تاثیر غلظت‌های مختلف ضدعفونی کننده فرمالین بر تعدیل آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با قارچ ساپرولگنیا

احمد احمدی[1]، طیبه علی‌بیگی[2*]

1 ، 2. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* مسئول مکاتبات: tati.beygi299@gmail.com

چکیده

پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با چالش‌هایی مانند عفونت‌های قارچی در تخم‌ها مواجه است که مهم‌ترین عامل آن، قارچ ساپرولیگنیا می‌باشد. این مطالعه به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف فرمالین بر کاهش آلودگی قارچی ناشی از ساپرولیگنیا پارازیتیکا (*Saprolegnia parasitica*) و افزایش درصد تفریخ تخم‌های قزل‌آلا پرداخته است. در آزمایشات، تخم‌های بارور شده در معرض غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر فرمالین قرار گرفتند و نتایج با گروه‌های کنترل مقایسه شدند. یافته‌ها نشان دادند که تیمارهای ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر فرمالین، به‌طور مؤثری آلودگی قارچی را کاهش داده و نرخ تفریخ را به طور معنی‌داری افزایش دادند. در مقابل، تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر اثربخشی کمتری داشتند. تیمار کنترل مثبت (بدون استفاده از فرمالین) بالاترین میزان آلودگی را نشان داد. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثربخشی بالای فرمالین در کنترل ساپرولیگنیا بوده و استفاده از آن در غلظت‌های بهینه می‌تواند به بهبود راندمان تولید و کاهش تلفات در صنعت آبزی پروری کمک کند. با این حال، دوزهای بالاتر ممکن است تأثیرات منفی بر جنین داشته باشد، بنابراین تنظیم دقیق میزان فرمالین ضروری می باشد.

واژگان کلیدی: فرمالین، قارچ ، قزل‌آلای رنگین کمان، تفریخ.

مقدمه

آبزی‌پروری به بخش مهمی از تولید جهانی غذا تبدیل شده است و توجه ویژه‌ای به پرورش گونه‌های اقتصادی ارزشمند مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دارد. یکی از چالش‌های اساسی در عملیات تکثیر و پرورش ماهیان، مدیریت عفونت‌های قارچی در تخم‌های ماهی است که می‌تواند منجر به خسارات اقتصادی شدید و کاهش بهره‌وری مراکز تکثیر شود (Marking *et al.*, 1994). قارچ‌های جنس ساپرولیگنیا (*Saprolegnia spp.*) یکی از کپک‌های آبی رایج، عامل اصلی عفونت‌های قارچی در تخم‌های ماهی محسوب می‌شود و باعث کاهش موفقیت لقاح، افزایش میزان مرگ و میر و کاهش درصد موفقیت در تفریخ تخم‌ها می‌گردد (Lindholm *et al.*, 2024). بنابراین، توسعه و به‌کارگیری روش‌های مؤثر برای کنترل عفونت‌های قارچی، همچنان یکی از دغدغه‌های اصلی صنعت آبزی پروری در سراسر جهان محسوب می‌شود.

در میان عوامل ضد قارچی مختلفی که برای کنترل عفونت‌های ساپرولیگنیا استفاده می‌شوند، فرمالین (محلولی آبی از فرمالدهید) به دلیل اثر بخشی بالا و مزایای زیست محیطی نسبت به سایر مواد شیمیایی، مورد توجه قرار گرفته است (Lindholm *et al.*, 2024; Walser, and Phelps, 1994). در گذشته، مالاکیت سبز و سایر ترکیبات ضد قارچی سنتزی به دلیل خاصیت ضد میکروبی قوی خود در آبزی‌پروری به طور گسترده استفاده می‌شدند. با این حال، نگرانی‌های فزاینده در مورد پایداری زیست‌محیطی، سمیت بالقوه برای موجودات غیرهدف و اثرات سرطان‌زای این ترکیبات بر انسان، منجر به اعمال محدودیت‌ها و مقررات سخت‌گیرانه در استفاده از آن‌ها شده است (Heuer *et al.*, 2009; Hashimoto *et al.*, 2011). در مقابل، فرمالین گزینه‌ای مسئولانه‌تر از نظر زیست‌محیطی محسوب می‌شود، زیرا به‌راحتی به ترکیبات بی‌خطری مانند اسید فرمیک و دی اکسید کربن تجزیه شده و خطرات زیست محیطی بلند مدت را به حداقل می‌رساند (Marking *et al.*, 1994; Leal *et al.*, 2018).

