

بررسی اثر ضد قارچی عصاره متانولی میوه سماق طی دوره انکوباسیون تخم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

سعید کیخا^{۱*} احمد قرایی^{۱،۲} جواد میردادره بيجانی^۱ مصطفی غفاری^۲ عبدالعلی راهداری^۳

(۱) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل، زابل-ایران

(۲) گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی چابهار، چابهار-ایران

(۳) گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل، زابل-ایران

(دریافت مقاله: ۱۵ بهمن ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۶ فروردین ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: امروزه استفاده از مواد شیمیایی نظیر مالاشیت گرین جهت ضد عفونی تخم ماهیان به دلیل مشکلات زیست محیطی آنها در بسیاری از کشورهای جهان ممنوع شده است. **هدف:** هدف از این مطالعه بررسی عصاره میوه گیاه سماق به عنوان ماده ضدقارچ در طی دوره انکوباسیون تخم‌های ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* و مقایسه اثرات آن با مالاشیت گرین است. **روش کار:** بدین منظور ۲۴ ساعت پس از لقاح، جهت ضد عفونی تخم‌های ماهی سفیدک، عصاره متانولی میوه سماق در چهار گروه با غلظت ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰ و سه تکرار به ازای هر غلظت به صورت حمام ۲۰ دقیقه‌ای به فاصله هر ۱۲ ساعت و گروه مالاشیت گرین با غلظت ۰/۱ mg/L به صورت حمام ۶ دقیقه‌ای و دو بار در روز استفاده شد. گروه شاهد نیز بدون استفاده از مواد ضدقارچی و با شرایط یکسان با سایر تیمارها مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان درصد قارچ زدگی برای گروه شاهد به میزان ۲۰/۲۳±۵/۷۵٪ و کمترین آن برای تیمار ۱۲۵۰ mg/L عصاره سماق به میزان ۰/۵۱±۰/۹۱٪ بدست آمد. همچنین بررسی نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای غلظت‌های مختلف سماق با هم و همچنین با گروه مالاشیت گرین از نظر قارچ زدگی، درصد لقاح و بازماندگی وجود ندارد ($p < 0/05$). نتیجه‌گیری نهایی: از آنجا که هیچگونه بدشکلی و ناهنجاری ظاهری در لاروهای تفریخ شده مشاهده نشد لذا عصاره میوه گیاه سماق با غلظت ۵۰۰ mg/L می‌تواند بعنوان ماده ای ضد قارچ و بی خطر برای انسان و محیط زیست جهت ضد عفونی تخم‌های ماهی سفیدک سیستان طی دوره انکوباسیون بکار رود.

واژه‌های کلیدی: ضد قارچ، تخم ماهی، عصاره متانولی سماق، سفیدک سیستان

مقدمه

پیشگیری یا درمان عارضه قارچ زدگی در تخم‌های بارور استفاده از مالاشیت گرین می‌باشد که با توجه به آثار سوء سرطان زایی، زیست محیطی و ناقص الخلقه زایی آن، ممنوعیت استفاده از آن در بسیاری از کشورهای جهان به طور کامل برای تمام ماهیان یا حداقل ماهیان خوراکی اعمال شده است (۱۲). همچنین مشخص شده است که باقیمانده‌های بسیار ناچیز از مالاشیت گرین در ماهیان رشد یافته از تخم‌هایی که در معرض این ماده بوده‌اند تا مرحله بازاری باقی خواهند ماند از این رو صنعت پرورش ماهی برای جایگزینی مالاشیت گرین به ماده مؤثر ضد قارچ که از لحاظ درمانی و تأثیرات جنبی ایمن باشد نیاز دارد (۱۰). اقبال عمومی به کاهش مصرف سموم، پژوهش‌گران را بر آن داشته تا درصدد دستیابی به ترکیبات طبیعی تر و سازگار با محیط زیست برآیند. متابولیت‌های گیاهی به عنوان یک ذخیره عظیم و ارزشمند می‌توانند در این زمینه راه گشا باشند و گیاهان همواره به عنوان یک منبع مهم از ترکیبات فعال زیستی مورد توجه بوده‌اند (۱۳). یکی از این گیاهان که می‌توان به آن اشاره کرد سماق می‌باشد که به علت داشتن منابع آنتی اکسیدانی دارای خاصیت ضد میکروبی است (۶). تاکنون تعدادی از گونه‌های باکتری در معرض عصاره سماق قرار گرفته و اثر آن بر روی آنها سنجیده شده است که نتایج حاصل از این گزارش‌ها نشان می‌دهد عصاره‌های اتانولی و متانولی این گیاه اثر ضد میکروبی بهتری در

