استفاده از آلویتا برای حذف قارچ‌ها در مراحل انکوباسیون تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Onchorhynchus mykiss*

مژگان امتیازجو: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
لاله شیخی مقدم: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

چکیده

مالاشیت گرین یکی از فرآورده‌های رنگی آنیلین است. این ماده به عنوان ترکیبی جهش‌زا و سرطان‌زا شناخته شده است. استعمال این ترکیب شیمیایی، برای ماهیانی که به مصرف انسان می‌رسند، مورد تأیید اداره نظارت بر دارو و غذای ایالات متحده(FDA) قرار نگرفته است. به دنبال اعمال محدودیت مصرف مالاشیت‌گرین توسط FDA، اثرات زیست محیطی بسیار نامطلوب آن و بی‌خطر بودن کامل آلویتا، این ماده به عنوان جایگزین مالاشیت گرین بررسی شد. این تحقیق به دو روش آزمایشگاهی و محیطی انجام گرفت. در روش آزمایشگاهی ابتدا تخم‌های آلوده به قارچ ماهی قزل آلا بر روی محیط کشت سابورودکستروز آگار، کشت داده و خالص‌سازی شد. سپس آلویتا با غلظت‌های ۴،۳،۲،۱ و ۵ گرم در لیتر به محیط کشت سابورودکستروز آگار اضافه شد و توده‌های قارچی خالص‌سازی شده موکور و رایزوپوس، بر روی آن کشت داده شد. بعد از زمان ۴۸ ساعت و یک هفته، نمونه‌ها بررسی شدند، روی نمونه شاهد(بدون آلویتا)، توده قارچی رشد کرد و در نمونه‌های حاوی آلویتا هیچ قارچی مشاهده نشد. در روش محیطی یک تراف شاهد(بدون آلویتا) و سه تراف حاوی آلویتا، به روش حمام دادن، با غلظت‌های ۱ گرم در لیتر به مدت‌های۳۰ و ۶۰ دقیقه، و ۲ گرم در لیتر به مدت۳۰ دقیقه و یک تراف مالاشیت گرین با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت یک ساعت، در مزرعه تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا نیاک بررسی شدند. تجزیه و تحلیل‌های آماری نتایج به دست آمده که با استفاده از نرم‌افزار spss و استفاده از آزمون آنالیز واریانس انجام گرفت، حاکی از آن است که با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و P=۰/۲۶۵، اختلاف معنی‌داری بین تعداد تخم‌های چشم‌زده تراف‌های حاوی آلویتا و تراف حاوی مالاشیت گرین وجود ندارد و آلویتا با غلظت یک گرم در لیتر از بین غلظت‌های آزمایش شده، می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت‌گرین باشد.

مقدمه

مالاشیت گرین به عنوان قارچ کش، انگل‌کش و ماده ضدعفونی‌کننده در صنعت آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. حلالیت این ماده درآب بسیار زیاد است(آلدرمن،۱۹۸۵). با این‌که FDA استفاده از مالاشیت گرین

واژه‌های کلیدی: آلویتا، مالاشیت گرین، قارچ کش، تخم قزل آلا
دریافت ۸۵/۰۲/۱٦ پذیرش ۸۶/۹/۱۱

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

را در صنعت آبزی‌پروری چه به عنوان ماده قارچ کش و چه به عنوان افزودنی به غذای ماهی، تأیید نکرده است، استفاده از این ماده در صنایع غذایی دریایی و آبزی‌پروری در بعضی از نقاط رواج دارد(میر و سچنیک، ۱۹۸۷). مالاشیت گرین و شکل احیا شده آن که لوکومالاشیت گرین نام دارد، می‌تواند برای مدت طولانی در بافت‌های ماهیان خوراکی ذخیره شود(آلن و همکاران، ۱۹۹۴). مالاشیت گرین از فرآورده‌های رنگی آنیلین است و به عنوان ماده ایجاد کننده ناهنجاری و سرطان‌زا شناخته شده است. مالاشیت گرین به تنهایی و یا به صورت مخلوط با فرمالین، به عنوان یک قارچکش مهم در پرورش ماهی، مورد استفاده قرار می‌گیرد(ستاری و روستایی، ۱۳۷۸).

بر اثر استفاده از مالاشیت گرین و لوکومالاشیت گرین در بدن انسان، اکوسیستم خشکی و آب تجمع می‌یابد و سلامت موجودات زنده را به خطر می‌اندازند(پل و همکاران، ۱۹۸۳). این ماده یک ترکیب بسیار سمی برای سلول‌های پستانداران بوده و تجمع آن در حد ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر برای پستانداران بسیار خطرناک است(پندیکر و همکاران، ۱۹۹۲). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که این ماده باعث سرطانی شدن کبد در موش‌ها و ایجاد تولید مثل غیر عادی در خرگوش‌ها و ماهی‌ها می‌شود(رائو، ۱۹۹۵).