فرمالین به عنوان یک عامل ضد قارچی قوی عمل کرده و با تخریب ساختارهای سلولی و مهار جوانه‌زنی اسپورهای قارچی، تأثیر خود را اعمال می‌کند (Schreier *et al*., 1996; De Pedro *et al*., 2008; Lee and Lee, 2009). مطالعات مختلف، اثربخشی این ماده در کنترل عفونت‌های ناشی از ساپرولیگنیا در تخم‌های ماهی را نشان داده‌اند، اما تعیین غلظت بهینه و مدت زمان مواجهه همچنان موضوع تحقیقات است (Lee and Lee, 2009). تنظیم صحیح دوز و نحوه‌ی استفاده از فرمالین برای دستیابی به تعادل بین اثرگذاری ضدقارچی و کاهش حداقلی استرس و سمیت برای جنین‌های در حال رشد، امری حیاتی است. قرار گرفتن بیش از حد در معرض فرمالین می‌تواند تأثیرات نامطلوبی بر تخم‌های ماهی داشته باشد، از جمله کاهش موفقیت لقاح و اختلال در فرآیند تفریخ. بنابراین، تعیین یک رژیم درمانی مناسب برای حداکثرسازی موفقیت تولیدمثلی، در عین کاهش اثرات منفی، ضروری است.

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر فرمالین بر نرخ عفونت قارچی ساپرولیگنیا، موفقیت لقاح و میزان تفریخ در تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شده است. به‌طور خاص، این پژوهش درصدد تعیین غلظت مواجهه‌ی بهینه با فرمالین است که بتواند عفونت‌های قارچی را به طور مؤثر کنترل کند، در عین حال حداقل تأثیر منفی را بر زنده‌مانی تخم‌ها داشته باشد. با مقایسه‌ی روش‌های درمانی مختلف، این تحقیق به درک بهتر نقش فرمالین در آبزی‌پروری کمک کرده و توصیه‌های عملی برای استفاده از آن در مراکز تکثیر ارائه می‌دهد. یافته‌های این پژوهش می‌تواند تأثیر مستقیمی بر بهبود بهره‌وری مراکز تکثیر، کاهش زیان‌های اقتصادی و ترویج شیوه‌های پایدار آبزی‌پروری داشته باشد.اهداف مشخص این مطالعه عبارتند از: ارزیابی اثربخشی غلظت‌های مختلف فرمالین در کنترل عفونت‌های ساپرولیگنیا در تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان.، بررسی تأثیر درمان با فرمالین بر نرخ موفقیت لقاح، تعیین تأثیر مواجهه با فرمالین بر موفقیت تفریخ و زنده‌مانی لاروها. با بررسی این اهداف، این پژوهش به دنبال ارائه یک چارچوب علمی معتبر برای استفاده‌ی بهینه از فرمالین در آبزی‌پروری است که هم از نظر اقتصادی مقرون به صرفه باشد و هم پایداری زیست‌محیطی را حفظ کند.