ماهی *Schizothorax zarudnyi* با نام محلی ماهی سفیدک، تا قبل از خشکسالی در رودخانه‌ها و تالاب‌هامون (آبهای ساکن) منطقه سیستان زندگی و تخم ریزی می‌نمود (۱۹). با کاهش تخم ریزی طبیعی این ماهی، وضعیت آب و هوایی منطقه و خشکسالی‌های طولانی مدت منطقه سیستان، این گونه در معرض نابودی قرار گرفته است (۲۰). خوشبختانه با انجام موفقیت آمیز تکثیر مصنوعی این ماهی با استفاده از هورمون Ovaprim توسط Gharaei و همکاران در سال ۲۰۱۱ همه ساله بچه ماهیان تولید شده در مرکز تکثیر ماهیان بومی شهرستان زهک در چاه نیمه‌های سیستان به منظور حفظ و بازسازی ذخایر ماهیان بومی رهاسازی می‌شوند.

یکی از مهمترین عوامل زیان آور در صنعت آبی پروری بیماری‌های قارچی می‌باشند که از نظر درجه اهمیت پس از بیماری‌های باکتریایی قرار دارند (۵). این بیماری‌ها از اصلی ترین مشکلات دوران انکوباسیون تخم ماهیان محسوب می‌شوند (۴). ساپروولگنیوز از دسته عفونت‌های قارچی و مهمترین بیماری قارچی ماهیان و تخم آنها می‌باشد (۱۴). ساپروولگنیاز از طریق چسبیدن و نفوذ به دیواره سلول‌های مردهو نیز از طریق تخم‌های مرده به تخم‌های سالم سرایت می‌کند (۵). از متداول ترین روش‌های



عصاره متانولی میوه سماق آغاز گردید. بدین منظور هر ۱۲ ساعت تخم‌ها از درون ویس به داخل تشتک‌ها سیفون شده و بوسیله هوا ده جریان هوا درون تشتک‌ها برقرار شد. به طور همزمان عملیات ضد عفونی برای تیمار مالا شیت گرین نیز به فاصله هر ۱۲ ساعت با غلظت 0.1 mg/L به مدت ۶ دقیقه در روز انجام شد. همچنین سه عدد انکوباتور ویس (گروه شاهد) نیز به صورت شاهد طبیعی و با نظارت کامل منطبق با تمام شرایط سایر تیمارها مورد آزمایش قرار گرفتند. به دلیل اینکه لارو ماهی سفیدک سیستان پس از خروج از تخم قدرت شنای زیادی ندارد و نمی‌تواند خود را به قسمت بالایی ویس برساند، احتمال خفگی آنها زیاد می‌باشد. بدین جهت تخم‌ها پس از چشم زدگی از انکوباتورهای ویس به داخل تراف‌ها منتقل شده و تا خروج لارو از تخم، عملیات ضد عفونی همچنان در داخل تشتک‌ها به همراه جریان هواده‌ها انجام شد. پس از تفریح کامل تخم‌ها، تعداد تخم‌های سفید و قارچ زده هر یک از تیمارها محاسبه شده و با توجه به فرمول زیر درصد تخم قارچ زده در هر تیمار مشخص شد:

تعداد کل تخم / $100 \times$ (تعداد تخم قارچ زده - تعداد کل تخم) = درصد تخم قارچ زده

درصد تخم قارچ زده - $100 =$ درصد تخم قارچ زده
درصد تفریح نیز پس از جمع آوری لاروهای هر یک از تیمارها در تراف‌های جداگانه با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۶):

تعداد کل تخم / $100 \times$ (تعداد تخم تلف شده - تعداد کل تخم) = درصد تفریح

پس از چشم زدگی تخم‌ها، تخم‌های مربوط به هر یک از تیمارها تا زمان تفریح در تراف‌های جداگانه نگهداری شدند. هدف از این کار جداسازی لارو مربوط به هر یک از تیمارها بود تا در صورت هر گونه تغییر فرم بدنی، اثر هر یک از تیمارها بر شکل ظاهری لاروها مشخص گردد. برای آنالیز داده‌های حاصل از آزمایشات، ابتدا در محیط نرم افزاری SPSS ویرایش شانزدهم نرمال بودن آنها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی گردید. برای مقایسه کلی بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌دار بودن برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج

