسکنده ساری که در فراهم آوردن اسباب این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند، و از مشاورت آقای دکتر سقراط فقیه زاده دانشیار محترم گروه آمار حیاتی دانشگاه تربیت مدرس ابراز می‌دارند.

## پاورقی‌ها

1- 50% Effective concentration at 96 hours

2- 50% Lethal concentration at 96 hours

## منابع مورد استفاده

- ۱ - آذری تاکامی، ق. ۱۳۷۶؛ مدیریت بهداشتی و روش‌های پیشگیری و درمان بیماری‌های ماهی، چاپ اول، صفحه: ۶۵-۹۰.
- ۲ - آذری تاکامی، ق و کهنه شهری، م. ۱۳۵۳؛ تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری، انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۱۴۵۱، صفحه: ۳۰-۶۶.
- ۳ - ابطحی، ب.، شریف پور، ع.، آقاجانپور، م.، رسولی، ع.، فقیه زاده، س.، امیدبگی، ر.، نظری، ر.م. ۱۳۸۱؛ مقایسه  $LC_{50}$  اسانس گل میخک و  $MS222$  در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی، قزل آلی رنگین کمان و کپور معمولی، مجله علمی شیلات ایران، (۳) ۱۱، صفحه: ۱۲-۱.
- ۴ - خدابنده، ص. ۱۳۸۰؛ اثرات فرمالین و ید بر درصد تخم‌گذاری تخم‌های کپور معمولی، مجله علوم پایه دانشگاه الزهرا (۱) ۱۴، صفحه: ۹-۱۴.
- ۵ - سادات اخوی، ر. ۱۳۷۲؛ بررسی آلودگی‌های قارچی تخم‌تاس‌ماهیان ایرانی در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی، پایان‌نامه دوره دکتری، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به راهنمایی دکتر قباد آذری تاکامی. صفحه: ۸-۳۴.
- ۶ - سلطانی، م.، کلباسی، م.، نظری، ر.م.، مصطفوی، ح. ۱۳۸۰؛ مطالعه اثر درمانی فرمالین بر میزان تفریح تخم‌ماهی کپور معمولی در شرایط کارگاهی ایران (مرکز شهید رجایی ساری). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۴) ۵۶، صفحه: ۶۹-۷۱.
- ۷ - شهباز زاده، د. ۱۳۶۶؛ بررسی آلودگی قارچی ساپروولگنیا در تخم‌های کارگاه پرورشی ماهی قزل آلی رنگین کمان جاجرود، پایان‌نامه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۷۱۹، صفحه ۷۶-۵۴.
- ۸ - درشف، ف.، لوتس، ب.، استرنج، ا. ۱۳۷۸.۱؛ دستورالعمل تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی سفید و کاربرد آن برای دیگر تاس‌ماهیان آمریکای شمالی، ترجمه مهدی امانی، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، صفحه: ۱۵-۴۵.
- ۹ - فقیه، م. ۱۳۷۹؛ فارماکولوژی دامپزشکی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۱۵-۳۵.
- ۱۰ - مخیر، ب. ۱۳۷۷؛ آیا باز هم از سبزمالاشیت استفاده می‌شود؟ فصلنامه علمی فرهنگی انتشارات فرهنگستان علوم شماره ۶ و ۷، صفحه: ۱-۲۱.
- ۱۱ - مخیر، ب. ۱۳۷۴؛ بیماری‌های ماهیان پرورشی، انتشارات دانشگاه تهران.
- ۱۲ - مصطفوی، ح. ۱۳۸۰؛ بررسی اثرات درمانی فرمالین بر میزان تفریح و بازماندگی لارو کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط کارگاهی، پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد شیلات به راهنمایی دکتر مهدی سلطانی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحه: ۵-۲۰.

در مورد فرمالین (معادل ۱۲٪) مشاهده گردیده است. شاخص درمانی پائین فرمالین بیانگر آن است که در صورت انتخاب فرمالین برای پیشگیری از ساپروولگنیز تاس ماهی ایرانی باید از دوز و زمان توصیه شده فراتر نرفته و در تهیه غلظت‌ها دقت بیشتری معمول داشت.

سبزمالاشیت اگر چه دارای خواص سرطان زائی است (۱۴) و به واسطه آن و به علت برخی عوارض زیست محیطی در برخی کشورها کاربرد آن محدود شده (۲۸)، لیکن به واسطه اثرات مطلوب مقطعی در پیشگیری و درمان بیماری‌های قارچی همواره مورد اقبال دست اندرکاران تکثیر و پرورش ماهی، به ویژه در ایران بوده است. از آنجائیکه حاصل کارگاه‌های تکثیر ماهیان خاویاری پس از مدتی بسیار طولانی به مصرف تغذیه انسان می‌رسد، یکی از موارد اصلی محدود کننده مصرف این دارو (باقیمانده‌گی در گوشت ماهی) منتفی می‌گردد و بنظر می‌رسد این دارو مانند گذشته اهمیت خود را در پرورش ماهی حفظ کند. در این تحقیق  $LC_{50}$  سبزمالاشیت برابر  $2/45$  و  $EC_{50}$  آن  $1/09$  قسمت در میلیون بدست آمد. شاخص درمانی حاصل از دو مقدار مذکور  $2/25$  محاسبه شد.