مواد و روش‌ها

تخم‌های بارور شده‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از یک دسته‌ی واحد از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی (شهرکرد، ایران) جمع‌آوری و سپس گروه‌هایی متشکل از ۵۰۰ تخم به صورت تصادفی در تراف‌های انکوباتور کالیفرنیایی توزیع شدند. برای شمارش دقیق، از تخته‌ی شمارش تخم استفاده شد. تخم‌ها درون یک حلقه پلاستیکی با قطر 180 میلی‌متر و ارتفاع 20 میلی‌متر قرار گرفتند. به دو طرف جدار خارجی هر حلقه دو سنگ چسبانده شد تا با ایجاد وزن در داخل تراف حرکت نداشته باشد. هر آزمایش شامل سه تکرار از ۵۰۰ تخم بود که در سینی‌های جداگانه قرار گرفتند. آب چاه مورد استفاده برای انکوباسیون دارای pH برابر 7/5، میزان اکسیژن محلول بالای 9 میلی‌گرم/ لیتر و دمای 1± 11 درجه سانتی‌گراد بود. نرخ جریان آب در طول دوره انکوباسیون تقریباً 3/5 لیتر در دقیقه حفظ شد و در طول مدت انکوباسیون و تفریخ به 6/5 لیتر در دقیقه افزایش یافت. برای ایجاد عفونت، گروه‌های تخم با قارچ *Saprolegnia parasitica* تلقیح شدند. در این فرآیند، از کیسه‌های چای (تی‌بگ) محتوی 10 عدد دانه کنفی آلوده به قارچ استفاده شد. هر کیسه تیبک به وسیله یک نخ در محل ورودی آب هر تراف قرار داده شد به طوری که آب به طور کامل از داخل آن ها عبور کند. هر تراف تا رسیدن نرخ آلودگی تا 10 درصد با کیسه‌های قارچی انکوبه شدند. با حصول 10 درصد آلودگی، کیسه‌های قارچی حذف شده و سپس با جابجایی تخم‌های آلوده بین تراف‌ها، نرخ 10درصد برای همه تراف‌ها یکسان‌سازی شدند. در این مدت، جریان آب دو بار در روز به مدت دو ساعت قطع شد تا شرایط برای رشد عفونت قارچی فراهم شود. گروه‌های تخم سالم (تیمار کنترل منفی) (0 درصد عفونت) با قارچ تلقیح نشدند و تا رسیدن گروه‌های آلوده به سطح ۱۰ درصد عفونت، در شرایط انکوباسیون باقی ماندند. فرمالین (37 درصد خلوص) با استفاده از یک پمپ پریستالتیک با دبی 100 میلی‌لیتر/ دقیقه ابتدا به یک مخزن مخلوط شونده که در بالای هر تراف تعبیه شده بودند پمپ شده و پس از مخلوط سازی با آب ورودی به تراف‌های هر تیمار وارد شدند. غلظت‌های فرمالین برای هر تیمار بر اساس میزان دبی آب ورودی به مخزن مخلوط کننده تنظیم شدند. تیمار فرمالین برای هر گروه آزمایشی به مدت 15 دقیقه در روز اعمال شد که تا زمان هچ شدن تخم‌ها ادامه داشت. در این مطالعه،

غلظت‌های فرمالین بر اساس مطالعات قبلی که نتایج مثبتی در رابطه با ضد عفونی تخم ماهیان سردآبی گزارش کرده بودند تعیین شدند (Schreier *et al.*, 1996). در جدول 1 تیماربندی آزمایش مربوطه ارائه شده است.

جدول 1: تیماربندی آزمایش.

تیمارها	واحد فرمالین مورد استفاده (میکرولیتر/ لیتر)
کنترل منفی	بدون تیمار فرمالین، بدون اعمال الودگی قارچی
کنترل مثبت	بدون تیمار فرمالین، اعمال الودگی قارچی
تیمار 1	500 فرمالین، اعمال الودگی قارچی
تیمار 2	1000 فرمالین، اعمال الودگی قارچی
تیمار 3	1500 فرمالین، اعمال الودگی قارچی
تیمار4	2000 فرمالین، اعمال الودگی قارچی

همه آزمایشات در 3 تکرار انجام شد. در پایان آزمایش که 40 روز بود، درصد هچ شدن تخم ها از فرمول زیر محاسبه شد:

* درصد هچ = (تعداد تخم های هچ شده در هر تراف/500 تخم – تعداد تخم های مرده در هر تراف در مدت ایجاد ٪10 آلودگی) × 100

علاوه بر درصد هچ، درصد آلودگی قارچی در هر تیمار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

* درصد آلودگی قارچی = (تعداد تخم های آلوده (به رنگ مات–شیری، هچ نشده)/ 500 تخم – تعداد تخم های مرده در هر تراف در مدت ایجاد ٪10 آلودگی) × 100

داده‌های درصد تفریخ و عفونت قارچی با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه‌ای چندگانه توکی برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارها مقایسه شدند. قبل از تحلیل، داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-smirnov) از نظر نرمال بودن و همگنی بررسی شدند. مقایسه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد و تفاوت‌ها در سطح $P<0.05$ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