در این تحقیق سعی شد تا کلیه فاکتورهای محیطی نظیر دمای آب، طول مدت روشنائی، جریان آب در انکوباتورها و سایر شرایط تحت کنترل قرار گیرد. عوامل فیزیکی شیمیایی محیط آزمایش شامل دما، شوری، pH آب اندازه گیری و ثبت شد. به طوری که میانگین 7.5 ± 0.16 ، pH میانگین شوری 0.4 ± 0.3 و میانگین دمای آب نیز طی دوران انکوباسیون 17.8 ± 1.3 بدست آمد.

نتایج مربوط به درصد لقاح در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنان

مقایسه با سایر عصاره‌های تهیه شده از خود نشان داده اند (۱۷). با توجه به اثرات مخرب استفاده از مواد شیمیایی در درمان عارضه قارچ زدگی تخم‌ها، هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد قارچی تیمارهای مختلف عصاره متانولی سماق به عنوان یک ماده گیاهی طی دوران انکوباسیون تخم ماهی سفیدک سیستان می‌باشد.

مواد و روش کار

جهت انجام آزمایشات ابتداء عصاره متانولی میوه سماق تهیه شد. برای این منظور مقداری میوه سماق را پس از خشک کردن، آسیاب کرده سپس به ازای هر گرم سماق پودر شده، مقدار 100 CC متانول به آن اضافه و محلول تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. بعد از گذشت زمان مورد نظر، محلول تهیه شده بوسیله کاغذ صافی واتمن شماره چهار صاف شد. عصاره بدست آمده با دستگاه روتاری تغلیظ شد. باقیمانده حلال نیز در دمای آزمایشگاه تبخیر شد (۳).

پس از تهیه عصاره متانولی میوه سماق، ادامه کار تحقیقی مورد نظر در نیمه اول اسفند سال ۱۳۹۱ به مدت ده شبانه روز در مرکز تکثیر ماهیان بومیزهک وابسته به اداره کل شیلات سیستان پی گیری شد. بمنظور یکسان کردن شرایط برای همه انکوباتورهای ویس نیز از یک مولد ماده جهت استحصال تخم استفاده شد.

بطوریکه پس از تخمکشی از ماهی ماده و انجام لقاح مصنوعی، سه بار از تخم‌ها جهت تعیین تعداد تخم در هر سی سی نمونه برداری شد و کشت تخم‌های آب کشیده در انکوباتورها انجام شد. کلیه عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط آزمایش شامل pH، دما و شوری آب هم به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت گردید.

در این تحقیق، جهت ضد عفونی کردن تخم‌ها و تعیین غلظت‌های قابل استفاده برای هر یک از تیمارها از تعداد ۱۸ عدد ویس در شش گروه آزمایشی استفاده شد. که به صورت سه تکرار برای تیمارهای 500 mg/L ، 750 ، 1000 و 1 mg/L و گروه کنترل بدون استفاده از هیچ ماده ضد عفونی کننده به کار رفت. مقدار تخم برای هر یک از تیمارها 90 CC در نظر گرفته شد که به میزان 30 CC در سه عدد ویس (سه تکرار) قرار گرفت. از طرفی تعداد تخم بطور میانگین در هر $3 \pm 4 \text{ CC}$ عدد بدست آمد.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان انکوباسیون برای تعیین درصد لقاح، سه بار نمونه گیری تخم از ویس‌ها به صورت تصادفی انجام شده و درصد لقاح با توجه به فرمول زیر تخمین زده شد (۲):

تعداد کل تخم / $100 \times$ (تعداد تخم لقاح نیافته - تعداد کل تخم) = درصد لقاح

عملیات درمانی به صورت حمام ساکن به مدت زمان ۲۰ دقیقه با استفاده از غلظت‌های 500 ، 750 ، 1000 و 1250 mg/L برای تیمارهای



جدول ۱. میانگین درصد لقاح، درصد قارچ زدگی، درصد تخم قارچ نزده و درصد تفریح در تیمارهای مختلف (حروف لاتین مشابه در هر ردیف نشانه عدم تفاوت معنی دار بین گروه‌ها می‌باشد).