از لحاظ طیف کاربردی، آلویتا مؤثرترین نگاهدارنده در جهان است، چون هم در pH قلیایی و هم در pH اسیدی صد در صد کاربرد دارد. این در حالتی است که سایر نگه‌دارنده‌های شیمیایی، عموماً یا در pH قلیایی و یا در pH اسیدی عمل می‌کنند. آلویتا به عنوان مکمل غذایی در رشد دام و طیور نیز تأثیر مثبت دارد. طبق نظر سازمان بهداشت جهانی آلویتا ماده‌ای بی‌ضرر است و حداکثر مصرف آن تقریباً دو برابر نمک طعام است؛ یعنی این ماده کاملاً سالم و بی‌ضرر است(مهرابیان و همکاران،۱۳۸۱، امتیازجو،۲۰۰۵، فهیم دژبان، ۲۰۰۵). لازم به ذکر است که آلویتا از طرف FDA، از نظر بی‌خطر بودن کاملاً تأیید شده است. مصرف این ماده هیچگونه اثرات نامطلوب زیست محیطی ندارد و از نظر مصرف برای انسان و سایر جانداران اعم از طیور، دام و آبزیان بی‌خطر است. بدین لحاظ و به دنبال اعمال محدودیت مصرف مالاشیت گرین توسط FDA، برای ماهیانی که به مصرف انسان می‌رسند و اثرات بسیار نامطلوب مالاشیت گرین و بی‌خطر بودن کامل آلویتا، بررسی جایگزینی آلویتا به جای مالاشیت‌گرین بررسی و تجزیه تحلیل شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به دو صورت آزمایشگاهی[۱] و محیطی [۲] انجام شد:

۱. Invitro ۲ . Invivo

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

۱. روش آزمایشگاهی

الف) کشت تخم‌های ماهی قزل‌آلا

تخم‌های جمع‌آوری شده در شرایط استریل و دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا در" نیاک" جمع‌آوری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط کاملاً استریل در کمتر از ۴ ساعت به آزمایشگاه حمل شد، تخم‌های جمع آوری شده به روش کشت نقطه‌ای[۱] و مخلوط[۲] بر سطح محیط کشت سابورودکستروز آگار (SDA) کشت داده شدند(هولت و کریگ،۱۹۸۴، امتیازجو، ۲۰۰۵).

در این بررسی ۱۰ تیمار در سه تکرار و یک شاهد انتخاب گردید. نمونه‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت و یک هفته نمونه‌ها بررسی شد. آثار رشد قارچ بر روی آن‌ها نمایان گردیده بود. در نمونه شاهد رشد قارچ دیده نشد. سپس به منظور خالص‌سازی قارچ‌های رشد یافته، از هرتیمار، به روش کشت نقطه‌ای بر روی محیط کشت جامد SDA درسه تکرار کشت داده شد. نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری و بعد از گذشت ۴۸ ساعت، رشد توده قارچی خالص بررسی شد.

با توجه به این که، ساپرولگنیا از قارچ‌های رایج در کارگا ه‌های تکثیر و پرورش ماهی است(مخیر،۱۳۷۴)، برای اطمینان بیش‌تراز رشد قارچ ساپرولگنیا، از محیط کشت شاز[۳] که محیط کشت اختصاصی قارچ ساپرولگنیاست، استفاده گردید(سید خراسانی، ۱۳۸۲). جدول۱، ترکیب محیط کشت شاز را نشان می‌دهد.

جدول۱. ترکیب محیط کشت اختصاصی شاز(سیدخراسانی، ۱۳۸۲)

ماده	مقدار به گرم	ماده	مقدار به گرم
سولفات منیزیم	۰/۵	سولفات منگنز	۰/۷
سولفات سدیم	۰/۵	مالتوز	۱۵
فسفات آمونیوم	۰/۵	ژلوز	۵۰
نیترات پتاسیم	۰/۵	سولفات آهن	بسیار کم

ب) شناسایی قارچ‌ها

برای شناسایی توده قارچی از کشت قارچ بر سطح لام[۴] استفاده شد. در این روش با مشاهده میکروسکوپی میسلیوم‌های رویشی و زایشی، شکل و حالت قرار گرفتن اسپور، کنیدی، کنیدیوفور، اسپورانژیوم، اسپورانژیوفور و غیره که ویژگی‌های مرفولوژیک قارچ را تشکیل می‌دهد، می‌توان برای این مهم در نظر گرفت و قارچ رویش

۱.Point culture ۲.pour plate ۳. Chaze ٤. Slide culture

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

یافته را شناسایی کرد. نمونه‌های خالص سازی شده قارچ پس از کشت بر روی لام در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری شدند، پس از ۴۸ الی۷۲ ساعت توده قارچی رشد کرده و با لاکتوفنل کاتن بلو رنگ‌آمیزی شد. سپس لام‌ها فیکس شده و برای بررسی میکروسکپی آماده گردیدند(هولت و کریگ،۱۹۸۴، امتیازجو، ۲۰۰).