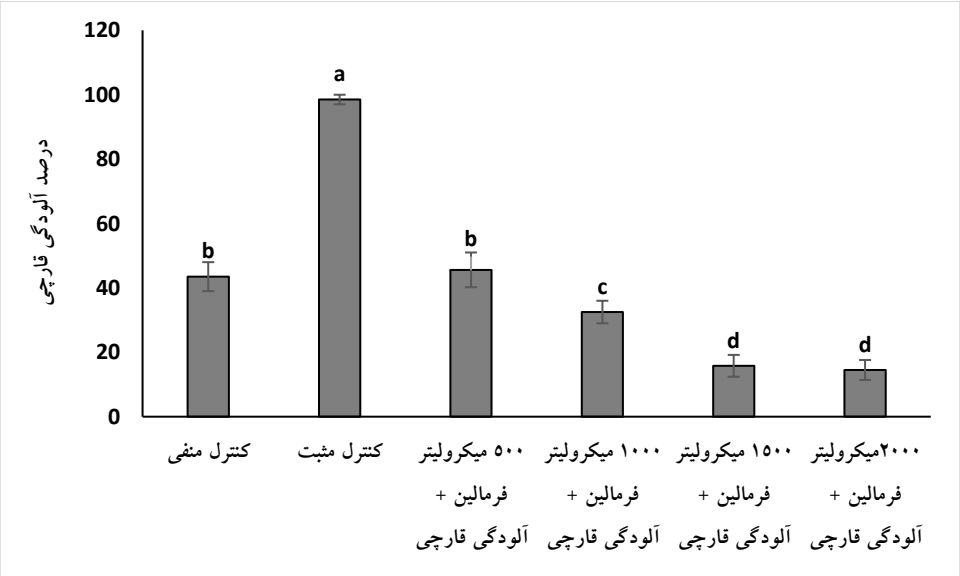
نتایج

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تفاوت‌های معنی‌داری در درصد تفریخ و آلودگی قارچی بین تیمارهای مختلف وجود دارد ($p<0.05$). در درصد تفریخ (شکل 1)، بیشترین میزان تفریخ در تیمار 1500میکرولیتر فرمالین (4.3 ± 84.5) و 2000 میکرولیتر فرمالین (4.4 ± 85.5) مشاهده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($p<0.05$). بین تیمار 1500 و 2000 میکرولیتر فرمالین اختلاف معنی‌داری به لحاظ درصد تفریخ وجود نداشت ($p>0.05$). همچنین، در تیمارهای کنترل مثبت ، 500 میکرولیتر فرمالین و کنترل منفی (3.5 ± 54.2) درصد تفریخ کمتری نسبت به تیمار 1000 میکرولیتر فرمالین به‌دست آمد ($p<0.05$).

شکل 1: تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار فرمالین بر درصد تفریخ تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($p<0.05$).

در مورد آلودگی قارچی (شکل 2)، بیشترین میزان آلودگی در کنترل مثبت (98.5A ± 1.5) مشاهده شد که به طور قابل توجهی از سایر تیمارها بالاتر بود ($p<0.05$). در تیمار 1500 و 2000 میکرولیتر فرمالین کمترین میزان آلودگی قارچی مشاهده شد ($p<0.05$). این در حالی است بین تیمارهای کنترل منفی و 500 میکرولیتر فرمالین و همچنین بین تیمارهای 1500 و 2000 میکرولیتر فرمالین تفاوت معنی‌داری به لحاظ آلودگی وجود نداشت ($p>0.05$).



شکل 2: تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار فرمالین بر درصد آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($p<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

قارچ ساپرولیگنیا یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در پرورش ماهیان سردآبی، به‌ویژه قزل‌آلای رنگین‌کمان می باشد. این قارچ باعث بیماری ساپرولیگنیوزیس می‌شود که تأثیرات مخربی بر تخم ماهیان و لاروهای تازه تفریخ شده دارد. این قارچ معمولاً به تخم‌های آسیب‌دیده، ضعیف یا مرده حمله می‌کند، اما در شرایط نامساعد می‌تواند تخم‌های سالم را نیز آلوده کند. ساپرولیگنیا با ایجاد یک لایه پنبه‌ای شکل سفید یا خاکستری روی تخم‌ها، مانع تنفس و تبادل اکسیژن می‌شود. آلودگی قارچی منجر به کاهش درصد تفریخ و افزایش تلفات جنینی در تخم ماهیان می‌شود. شرایط محیطی مانند دما، کیفیت پایین آب، تراکم بالا و مواد آلی اضافی باعث گسترش این قارچ می‌شود (Najafipoor, 2011; Earle and Hintz, 2014 ; Duan et al., 2018; Lindholm-Lehto and Pylkkö, 2024).