تیمار	شاهد	مالاشیت‌گرین	۵۰۰ mg	۷۵۰ mg	۱۰۰۰ mg	۱۲۵۰ mg
درصد لقاح	۸۰/۱۳۳/۷۱ ^a	۸۰/۵۴±۷۹ ^a	۸۰/۰۴±۲/۷۸ ^a	۷۹/۸۲±۲/۶۱ ^a	۸۰/۳۲±۲/۳۲ ^a	۸۰/۳۹±۰/۷۵ ^a
درصد قارچ زدگی تخم	۲۰/۲۳±۵/۷۵ ^a	۳/۳۶±۰/۶۶ ^b	۲/۳±۰/۷ ^b	۱/۴۷±۰/۰۷ ^b	۱/۱۱±۰/۴۳ ^b	۰/۹۱±۰/۵۱ ^b
درصد تخم قارچ نزده	۷۹/۷۷±۵/۷۵ ^b	۹۶/۶۶±۰/۶۷ ^a	۹۷/۷±۰/۷ ^a	۹۸/۵۲±۰/۳۵ ^a	۹۸/۸۸±۰/۴۳ ^a	۹۹/۰۸±۰/۳ ^a
درصد تفریح تخم	۴۱/۸۶±۱۱/۹۱ ^b	۶۵/۷۷±۲/۷۶ ^a	۵۰/۲۴±۲/۹۵ ^{ab}	۵۶/۳۶±۲/۱۳ ^{ab}	۶۰/۵±۲/۸ ^a	۶۱/۷±۴/۸ ^a

جدول ۲. میانگین تخم‌های مرده، تفریح شده و قارچ زده ماهی سفیدک سیستان طی هفت روز انکوباسیون و تیمار با عصاره متانولیسماق (حروف لاتین مشابه در هر ردیف نشانه عدم تفاوت معنی دار بین گروه‌ها می‌باشد)

تیمار	شاهد	مالاشیت‌گرین	۵۰۰ mg	۷۵۰ mg	۱۰۰۰ mg	۱۲۵۰ mg
کل تخم	۳۹۶۰	۳۹۶۰	۳۹۶۰	۳۹۶۰	۳۹۶۰	۳۹۶۰
تعداد تخم مرده	۲۶۷±۱۵۷/۲۷ ^a	۴۵۱±۳۶/۵۵ ^b	۶۵۶±۳۹/۰۶ ^{ab}	۵۷۶±۲۸/۱۶ ^{ab}	۵۲۱±۳۷/۰۷ ^b	۵۰۵±۶۳/۶۸ ^b
تعداد تخم تفریح شده	۵۵۲±۱۵۷/۲۷ ^b	۸۶۸±۳۶/۵۵ ^a	۶۶۶±۴۰/۴۵ ^{ab}	۷۴۴±۲۸/۱۶ ^{ab}	۷۹۸±۳۷/۰۷ ^a	۸۱۴±۶۳/۶۸ ^a
تعداد تخم قارچ زده	۲۶۷±۷۵/۹۷ ^a	۴۴±۸/۸ ^b	۳±۹/۲۹ ^b	۱۹±۴/۷۲ ^b	۱۴±۵/۶۸ ^b	۱۲±۲/۶۴ ^b

($p < 0.05$). همچنین مشخص شد که تعداد تخم قارچ زده در تیمارهای عصاره سماق و گروه مالاشیت‌گرین به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p > 0.05$).

طی بررسی نتایج حاصل از تعداد تخم‌های تلف شده مشخص شد که بین تیمارهای عصاره سماق با هم و با گروه مالاشیت‌گرین و همچنین تعداد تخم‌های تلف شده در تیمارهای ۵۰۰ mg/L و ۷۵۰ mg/L عصاره سماق با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p < 0.05$). علاوه بر این مشخص شد که تعداد تخم‌های تلف شده در تیمارهای ۱۰۰۰ mg/L و ۱۲۵۰ mg/L عصاره سماق و گروه مالاشیت‌گرین به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد است ($p > 0.05$).

با توجه به نتایج مربوط به تعداد تخم‌های سالم تا مرحله تفریح در هر یک از تیمارها، میزان تعداد تخم سالم تا مرحله تفریح بین تیمارهای عصاره سماق با گروه مالاشیت‌گرین و همچنین تعداد تخم‌های سالم در تیمارهای ۵۰۰ mg/L و ۷۵۰ mg/L عصاره سماق با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p < 0.05$). علاوه بر این تعداد تخم سالم در تیمارهای ۱۰۰۰ mg/L و ۱۲۵۰ mg/L عصاره سماق و گروه مالاشیت‌گرین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بودند ($p > 0.05$).