ج) بررسی اثر آلویتا بر توده قارچی

با توجه به اثر قارچ کشی آلویتا، برای به دست آوردن حداقل غلظت مؤثر این ماده بر روی قارچ‌ها، آلویتا با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر با محیط کشت جامد SDA مخلوط شد. در این مرحله توده قارچی خالص‌سازی شده، به روش کشت یک‌نواخت[1]بر روی محیط کشت SDA، در سه تکرار و پنج تیمار کشت داده شد و نتایج بعد از ۴۸ ساعت و یک هفته بررسی شدند(مهرابیان و همکاران، ۱۳۸۱، قربانی نژاد و همکاران ۱۳۸۳، فهیم دژبان، ۲۰۰۵).

۲. روش محیطی

آزمایش‌های محیطی در کارگاه تکثیر و پرورش " نیاک" انجام گرفت. پس از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی، با استفاده از روش‌های استاندارد(موپم،۱۹۸۸)، که در آن اکسیژن محلول با استفاده از روش وینکلر، pH و EC به ترتیب با pH متر (Horiba ساخت ژاپن مدل ۳۲۵) و EC متر (WTW ساخت آلمان مدل ۱۴) و دما با استفاده از ترمومتر اندازه‌گیری شد. در این مرحله ۵ تراف فایبرگلاس انتخاب گردید. تراف‌ها ابتدا با پودر شوینده خوب شستشو داده شده و آب‌کشی شدند، غیر از تراف شاهد و مالاشیت گرین، سایر تراف‌ها با آلویتا به غلظت۱ گرم در لیتر حمام داده شده و بعد آب‌گیری شدند. تراف‌های آماده شده به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفت:

تراف شاهد بدون آلویتا(تراف۱)

آلویتا با غلظت ۲ گرم در لیتر، به مدت نیم ساعت(تراف ۲)

آلویتا با غلظت ۱ گرم در لیتر، به مدت نیم ساعت(تراف۳)

آلویتا با غلظت ۱ گرم در لیتر، به مدت یک ساعت(تراف ۴)

مالاشیت گرین با غلظت ۲ پی پی ام، به مدت یک ساعت(تراف۵)

پس از مراحل تکثیر مصنوعی که شامل تخمک‌گیری، اسپرم‌گیری و در نهایت اختلاط آن‌ها با یکدیگر است، تخم‌ها توزین شد و در انکوباتور قرار گرفتند. ضدعفونی کردن تخم‌ها روزی یک بار با استفاده از روش حمام دادن بر اساس ردیف تراف‌ها انجام شد. همچنین درجه حرارت، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی و pH آب ورودی و خروجی تراف‌ها تا زمان چشم‌زدگی تخم‌ها بررسی شد(موپم،۱۹۸۸). پس از چشم‌زدن تخم‌ها و

۱. Spread method

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

تفکیک انواع سالم از ناسالم و توزین آن‌ها، تخم‌های چشم‌زده در سه تراف(یک شاهد، یک تیمار آلویتا و مالاشیت گرین) قرار داده شدند. در این مرحله نیز تخم‌های چشم‌زده با محلول آلویتا به غلظت ۰/۵ گرم در لیتر به صورت دو روز در میان به مدت یک ساعت و تخم‌های چشم‌زده تراف مالاشیت گرین نیز با غلظت ۱پی پی‌ام، دو روز در میان به مدت یک ساعت ضد عفونی شدند. برای هر کدام از تیمارها سه تکرار انجام گرفت.

نتایج

۱. بررسی آزمایشگاهی

الف) شناسایی توده قارچی

در بررسی لام‌های فیکس شده به روش کشت بر سطح لام، بر اساس ویژگی‌های مرفولوژیک کلنی و همچنین لام‌های رنگ‌آمیزی شده قارچ‌های موکور و رایزوپوس شناسایی شدند(شکل‌های۱ تا ۳).

علی‌رغم کشت تخم‌های جمع‌آوری شده بر روی محیط کشت اختصاصی شاز ویژه قارچ ساپرولگنیا و بررسی نمونه‌ها، در هیچ‌کدام از نمونه‌ها قارچ ساپرولگنیا مشاهده نشد.