علاوه بر تخم‌ها، لاروهای تازه تفریخ شده نیز در برابر این قارچ حساس بوده و ممکن است دچار عفونت پوستی و زخم‌های شدید شوند. برای کنترل ساپرولیگنیوزیس، از مواد ضدعفونی‌کننده‌ای مانند فرمالین، پرمنگنات پتاسیم و ترکیبات نقره استفاده می‌شود (Barde *et al.*, 2020; Lindholm-Lehto and Pylkkö, 2024; Anokhina *et al.*, 2021). با این وجود، حذف سریع تخم‌های آلوده و بهبود شرایط آب از مهم‌ترین راهکارهای پیشگیری از شیوع این بیماری می‌باشد. هشداری که در رابطه با استفاده از همه تیمارهای شیمیایی ضد قارچی وجود دارد این می‌باشد که اکثرا در دوزهای بالا می توانند برای محیط زیست و سلامت انسان مضر باشند (Wroński *et al.*, 2024). مالاشیت‌گرین یکی از قوی‌ترین ضد قارچ‌ها می‌باشد، اما به دلیل سمی بودن و اثرات مخرب زیست محیطی در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (Zhai *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2012). همچنین متیلن بلو اگرچه سمیت کمتری دارد نسبت به مالاشیت گرین، اما در دوزهای بالا ممکن مضر باشد (Khan et al., 2022). از بین تیمارهای شیمیایی با خواص ضد قارچی، فرمالین به دلیل کارایی بالا در غلظت‌های کم، دسترسی و قیمت مناسب، کنترل سایر عوامل بیماری‌زا، اثرگذاری سریع و سازگاری با شرایط مختلف آبزی‌پروری به طور گسترده برای ضدعفونی تخم‌ها استفاده می‌شود (Leal *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، استفاده از فرمالین بخصوص در غلظت‌های 2000–1500 میکرولیتر/ لیتر به طور معنی‌داری آلودگی قارچی (*Saprolegnia parasirica*) را کاهش و درصد تفریخ تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. این نتایج منطبق بودند با سایر مطالعات در رابطه با تاثیر فرمالین بر آلودگی قارچی تخم و لارو ماهی قزل الای رنگین کمان. به عنوان مثال Barnes و همکاران (2003) اثرات درمان روزانه با هیدروژن پراکسید (700 میلی‌گرم در لیتر به مدت 15 دقیقه) از مرحله چشم‌زنی تخم‌ها تا خروج لارو (فری) در مقایسه با درمان‌های فرمالین (1,667 میلی‌گرم در لیتر به مدت 15 دقیقه) بر تخم‌های چشم‌زده سالمون چینوک پاییزه (*Oncorhynchus tshawytscha*) ، مورد بررسی قرار دادند. هر دو درمان هیدروژن پراکسید و فرمالین به طور معنی‌داری زنده مانی جنین‌ها را نسبت به حالتی که فقط تخم‌های مرده برداشت می‌شدند، افزایش دادند و هیچ گونه رشد قارچی یا باکتریایی طی دوره انکوباسیون مشاهده نشد. در این مطالعه تاکید شد که اگرچه فرمالین تنها قارچ‌کش مجاز برای تخم ماهی در ایالات متحده می باشد، ولی تیمار هیدروژن پراکسید به میزان 700 میلی‌گرم در لیتر به مدت 15 دقیقه از مرحله چشم‌زنی تخم‌ها تا خروج لارو نیز می‌تواند کمک کننده باشد. در مطالعه Gieseker و همکاران (2006) یک عفونت تجربی با *Saprolegnia parasitica* و استرس دمایی برای ارزیابی توانایی فرمالین در کاهش مرگ و میر لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی ایجاد شد. استرس دمایی همزمان با قرارگیری در معرض قارچ با جابه‌جایی ماهی‌ها از دمای بهینه (2 ± 15 درجه سانتی‌گراد) به دمای بالاتر (۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد) انجام شد، در حالی که آنها به مدت ۴ ساعت در تانک حاوی *S. parasitica* غوطه‌ور شدند. نتایج مطالعه نشان داد که غلظت‌های 50–150 میلی‌گرم/ لیتر فرمالین قادر به کاهش آلودگی قارچی، استرس دمائی و در نهایت مرگ و میر لاروها می‌شود. در یک مطالعه دیگر، استفاده از فرمالین در غلظت‌های 1000–1500 میکرولیتر/لیتر به‌طور موفقیت‌آمیزی آلودگی قارچی (*Saprolegnia parasirica*) را کاهش و درصد تفریخ تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد (Schreier *et al.*, 1996).