از آنجایی که تخم‌های هر یک از تیمارها تا زمان تفریح در ترفاه‌های جداگانه نگهداری شد، لاروهای متعلق به هر یک از تیمارها تا سه روز پس از تفریح مورد بررسی قرار گرفت اما هیچگونه تغییر شکل ظاهری در لاروهای مربوط به هر یک از تیمارها مشاهده نشد.

بحث

با توجه به اینکه قارچ‌های آبی بویژه خانواده ساپروولگنیاسه در منابع آبی تأمین‌کننده مراکز تکثیر وجود دارند و موجب کاهش تولید این مراکز می‌شوند (۱۸) و همچنین ممنوعیت استفاده از موادی نظیر مالاشیت‌گرین، یافتن داروی جایگزین مناسب‌نظیر استفاده از مواد گیاهی و یا ترکیباتی که

که مشخص است با توجه به نتایج مذکور بیشترین میزان درصد لقاح برای گروه مالاشیت‌گرین به میزان ۸۰/۵۴٪ و کمترین آن برای گروه شاهد به میزان ۸۰/۱۳۳٪ بدست آمد. با این حال مقایسه آماری این نتایج نشان می‌دهد که میزان درصد لقاح بین تیمارهای عصاره سماق با گروه مالاشیت‌گرین و همچنین با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p < 0.05$).

با توجه به نتایج مربوط به درصد قارچ زدگی که در ۱ نشان داده شده است بیشترین میزان درصد قارچ زدگی برای گروه شاهد به میزان ۲۰/۲۳٪ و کمترین آن برای تیمار ۱۲۵۰ mg/L عصاره سماق به میزان ۰/۹۱٪ بدست آمد. مقایسه نتایج آماری مربوط حاکی از آن است که میزان درصد قارچ زدگی بین تیمارهای عصاره سماق با گروه مالاشیت‌گرین تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p < 0.05$). همچنین مشخص شد که میزان درصد قارچ زدگی در تیمارهای عصاره سماق و گروه مالاشیت‌گرین به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p > 0.05$).

نتایج مربوط به درصد تفریح (جدول ۱) نشان می‌دهد که در بین گروه‌های مورد مطالعه بالاترین میزان درصد تفریح برای گروه مالاشیت‌گرین به میزان ۹۷/۷۷٪ و کمترین آن برای گروه شاهد به میزان ۴۱/۸۶٪ بدست آمد. بررسی‌های آماری نشان دهنده این موضوع می‌باشد که میزان درصد تفریح بین تیمارهای عصاره سماق با گروه مالاشیت‌گرین و همچنین میزان درصد تفریح در تیمارهای ۵۰۰ mg/L و ۷۵۰ mg/L عصاره سماق با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p < 0.05$). علاوه بر این مشخص شد که میزان درصد تفریح در تیمارهای ۱۰۰۰ mg/L و ۱۲۵۰ mg/L عصاره سماق و گروه مالاشیت‌گرین به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد است ($p > 0.05$).

نتایج حاصل از تعداد تخم‌های سالم و تلف شده در هر یک از تیمارها در جدول (۲) ارائه شده است. مقایسه نتایج آماری مربوط به تعداد تخم قارچ زده حاکی از آن است که میانگین تعداد تخم قارچ زده بین تیمارهای عصاره سماق با گروه مالاشیت‌گرین تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند



شد اسانس گیاهانی که دارای کاربوفیلین هستند دارای خاصیت ضد میکروبی و قارچی خوبی می‌باشند می‌توان اظهار داشت که به دلیل اینکه بخش عمده‌ای از عصاره میوه سماق را کاربوفیلین تشکیل می‌دهد بنابراین دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی می‌باشد.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه گروه شاهد دارای کمترین درصد تفریخ ($11/9 \pm 41/86\%$) بوده که دلیل اصلی آن درصد بالای قارچ زدگی در این تیمار نسبت به سایر تیمارها می‌باشد. همچنین در بین تیمارهای عصاره سماق، تیمار 1250 mg/L دارای بیشترین درصد تفریخ به میزان $63/94\%$ بوده که علت آن را می‌توان غلظت مناسب عصاره سماق در این تیمار نسبت به سایر تیمارهای عصاره سماق دانست. طی مطالعه مشابهی ارزیابی اثرات اسانس آویشن شیرازی بر میزان تفریخ تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان و درصد بقای لارو آن در مقایسه با آب اکسیژنه و مالاشریت‌گرمین مورد بررسی قرار گرفت که در آن استفاده از غلظت میلی گرم در لیتر اسانس آویشن به مدت یک ساعت در روز منجر به $63/94\%$ بازماندگی تخم تا مرحله تفریخ و $89/13\%$ تا تولید لارو یک گرمی گردید (۱۸). در تحقیقی دیگر Sharif Rohani و همکاران در سال 2009 غلظت‌های 1 mg/L ، 5 mg/L ، 10 mg/L ، 25 mg/L و 50 mg/L اسانس آویشن شیرازی در فاصله زمانی ۲۴ ساعت پس از لقاح تا مرحله چشم زدگی در دمای 11°C به مدت یک ساعت در روز را استفاده نمودند که بیشترین درصد تفریخ تخم به میزان $34/4\%$ در تیمار 10 mg/L حاصل شد (۱۷).

در زمینه استفاده از قارچ کش‌های طبیعی در کارگاه‌های تکثیر ماهی در مطالعه دیگر با اسانس اکالیپتوس در کنترل آلودگی‌های قارچی تخم استحصالی از مولدین ۴ ساله قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. طی این مطالعه اکالیپتوس در دوزهای 25 ppm و 50 ppm و 100 ppm از لحاظ خاصیت ضد قارچی اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد. در مقایسه میزان درصد تفریخ نیز تیمار 25 ppm با $15/9\%$ بالاترین درصد تفریخ را داشته است (۷). طی بررسی حاضر در بین تیمارهای عصاره سماق، تیمار 1250 mg/L دارای بیشترین درصد تفریخ به میزان $63/94\%$ بوده است که می‌توان آن را در مقایسه با بیشترین درصد تفریخ در مطالعات مشابه ذکر شده (استفاده از گیاهان آویشن و اکالیپتوس) قابل قبول دانست.

همچنین پس از تفریخ، لاروهای مربوط به هر یک از تیمارهای عصاره سماق از لحاظ شکل ظاهری مورد بررسی قرار گرفت که طی آن هیچگونه بد شکلی و تغییر فرم بدنی در لاروها مشاهده نشد. طی مطالعه مشابهی که به بررسی اثر حمام تخم‌ها با مالاشریت‌گرمین در ایجاد ناهنجاری و تغییرات ظاهری در لاروهای کپور نقره‌ای پرداخته شد، هیچ رابطه‌ی معنی‌داری بین مالاشریت‌گرمین و میزان بد شکلی ستون مهره‌ها مشاهده نشد (۱۵). اگر چه مالاشریت‌گرمین هم به عنوان یک ماده شیمیایی باعث تغییر ظاهری فرم

کمترین مشکلات زیست محیطی را در بر داشته باشند، امری ضروری در مراکز تکثیر محسوب می‌شوند.

طی مطالعه حاضر به منظور دستیابی به درصد لقاح تقریباً برابر در تیمارهای مختلف و همچنین یکسان بودن شرایط آزمایش، برای همه تیمارها از یک مولد ماده جهت استحصالی تخم استفاده شد، که در نتیجه آن بین میزان درصد لقاح در تیمارهای عصاره سماق، مالاشریت‌گرمین و گروه شاهد با هم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعه مشابهی Abtahi و همکاران در سال 2006 به مقایسه اثرات ضد قارچی فرمالین، مالاشریت‌گرمین و پرمنگنات پتاسیم در تاس ماهی ایرانی پرداختند که طی آن به دلیل استفاده از تخم استحصالی از یک مولد ماده درصد لقاح برای همه تیمارها 77% بدست آمد.