ب. بررسی اثر آلویتا بر توده‌های قارچی

بررسی پلیت‌های کشت داده شده بعد از ۴۸ساعت و یک هفته نشان داد که، بر روی نمونه شاهد(بدون آلویتا)، کلنی قارچ رشد کرد و بر روی هیچ یک از تیمارهای حاوی آلویتا هیچ کلنی قارچی مشاهده نشد. در این مرحله، غلظت ۱ گرم در لیتر به عنوان حداقل غلظت مؤثر از بین غلظت‌های آزمایش شده، شناخته شد و برای بررسی بیش‌تر این غلظت درمحیط کارگاه آزمایش شد(شکل۴).

۲. نتایج حاصل از بررسی محیطی

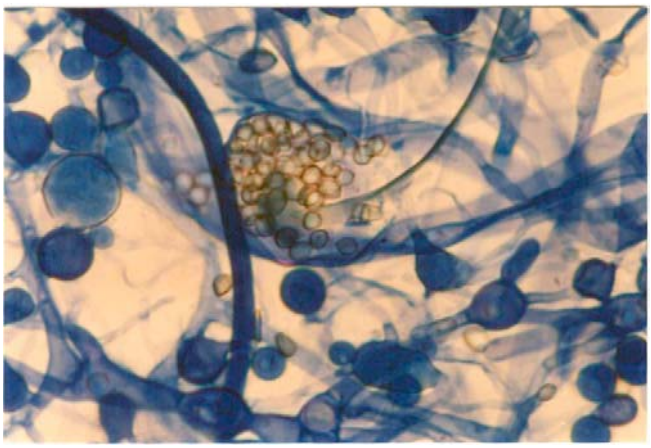
آزمایش‌های محیطی در کارگاه تکثیر و پرورش "نیاک" و در سه تکرار انجام گرفت. ابتدا فاکتورهای فیزیکی و همچنین فیزیکوشیمیایی آب ورودی سالن به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند. نتایج این بررسی در جدول۲ ارائه شده است. بعد از آبگیری تراف‌ها وقرار دادن تخم‌ها در انکوباتورها، طی مراحل انکوباسیون، چهار بار از آب ورودی و خروجی تراف‌ها نمونه برداری شد و خواص فیزیکی و فیزیکوشیمیایی آب بررسی شد(جدول ۲). لازم به ذکر است که میانگین دمای سالن انکوباسیون°C ۱۱/۵ بود. پس از ۲۱ روز تخم‌ها چشم زدند، عملیات تمیزکردن و جداسازی تخم‌های ناسالم از تخم‌های سالم و توزین آن‌ها انجام شد(جدول۳).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

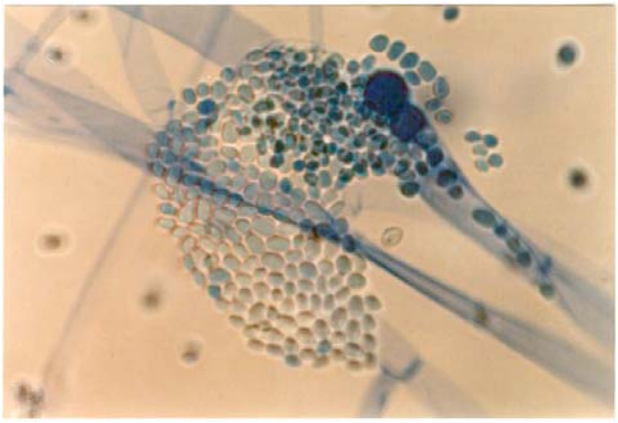
بحث

آنالیز آماری داده‌های حاصل از نتایج مجموعه آزمون‌های انجام شده گویای آن است که :

اختلاف معنی‌داری درتعداد تخم‌های چشم‌زده دوتراف۱ و ۲ بر اساس آزمون آنالیز واریانس با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P =۰/۸۵۷) مشاهده نشد، همچنین با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P= ۰/۳۱۶) بین تعداد تخم‌های چشم‌زده تراف‌های ۱و ۳ وجود ندارد.این اختلاف بین تراف‌های ۱ و ۴ با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P= ۰/۲۹۵) وهمچنین تراف‌های ۱ و۵ ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P=۰/۴۱۶) نیز مشاهده نمی‌شود. در بررسی تراف‌های ۲ و ۵ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس، با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و (P=۰/۰۵۰)، اختلاف معنی‌دار در تعداد تخم‌های چشم‌زده مشاهده نشد، ضمن این‌که با(P=۰/۱۱۶)، بین تراف‌های ۳ و۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و (P=۰/۱۰۰) اثبات گردید، که اختلاف معنی‌داری بین تعداد تخم‌های چشم‌زده بین تراف‌های ۴ و ۵ وجود ندارد.