به طور کلی، فرمالدئید با دناتوره کردن پروتئین‌ها و غیرفعال‌سازی آنزیم‌های حیاتی در سلول‌های قارچی، باعث از بین رفتن آن‌ها می‌شود. این ویژگی‌ها، فرمالین را به یک ضدعفونی‌کننده مؤثر در کنترل و پیشگیری از عفونت‌های قارچی تبدیل کرده است (De Swaef *et al.*, 2016). با توجه به تأثیر مشابه قارچ‌کشی دوزهای 1500 و 2000 میکرو لیتر فرمالین در این مطالعه، استفاده از دوز 1500 میکرو لیتر برای تخم ماهی قزل‌آلا گزینه بهتری می‌تواند باشد. این دوز همان میزان اثربخشی را در کنترل عفونت‌های قارچی فراهم می‌کند، در حالی که مقدار کمتری از فرمالین را وارد محیط می‌کند و در نتیجه، اثرات زیست محیطی آن کاهش می‌یابد. فرمالین یک ترکیب سمی است که می‌تواند به اکوسیستم‌های آبی آسیب برساند و دوزهای بالاتر ممکن است باعث تجمع مواد سمی در آب شود. بنابراین، استفاده از دوز کمتر، علاوه بر حفظ سلامت تخم‌ها، خطرات زیست محیطی را نیز کاهش می‌دهد.

به عنوان جمع‌بندی، در این مطالعه فرمالین به دلیل کارایی بالا و قیمت مناسب در دوزهای مختلف برای کاهش آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلا استفاده شد. نتایج نشان داده‌اند که غلظت‌های 1500–2000 میکرولیتر فرمالین می‌تواند در کاهش آلودگی قارچی و افزایش زنده مانی تخم طی دوره انکوباسیون مؤثر باشند. با این حال، دوز 1500 میکرولیتر ترجیح داده می‌شود، زیرا از یک طرف اثر مشابهی نشان داد و از طرف دیگر اثرات زیست محیطی کمتری ممکن است ایجاد کند. پیشنهاد می‌شود که استفاده از فرمالین در کنار بهبود شرایط آب و حذف سریع تخم‌های آلوده، می‌تواند بهترین راهکار برای کنترل ساپرولیگنیوزیس باشد.

منابع

Anokhina, E. P., Tolkacheva, A. A. and Korneeva, O. S., 2021. Saprolegnosis: dissemination in aquaculture and control methods. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 640, No. 6, p. 062027). IOP Publishing.

Barde, R. D., Deshpande, M., Nagthane, N., Darak, O. and Baig, M. M. V., 2020. A review of Saprolegnia infection in freshwater fishes and control of the saprolegniosis. Sustainable Humanosphere, 16(1): 702-711.

Barnes, M. E., Stephenson, H. and Gabel, M., 2003. Use of hydrogen peroxide and formalin treatments during incubation of landlocked fall Chinook salmon eyed eggs. North American Journal of Aquaculture, 65(2): 151-154.

De Swaef, E., Van den Broeck, W., Dierckens, K. and Decostere, A., 2016. Disinfection of teleost eggs: a review. Reviews in Aquaculture, 8(4): 321-341.

De Pedro, J. B., Quinitio, E. T. and Parado-Estepa, F. D., 2007. Formalin as an alternative to trifluralin as prophylaxis against fungal infection in mud crab *Scylla serrat*a (Forsskål) larvae. Aquaculture Research, 38(14): 1554-1562.

Duan, J., Feng, Y. H., Wang, K., Geng, Y., Deng, Y., Ou, Y. and Yang, S., 2018. A review: Factors affecting outbreaks of saprolegniosis on aquatic animals.

Earle, G. and Hintz, W., 2014. New approaches for controlling *Saprolegnia parasitica*, the causal agent of a devastating fish disease. Tropical life sciences research, 25(2): 101.