طی استفاده از عصاره سماق در تکثیر ماهی سفیدک و اثرات ضد قارچی آن در مراحل انکوباسیون تخم این ماهی، نتایج نشان داد که بیشترین میزان قارچ زدگی مربوط به گروه شاهد به میزان $20/23 \pm 5/75\%$ می‌باشد که با تیمارهای عصاره سماق و مالاشریت‌گرمین تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. دلیل این تفاوت را می‌توان استفاده نکردن از هیچگونه ماده ضد عفونی کننده در گروه شاهد دانست. کمترین میزان قارچ زدگی نیز در تخم‌های تیمار 1250 mg/L عصاره سماق به میزان $0/92 \pm 0/2\%$ بدست آمد که می‌توان دلیل آن استفاده از غلظت بالای عصاره سماق در این تیمار نسبت به سایر تیمارها دانست. همچنین می‌توان اذعان نمود که عصاره متانولی سماق دارای اثر ضد قارچی قابل توجه در مقایسه با مواد رایج مانند مالاشریت‌گرمین است که به علت خاصیت ضد عفونی کنندگی قوی‌شان به میزان زیادی مورد توجه می‌باشند. در مطالعه مشابه اثر ضد قارچی عصاره گیاه سماق بر روی چهار گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum*، *Bipolaris sorokiniana*، *Phytophthora drechsleri*، مورد مطالعه قرار گرفت. چنانچه از نتایج این پژوهش بر می‌آید هر چهار گونه مورد بررسی در این پژوهش تحت تأثیر اثر بازدارندگی عصاره خام سماق قرار گرفته‌اند که این مسئله بیانگر طیف گسترده اثرات ضد قارچی عصاره سماق می‌باشد (۱). یکی از پیامدهای سوء زیست محیطی ناشی از مصرف قارچ‌کش‌های شیمیایی ماندگاری بالای بسیاری از آفت‌کش‌ها در طبیعت است که موجب آلودگی محیط زیست می‌شود (۱۳). استفاده از عصاره متانولی سماق به عنوان یک قارچ‌کش طبیعی علی‌رغم کارایی بالا، نسبت به مواد شیمیایی نظیر مالاشریت‌گرمین با سرعت بیشتری تجزیه شده و پس از بازگشت به محیط سبب آلودگی محیط زیست نمی‌شود و همچنین هیچگونه ضرر و خطری از جانب عصاره‌های گیاه سماق برای سلامتی مصرف کننده اعم از انسان یا موجودات دیگر عنوان نشده است. از اجزای اصلی عصاره سماق بتاکاربوفیلین ($30/7\%$) و سمبرن ($21/4\%$) می‌باشد (۸). با توجه به بررسی Pichette و Legault در سال 2007 که در آن مشخص



References

1. Abdolmaleki, M., Panjeke, N., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S. (2008) Antifungal activity of extracts of different sumac (*Rhus coriaria* L.) organs on four phytopathogenic fungi species. *Agric Res.* 4: 121-131.
2. Abtahi, B., Nazari, R.M., Rasuli, A., Shafiezhade, P. (2006) Comparison of antifungal therapeutic indices of formalin, malachite green and potassium permanganate on Persian sturgeon in farming conditions of north of Iran. *Pajouhesh & Sazandegi.* (In Persian). 67: 42-49.
3. Attarpour Yazdi, M.M., Kamalinejad, M., Falvaei Koochak, N.S. (2010) Comparison of antimicrobial effects of *Cucuma longa* extract and selective antibiotics against bacteria isolated from infected burn wounds. *Daneshvar Medicine.* 84: 1-10.
4. Azaritakami, G. (1997) Health Management Prevention and Treatment Methods of Fish Diseases. (1st ed.). Parivar Publishing, Tabriz, Iran.
5. Bruno, D.W., Woo, B.P. (1994) Viral, bacterial and fungal infections. In: *Fish Diseases Disorders*, Volume 3. Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (eds.). CABI Publishing, Walingford, Oxon, UK. p. 599-559.
6. Candan, F., Sokmen, A. (2004) Effects of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on lipid peroxidation and free Radical scavenging activity. *Phytother Res.* 18: 84-86.
7. Ebrahimzadeh Musavi, H., Sharif Rohani, M., Khosravi, A., Mehrabi, Y., Akhondzadeh Basti, A. (2006) Evaluation of the antifungal activity of eucalyptus essence on rainbow trout eggs. *J Med Plants.* 20: 42-47.
8. Gharaei, A., Khajeh, M., Ghaffari, M., Choopani, A. (2013) Iranian *Rhus coriaria* essential oils extraction. *J Essent Oil Bear Plants.* 16: 270-273.
9. Gharaei, A., Rahdari, A., Ghaffari, M. (2011) Induced spawning of *Schizothorax zarudnyi* (Cyprinidae) by using synthetic hormones (ovaprim and HCG). *World J Fish Mar Sci.* 3: 518-522.
10. Kitancharoen. N., Yamato, A., Hatai, K. (1998) Effect of sodium chloride hydrogen peroxide and malachite green on fungal infection in rainbow trout eggs. *Biocontrol Sci.* 3: 113-115.
11. Legault, J., Pichette, A. (2007) Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *J Pharm Pharmacol.* 59: 1643-7.
12. Meyer, F.P., Jorgenson, T.A. (1983) Teratological & other effects of malachite green on development in rabbits & rainbow trout. *Trans Am Fish Soc.* 112: 818-814.
13. Nayeemulla Shariff, M.S., Sudarshana, S., Umesha., Hariprasad, P. (2006) Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *Afr J Biotechnol.* 5: 946-950.
14. Noga, E.J. (1996) *Fish Diseases and Diagnosis and Treatment.* Mosby-Year Book, Inc, St. Louis, Mo, USA.
15. Peyghan, R., Mesbah, M., Rasekh, A., Mohammadi Dehcheshmeh, M. (2006) Effect of malachite green in creating abnormalities and appearance