پرمنگات پتاسیم داروئی است که بیش از نیم قرن در درمان بیماری‌های قارچی استفاده می‌شود (۲۹). در پیشگیری از آلودگی‌های قارچی تخم ماهیان خاویاری به ویژه در کارگاه‌های حاشیه خزر (روسیه) غالباً این ماده به کار می‌رود. پرمنگات پتاسیم اغلب نتایج بسیار موفقیت آمیز نشان داده است (۲۹). سادات اخوی (۵) پس از آزمودن داروها و مواد شیمیایی مختلفی جهت مبارزه با قارچ زدگی تخم تاس ماهیان در محیط کشت قارچی، نشان داد که پرمنگات پتاسیم با  $99\%$  اثر ضد قارچی نسبت به داروهای فرمالین با  $12\%$  و سبزمالاشیت با  $96\%$  اثر، مؤثرتر است. در این تحقیق  $LC_{50}$  پرمنگات پتاسیم برابر  $144/09$  و  $EC_{50}$  آن  $26/84$  قسمت در میلیون بدست آمد. شاخص درمانی حاصل از دو مقدار مذکور  $5/37$  محاسبه شده است که نشان دهنده وسعت محدوده سلامتی این داروست.

سلامتی داروها را از دیدگاه‌های مختلفی می‌توان مورد بررسی قرار داد. اگر صرفاً قابلیت و سهولت کاربرد در کارگاه تکثیر مدنظر باشد می‌توان جنبه سمیت حاد و سلامتی دارو برای عوامل انسانی ذریبط را مورد توجه قرار داد. لیکن از جنبه اکولوژیک، سلامتی دارو ابعاد به مراتب وسیع‌تری را در بر می‌گیرد که مطالعه کوتاه مدت نمی‌تواند جوابگوی آن باشد. از این دیدگاه بررسی اثر دارو بر سطوح مختلف زیستی محیط‌های آبی که در معرض هستند و اثر دارو بر فرآیندهای فیزیولوژیک ماهی در مدت‌های بلند تر باید بررسی شوند (۱۹). بنابر این یافته‌های این تحقیق تنها از نظر شاخص‌های کمی و از جنبه سمیت حاد و اثر مرگ آور، داروهای مورد مطالعه را مقایسه می‌نماید (۱۳،۳).

مقایسه شاخص‌های درمانی سه داروی پرمنگات پتاسیم -  $5/37$ ، سبزمالاشیت -  $2/25$  و فرمالین -  $0/99$ ، بیانگر سلامتی بیشتر با اختلاف فاحش و قابلیت کاربرد بهتر پرمنگات پتاسیم برای پیشگیری از ساپروولگنیز در کارگاه‌های تکثیر تاس ماهی ایرانی است. با توجه به این نتیجه گیری می‌توان پرمنگات پتاسیم را سالم‌ترین داروی ضد قارچی از نظر مسمومیت دارویی، در مقایسه با فرمالین و سبزمالاشیت برای ماهیان خاویاری دانست.

- 13- Adams, H.R. 2001; Veterinary pharmacology and therapeutics. 8th Edition Iowa State university press . pp. 12 - 13.
- 14- Alderman, D.J. 1985; Malachite green: A Review, J. Fish Dis., 8: 289-298.
- 15- Bruno, D.W. and Woo, B.P.1994; Fish Diseases Disorders, Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. Edited By P.T.K 4. Woo and D.W. Bruno. CABI Publishing, Waling ford, Oxon, United Kingdom, : 599-559.
- 16- Burrows, R. E., 1949; Prophylactic treatment for control of fungus (*Saprolegnia parasitica*) on salmon eggs. Progressive Fish Culturist , 11 : 97 – 103.
- 17- Fitzpatrick, M.S., Scherck, C.B. and Chitwood, R.L. 1995; Evaluation of three candidate fungicides for treatment of adult Spring chinook salmon. Prog. Fish- Cul. 57: 153-155.
- 18- Hardin, B. 2001; Potassium permanganate kills fishes parasite. News From The USDA Agricultural Research Service.
- 19- Katzung B.G. 1998; Basic & clinical pharmacology 7th. Edition, Appleton & Lange pub, : 28 – 33.
- 20- Marking, L.L., Rach, J.J. and Schreier, T.M. 1994; Evaluation of anti fungal agents for fish culture. Prog. Fish – Cul, 56 (4): 225- 231.
- 21- Neish, G.A., and Hughes, G.C. 1980; Diseases of fishes, book 6, fungal diseases of fishes, T.W.F. Publications, Nepton, New Jersey, p: 159.
- 22- Noga, E.J. 1996; Fish diseases and diagnosis and treatment. Mosby- Year Book, Inc, St. Louis, Mo, p: 367.
- 23- Piper, R. C, McElwain, B., Orme, L. E., Mccraren, J. P, Fowler, L. G. and Leonard. J. R. .1982; Fish hatchery management U.S fish and wild life service,.
- 24- Rach, J.J., How, G.E. and Schreier, M.T.1997; Safety of Formalin Treatments on Warm and Cool Water Fishes, Aquaculture, 149: 183 – 191.
- 25- Schreck, C.M., Fitzpatrick, L., Marking, J.J., Rach, S.M. 1990; Research to identify effective antifungal agents, Annual report, Bonneville Power Administration , Portland, Oregon, pp: 21.
- 26- Schreck, C.M., Fitzpatrick, R.L., Chitwood, L., Marking, J.J., Rach and Schreier, T.M.1993a ; Research to identify effective antifungal agents, Annual report, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. pp: 29.
- 27- Schreck, K.B., Rach, J.J. and Schreier, T.M. 1993b; Research to identify effective antifungal agents, National Fisheries Research Unite. Project No: 89 – 054.
- 28- Schreier, T.M. Rach J.J., How, G.E. 1996; Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal- infected rainbow trout eggs, J. Aquaculture: 323-331.
- 29- Stoskope M.K. 1993; Fish Medicine, W.B. Sanders Co., pp: 278-282, 830-833.
- 30- Wiloughby, L.G. 1994; Fungi and fish diseases. Pisces Press Sterling, Scotland, P: 57.