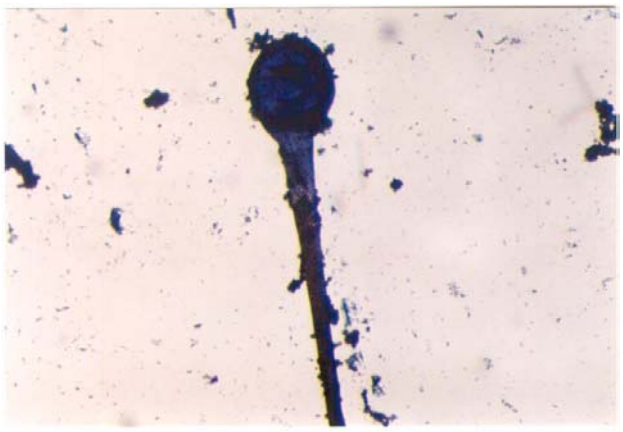


شکل ۱. قارچ موکور خالص‌سازی شده از تخم ماهی قزل آلا،(پاره شدن اسپورانژیوم و خروج اسپورها)



شکل ۲. قارچ رایزوپوس خالص سازی شده از تخم ماهی قزل آلا،(اسپورهای آزاد شده از اسپورانژیوم)

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]



شکل ۳. قارچ رایزوپوس خالص سازی شده از تخم ماهی قزل آلا

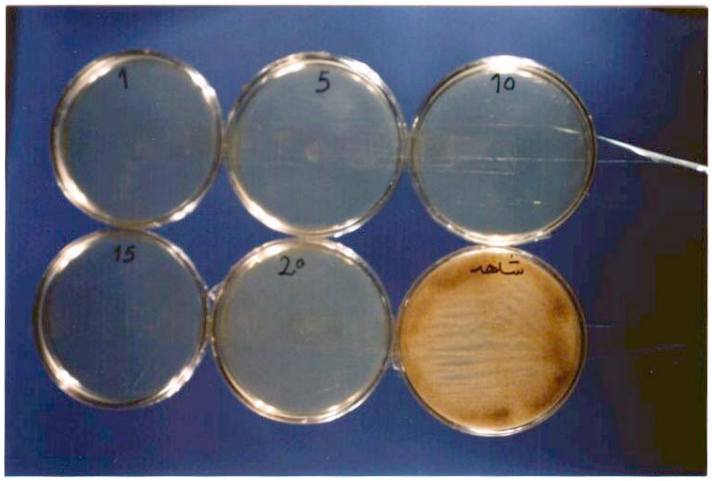
جدول ۲. خواص فیزیکی و فیزیکوشیمیایی آب ورودی و خروجی ترافهای سالن انکوباسیون تخم ماهی قزل آلا

تیمار	دمای آب	اکسیژن محلول	هدایت الکتریکی	pH
آب ورودی	۱۰	۸/۵	۰/۷۱۴	۷/۷۰
خروجی تراف ۱	۱۰	۸/۵	۰/۷۰۷	۷/۷۰
خروجی تراف ۲	۱۰/۵	۸	۰/۷۴۴	۷/۷۴
خروجی تراف ۳	۱۰/۵	۸/۳	۰/۷۴۶	۷/۸۲
خروجی تراف ۴	۱۰/۵	۸/۳	۰/۷۱۹	۷/۷۵
خروجی تراف ۵	۱۰/۵	۸	۰/۷۰۹	۷/۷۷

جدول ۳. میانگین تعداد تخمهای چشمزده و خراب در ترافهای سالن انکوباسیون تخم ماهی قزل آلا

تیمار	تعداد کل تخمها	تعداد تخمهای خراب	تعداد تخمهای چشمزده
میانگین تخمهای چشمزده در تراف(۱)	۲۹۸۹	۹۱۹	۲۰۷۰
میانگین تخمهای چشمزده در تراف(۲)	۲۹۹۵	۸۷۲	۲۱۲۳
میانگین تخمها ی چشمزده در تراف(۳)	۳۴۴۶	۱۰۱۶	۲۴۳۰
میانگین تخمهای چشمزده در تراف(۴)	۳۶۴۳	۱۱۸۲	۲۴۶۱
میانگین تخمهای چشمزده در تراف(۵)	۳۱۷۷	۸۸۲	۲۲۹۵

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]



شکل۴.مقایسه تیمارهای مختلف آلویتا از نظر رشد قارچ با شاهد(بدون آلویتا)

مقایسه تراف‌های۳ و۴ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P=۰/۱۸۳) نشان داد که اختلاف معنی دار بین تعداد تخم‌های چشمزده دوتراف وجود ندارد. بررسی تراف‌های ۲،۳ و۴ بااستفاده ازآزمون آنالیز واریانس باضریب اطمینان ۹۵ درصد و (P=۰/۰۳۰)، نشان داد که بین تعداد تخم‌های چشمزده سه تراف اختلاف معنی‌دار وجود دارد. آزمون آنالیز واریانس با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و (P=۰/۰۳۴) نیز اختلاف معنی‌داری را بین تراف‌های ۲،۳و۵ نشان می‌دهد. این اختلاف بین تراف‌های ۳،۴ و ۵ با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P=۰/۲۶۵) وجود ندارد.