Gieseker, C. M., Serfling, S. G. and Reimschuessel, R., 2006. Formalin treatment to reduce mortality associated with Saprolegnia parasitica in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 253(1-4): 120-129.

Hashimoto, J. C., Paschoal, J. A. R., De Queiroz, J. F. and Reyes, F. G. R., 2011. Considerations on the use of malachite green in aquaculture and analytical aspects of determining the residues in fish: a review. Journal of Aquatic Food Product Technology, 20(3): 273-294.

Heuer, O. E., Kruse, H., Grave, K., Collignon, P., Karunasagar, I. and Angulo, F. J., 2009. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. Clinical Infectious Diseases, 49(8): 1248-1253.

Khan, I., Saeed, K., Zekker, I., Zhang, B., Hendi, A. H., Ahmad, A. and Khan, I., 2022. Review on methylene blue: Its properties, uses, toxicity and photodegradation. Water, 14(2): 242.

Li, M. J., Li, A. N., Xu, X. R., Wu, S., Li, S., Ai, X. X. and Li, H. B., 2012. Degradation and removal of malachite green in environment. International Journal of Environmental Bioenergy, 2(1): 1-18.

Leal, J. F., Neves, M. G. P., Santos, E. B. and Esteves, V. I., 2018. Use of formalin in intensive aquaculture: properties, application and effects on fish and water quality. Reviews in Aquaculture, 10(2):281-295.

Lindholm-Lehto, P. C. and Pylkkö, P., 2024. Saprolegniosis in aquaculture and how to control it?. Aquaculture, Fish and Fisheries, 4(4):e2200.

Lee, B. Y. and Lee, D. C., 2009. Comparative efficacy of antifungal agents for aquaculture fish and their eggs. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 42(1): 34-40.

Marking, L. L., Rach, J. J. and Schreier, T. M., 1994. American fisheries society evaluation of antifungal agents for fish culture. The Progressive Fish-Culturist, 56(4): 225-231.

Najafipoor, A., 2011. Freshwater fungi isolated from eggs and broodstocks with an emphasis on Saprolegnia in rainbow trout farms in west Iran. African Journal of Microbiology Research, 4(22): 3647-3651.

Schreier, T. M., Rach, J. J. and Howe, G. E., 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Aquaculture, 140(4): 323-331.

Wroński, M., Trawiński, J. and Skibiński, R., 2024. Antifungal drugs in the aquatic environment: A review on sources, occurrence, toxicity, health effects, removal strategies and future challenges. Journal of Hazardous Materials, 465: 133167.

Walser, C. A. and Phelps, R. P., 1994. The use of formalin and iodine to control Saprolegnia infections on channel catfish, Ictalurus punctatus, eggs. Journal of Applied Aquaculture, 3(3-4): 269-278.

Zhai, Y. X., Guo, Y. Y., Geng, X., Zhang, C. and Ning, J. S., 2007. Advances in studies on metabolic mechanism and bio-toxicity of malachite green. Periodical of Ocean University of China (in Chinese), 37:27-32.

The effect of different concentrations of formalin disinfectant on the modulation of fungal contamination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs with Saprolegnia fungus

Ahmad Ahmadi[1], Tayebeh Ali Beygi[2*]
1, 2. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: tati.beygi299@gmail.com

Abstract
Rainbow trout farming faces challenges such as fungal infections in eggs, the most important of which is the Saprolignia fungus. This study investigated the effect of different concentrations of formalin on reducing fungal contamination caused by Saprolegnia parasitica and increasing the hatching percentage of trout eggs. In the experiments, fertilized eggs were exposed to concentrations of 500, 1000, 1500, and 2000 microliters per liter of formalin, and the results were compared with control groups. The findings showed that treatments of 1500 and 2000 µl/L formalin effectively reduced fungal contamination and significantly increased hatching rates. In contrast, the 500 and 1000 microliter treatments were less effective. The positive control treatment (without formalin) showed the highest level of contamination. The results of this study indicate the high effectiveness of formalin in controlling Saprolignia and its use at optimal concentrations can help improve production efficiency and reduce losses in the aquaculture industry. However, higher doses may have negative effects on the embryo, so careful adjustment of the formalin dose is necessary.
Keywords: Formalin, fungus, rainbow trout, hatch.