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله نگارندگان از مدیر کل محترم شیلات سیستان، مدیریت محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی سیستان و پژوهشکده تالاب بین المللی هامون به خاطر حمایت‌های مالی و آزمایشگاهی تشکر و قدر دانی می‌نمایند.



- ance changes with egg bath in larvae of silver carp. Shahid Chamran Journal of Science. 15: 45-58.
16. Schreier, T.M., Rach.J.J., Howe, G.E. (1996) Efficacy of formalin hydrogen peroxide and sodium chloride of fungual infected rainbow trout egg. Aquaculture. 14: 323-331.
 17. Sokman, A., Jones, B.M., Erturk, M. (1999) The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. Ethnopharmacology. 67: 79- 86.
 18. Wolf, K. (1958) Fungus of Saprolegnia infestation on incubating fish eggs. Fisheryhealth. Fish Wildlife Service U.S. 460: 1-4.
 19. Wossughi, G.H. (1988) Fish identification of Hamoon lake basin. J Vet Res (University of Tehran). 41: 83-97.
 20. Zabihi, M., Pourkazemi, M., Kazemi. R., Kamalari, A. (2004) Determination spawning season and changes in reproductive cycle of *Schizothorax zarudnyi* and condition factor in Hamoon Lake. Iran J Fish Sci. 12: 41-56.



Antifungal effects of metalonic sumac (*Rhus coriaria* L.) essential oil on *Schizothorax zarudnyi* eggs

Keykha, S.¹, Gharaei, A.^{1,3*}, Mirdar Harijani, J.¹, Ghaffari, M.², Rahdari, A.³

¹Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol -Iran

²Demartemant of Fisheries, Chabahar Maritime University, Chabahar-Iran.

³Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol -Iran

(Received 4 February 2015, Accepted 15 April 2015)

Abstract:

BACKGROUND: The use of chemical materials such as malachite green to disinfect fish eggs is banned in many countries due to its reversed environmental effects. **OBJECTIVES:** The purpose of this study was to investigate the effect of metalonic sumac extract as antifungal agent on eggs of *Schizothorax zarudnyi* during the incubation period and to compare its effects with malachite green. **METHODS:** 24 hours after fertilization, eggs were treated with four concentration of Methanolic sumac extrat (500, 750, 1000, 1250 mg/L) using static bath method every 12 h for 20 min and 0.1 mg/L malachite green using the same method every 12 h for 6 min. There was also a control group with no treatment to better analysis. **RESULTS:** The results showed that the maximum and minimum fungal infection was observed respectively in control group with %20.23±0.51 and the samples treated with 1250 mg/L sumac extraction with %0.91±0.51. Furthermore, no significant differences in fungal infection, fertilization and survival rate were found among treated and untreated eggs ($p>0.05$). **CONCLUSIONS:** Since no apparent deformities and abnormalities were observed in hatched larvae, suggested sumac extract with 500 mg/L concentration, as an environmental friendly matter, can be used for disinfection of *S. zarudnyi* eggs during incubation period.

Keyword: anti-fungal, fish egg, metalonic sumac extract, snow trout

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Average of fertility, fungal infection, not fungal infection and hatching percent in different treatment groups.

Table 2. Average of mortality, hatched and fungal infection eggs of *Schizothorax zarudnyi* during incubation period (7 days) and treatment with metalonic sumac essential oil.



*Corresponding author's email: agharaei551@gmail.com, Tel: 054-32224510, Fax: 054-32224510

J. Vet. Res. 70, 2:131-137, 2015