بین تراف‌های ۲،۴ و ۵ با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P=۰/۰۲۹) اثبات گردید، که اختلاف معنی‌دار بین تعداد تخم‌های چشمزده سه تراف ذکرشده وجود ندارد. مقایسه آماری تعداد تخم‌های چشمزده در تراف‌های۲ ۳، ۴ و۵ با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و(P=۰/۰۲۹) نشان داد، که بین تعداد تخم‌های چشمزده تراف‌های مذکور، اختلاف معنی‌داروجود دارد.

بین تراف‌های ۱، ۲، ۳ و۴ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با ضریب اطمینان ۹۵درصد و(P=۰/۰۹۸) نشان داد، که اختلاف معنی دار بین تعداد تخم‌های چشمزده چهار تراف ذکرشده وجود ندارد. مقایسه آماری تراف‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و۵ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با ضریب اطمینان ۹۵ درصد(P=۰/۰۸۹)، نشان داد که اختلاف معنی‌دار بین تعداد تخم‌های چشمزده تراف‌های مذکور وجود ندارد.

نمودار ۱، مقایسه میانگین تعداد تخم‌های چشمزده تراف‌های شاهد(۱)، آلویتا ۲ گرم در لیتر(۲)، آلویتا ۱گرم در لیتر ۳۰ دقیقه (۳)، آلویتا۱ گرم در لیتر ۱ ساعت(۴) و مالاشیت گرین ۲ میلی‌گرم در لیتر(۵) را نشان می‌دهد.

با توجه به تجزیه و تحلیل‌های آماری فوق ملاحضه می‌گردد که بین تخم‌های چشمزده تراف‌های(۲و۳)، (۲و ۴)، (۲،۳ و۴)،(۲،۳ و ۵)،(۲،۴ و ۵) و(۲،۳، ۴ و ۵) تراف مالاشیت گرین و تراف آلویتا اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین با توجه به جدول۳ و نمودار ۱ که میانگین تعداد تخم‌های چشمزده تراف‌های ۱ تا ۵

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

را در سه تکرار بیان کرده است، مشخص می‌شود که در تراف‌های ۳ و ۴ که محتوی آلویتا با غلظت ۱گرم در لیتر هستند، میزان چشم زدگی آن‌ها بیش از تراف‌های ۲(با غلظت ۲ گرم در لیتر آلویتا)، ۱(شاهد، بدون آلویتا) و ۵(مالاشیت گرین با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر) بوده است. با توجه به نمودار ۱ تراف ۲ به طور متوسط دارای تعداد تخم چشم‌زده کم‌تری در مقایسه با تراف ۵ است، در حالی که تراف‌های ۳ و ۴ دارای بیش‌ترین میزان چشم‌زدگی هستند. این امر نشان می‌دهد که غلظت ۲ گرم در لیتر غلظت مناسبی برای استفاده از آلویتا نیست، چون میزان چشم زدگی را کاهش داده و باعث مرگ و میر تخم‌ها شده است.

از طرف دیگر اختلاف معنی‌دار به دست آمده نیز این موضوع را اثبات می‌کند. همچنین در دوران لاروی، در تراف شماره ۲ حالت گیجی وبیهوشی در لاروها مشاهده شد که این امر خود مناسب نبودن غلظت ۲ گرم در لیتر را اثبات می‌کند. با توجه به موارد یاد شده می‌توان گفت که آلویتا با غلظت ۱ گرم در لیتر، می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت گرین با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر باشد.

تا کنون مواد مختلف، با غلظت‌های متفاوت برای جایگزینی با مالاشیت گرین آزمایش شده‌اند. در یک تحقیق مالاشیت گرین به عنوان شاهد، با ۲۵ قارچ کش دیگر مقایسه شد، ولی هیچکدام از آن‌ها، بیش از ۵۰ درصد ASI(شاخص طیف قارچ کشی)، مالاشیت گرین را نداشتند. در نهایت توصیه شد که دو ترکیب دوتر و سولفات اکسی مس، برای بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرر گیرد. طی پژوهشی که در انگلیس انجام شد، ۳۰ ترکیب قارچ کش استفاده شد که در بین آن‌ها، مالاشیت گرین حتی در غلظت‌های کم، مانند یک میلی‌گرم در لیتر، تأثیر قارچ کشی بیش‌تری داشت. ترکیب دیگری به نام دی کلروفن سدیم، نیز قادر است در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر، بر قارچ تأثیر بگذارد، ولی این ترکیب، برای ماهیان به شدت سمی است و منع مصرف دارد(آلدرمن، ۱۹۸۵).

آزمایش ران(Run)، نشان داد که در زمینه پیش‌گیری از رشد قارچ در تخم‌های آزاد ماهیان، در شرایط انکوباسیون، مالاشیت گرین در برابر هفت ترکیب دیگر، بهترین اثر را داشته و استفاده از آن، با غلظت ۲ تا ۱۶ میلی‌گرم در لیتر به مدت یک ساعت و برای هفت روز متوالی، به طور کامل رشد قارچ بر روی تخم‌های مرده را کنترل می‌کند. فرمالین با غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از رشد قارچ جلوگیری می‌کند، ولی در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر قادر به کنترل رشد قارچ نیست. ترکیبات دیگری نیز مورد آزمایش قرار گرفتند که تأثیر چندانی ازخود نشان ندادند،، مانند کارمکس، بنزآلدهید،گلوتارآلدهید، دویسید A، کوترین و دوکسین (ستاری و روستایی، ۱۳۷۸).

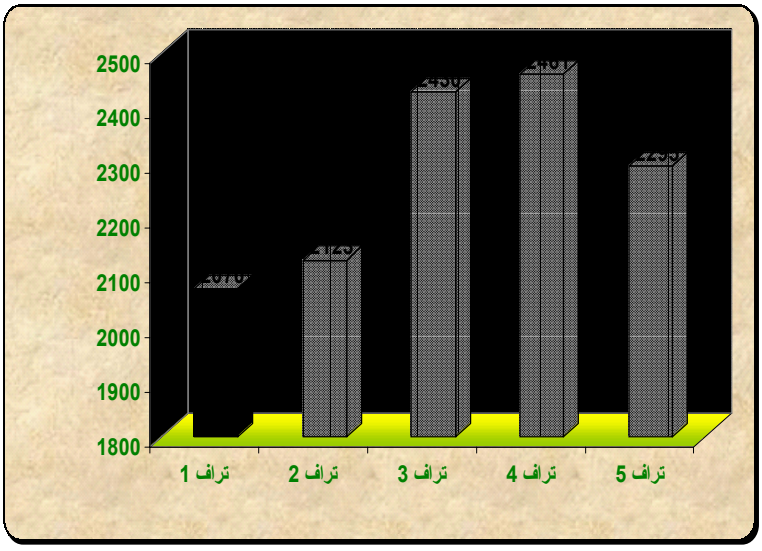
در بسیاری از کشورهای اروپایی از ماده‌ای به نام برنوپول برای مبارزه با قارچ زدگی در دوره انکوباسیون تخم آزاد ماهیان استفاده می‌شود. برنوپول(۲- برومو ۲- نیترو ۱ و ۳ دیول)، به عنوان یک ماده ضد باکتری و ضد قارچ در شامپوها، مواد غذایی و داروها استفاده می‌شود. این ماده برای کنترل رشد قارچ در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

انکوباتورهای تخم ماهی قزل آلا، به میزان ۵۵ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه استفاده می‌شود. این عمل ۸ بار و هر بار به مدت ۳۰ دقیقه طی یک دوره انکوباسیون قابل تکرار است. این ماده نیز دارای اثرات جانبی مضر است(آی ام ای آ، ۲۰۰۱).

در ایران از داروها و مواد شیمیایی مختلفی برای مبارزه با قارچهای مزاحم در مراحل انکوباسیون تخم ماهی استفاده شده است که عبارتند از پرمنگنات پتاسیم، متیلن بلو، اسید استیک، فرمالین، مخلوط فرمالین و مالاشیت گرین، تانن و سولفات مس(آذری تاکامی، ۱۳۷۶). از بین مواد آزمایش شده جهت جایگزینی با مالاشیت گرین، پرمنگنات پتاسیم اثر قارچ کشی بالایی داشته ولی درصد لاروآوری را کاهش می‌دهد. متیلن بلو و اسید استیک نیز اثر قارچ کشی بالایی داشته ولی سبب مرگ و میر لاروها می‌گردد.

با توجه به آزمایش‌های انجام شده و نتایج به دست آمده و با توجه به نبودن اختلاف معنی‌دار بین غلظت ۱ گرم در لیتر آلویتا با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر مالاشیت گرین(ضریب اطمینان ۹۵ درصد و P=۰/۲۶۵)، می‌توان گفت که آلویتا با غلظت ۱ گرم در لیتر به مدت نیم تا یک ساعت می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت گرین با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت یک ساعت باشد. یعنی حداقل غلظت مؤثر به عنوان بهترین غلظت است.



نمودار ۱ : مقایسه میانگین تعداد تخمهای چشمزده تراف‌های ۱(شاهد)، ۲(آلویتا ۲ گرم در لیتر)، ۳(آلویتا ۱گرم درلیتر ۳۰ دقیقه)، ۴(آلویتا ۱گرم درلیتر ۱ ساعت) و ۵(مالاشیت گرین ۲ میلی‌گرم در لیتر) در سالن انکوباسیون تخم ماهی قزل آلا

آزمایش‌های انجام شده اثبات کرد که آلویتا با غلظت ۲ گرم در لیتر سبب از بین رفتن تخمها شده و میزان چشمزدگی را به شدت کاهش می‌دهد و همین امر سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در تعداد تخمهای چشمزده تراف ۲ با سایر تراف‌ها و تراف محتوی مالاشیت گرین شده است. همچنین در دوران لاروی در تراف محتوی ۲ گرم در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

لیتر آلویتا، حالت گیجی و بیهوشی در لاروها ایجاد می‌شد، که نشان می‌دهد غلظت مناسب استفاده نشده است. با توجه به نبودن اختلاف معنی‌دار بین شاهد آزمایش(تراف۱) با تیمارهای حاوی آلویتا و مالاشیت گرین، پیشنهاد می‌شود از آلویتا با غلظت ۱ گرم در لیتر به عنوان جایگزین آلویتا در مراحل تکثیر ماهی قزل آلا استفاده نمود.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، مدیریت بهداشتی و روش‌های پیشگیری و درمان بیماری‌های ماهی. تبریز. انتشارات پریور (۱۳۷۶).

۳. ستاری، م. و م. روستایی، بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان(۱۳۷۸).

۴. سید خراسانی، ی.، اصول قارچ شناسی. تهران. انتشارات عامری(۱۳۸۲).

۵– قربانی نژاد، ا.؛ امتیازجو، م، بررسی قارچهای آب توازن کشتی‌های تجاری در دریای خزر در منطقه بندر انزلی، دومین همایش ملی بحران‌های زیست محیطی ایران و راهکارهای بهبود آن ، ایران – اهواز(۱۳۸۳).

۶. مخیر، ب.، بیماری‌های ماهیان پرورشی. تهران. انتشارات دانشگاه تهران(۱۳۷۴).

۷. مهرابیان، ص؛ هادی زاده، آ؛ امتیازجو، م؛ محمدیان، ز، ۱۳۸۱، اثر دی استات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد بر فلور باکتریایی و باکتری‌های سرما گرا و پروتئولیزی میگو ، مجله علمی پژوهشی زیست شناسی، جلد ۱۲ شماره ۱و ۲، بهار – تابستان(۱۳۸۱)

8. D.J. Alderman, Malachite green: A review. Jour. *Fish Disease*, No.8 (1985) 289-298.

9. J.L. Allen, J.E. Gofus, and J. R. Meinertz, Determination of malachite green residues in the eggs, fry and adult muscle tissue of rainbow trout, Jour.Assoc. *Off. Chem*., No.77(1994) 553-557.

10. S.J. Clup, and F.A. Beland, Malachite green: A toxicological review. Jour. Am.*coll. Toxicology*, No.15 (1996) 219-238.

11.EMEA, Committee for Veterinary Medicinal Products Bronopol Summary Report,Pub. London UK. (2001) 459.

12. Moz. Emtyazjoo, L. Shekhi moghadam, Alvita is an alternative for malachite green during incubation phases of trout eggs, European aquaculture congress-Slijkensesteenweg-Norway (2005).

13.Y. Fahimdezban, H. Emadi, Moz. Emtyazjoo, M. Givian rad, R. Pour gholam, Effect of sodium diacetate preservative on the Cavar of Acipencer persicus during cold storage,European aquaculture congress- Slijkensesteenweg-Norway (2005).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]

14. F.P. Meyer, and R.A. Schnick, A review of chemical used for the control of fish disease, Pub. London UK (1987) 693-710.

15. J. Holt, Krieg, N., Bergy's manual of systematic bacteriology, Newyork (1984).

16. A. Panadikar, C. Fernandes, and K.V.K. Rao, The cytotoxic properties of malachite green are associated with the increased demethylase, Lett.NO.67 (1992) 93-101

17. W.E. Poe. and R.P. Wilson, Absorption of malachite green by channel catfish, Fish-Culture, No. 45(1983) 228-229.

18. K.V.K. Rao. Inhibition of DNA Synthesis in primary rat hepatocyte culture by malachite green: a new liver promoter, toxicology lett., No.81(1995)107-113.

19. MOOPAM, Printing workshop on microbiological monitoring of coastal recreational waters (1988) 25-41

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-22]