

اثرات حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی- قارچی پوست و آبشش و هیستوپاتولوژی آبشش تاسماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus*

- محمدتقی سلاخ قاسمی*: گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، صندوق پستی: 1616
 - حسین خارا: گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، صندوق پستی: 1616
 - جلیل جلیل‌پور: بخش بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، صندوق پستی: 3464-41635
- تاریخ دریافت: آبان 1394 تاریخ پذیرش: اسفند 1395

چکیده

هدف این تحقیق تعیین اثر حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش و بافت آبشش تاسماهی استرلیاد بود. این پژوهش در سال 1393 در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت انجام شد. برای این منظور 105 عدد بچه تاسماهی استرلیاد با وزن میانگین 2/85±41/83 گرم و طول میانگین 23/67±0/48 سانتی‌متر مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت اجراء وان با حجم 40 لیتر آب استفاده شد. تیمارها شامل سولفات مس با دوزهای 2 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی بلندمدت، 12 ساعت)، 5 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی کوتاه مدت، 10-5 دقیقه)، 10 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی غوطه‌وری، 45-30 ثانیه) و پرمنگنات پتاسیم با دوزهای 1 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی بلندمدت، 12 ساعت)، 2 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی کوتاه مدت، 10-5 دقیقه)، 3 میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی غوطه‌وری، 45-30 ثانیه) و یک گروه شاهد «بدون ماده ضد عفونی» بودند. در هر سه نوع حمام درمانی، نمونه‌برداری از ماهیان برای بررسی‌های باکتریایی-قارچی و بافت‌شناسی آبشش در انتهای دوره انجام گرفت. نتایج بررسی‌های باکتریایی و قارچی نشان داد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین تیمارها با گروه شاهد وجود دارد. پرمنگنات پتاسیم با دوزهای 2 و 3 میلی‌گرم در لیتر و سولفات مس با دوزهای 5 و 10 میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش فلور باکتریایی پوست در بچه تاسماهیان استرلیاد شدند. نتایج بافت‌شناسی آبشش عوارضی چون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، چسبندگی رشته‌های ثانویه، عریض و تحلیل رفتن لاملای اولیه، هیپرپلازی، جدا شدن لایه اپیتلیوم رشته‌های ثانویه، داسی شکل و چماقی شدن رشته‌های ثانویه نشان دادند. شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم 3 میلی‌گرم در لیتر و سولفات مس 10 میلی‌گرم در لیتر بیشتر از سایر تیمارها بود. با توجه به نتایج بدست آمده در ماهی استرلیاد روش ضد عفونی کوتاه مدت (10 دقیقه) برای هر دو ماده توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: تاسماهی استرلیاد، سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم، فلور باکتریایی- قارچی، هیستوپاتولوژی.

مقدمه

در صنعت آبی‌پروری به علت استفاده از مواد ضد عفونی کننده، ماهیان پرورشی در معرض تماس با تعداد زیادی از ضد عفونی کننده‌های شیمیایی قرار دارند که ترکیب شیمیایی و غلظت این مواد می‌تواند متفاوت باشد بطوریکه در غلظت‌های بالا سبب مسمومیت‌های حاد تا مزمن می‌گردد (آذری تاکامی، 1388). در این بین سولفات مس در آبیان به طور گسترده برای جلوگیری از پوسیدگی باله‌ها و آسیب‌های پوست ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lewis و Leitritz، 1980؛ Gratzek و همکاران، 1992). همچنین برای جلوگیری از انگل‌های خارجی ماهی در آکواریوم‌های دریایی مورد استفاده می‌شود (Gratzek و Blasiola، 1992؛ Cardeilhac و Whitaker، 1998) پرمنگنات پتاسیم یک ماده شیمیایی غیر آلی است که به طور گسترده در سطح جهان مورد استفاده قرار

تاس ماهیان یکی از مهمترین ماهیانی هستند که در دریای خزر زیست می‌کنند. این ماهیان از نظر اقتصادی، غذایی و همچنین از نظر استحصال خاویار از اهمیت خاصی برخوردارند. ذخایر با ارزش ماهیان خاویاری دریای خزر در حال کاهش بوده و علت‌های مختلفی را برای آن عنوان کرده‌اند (پورکاظمی، 1376). ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) کوچکترین گونه از خانواده تاسماهیان محسوب می‌گردد که زندگی کوتاهی داشته و در سالیان اخیر به دلیل آسیب دیدن محل‌های تخم‌ریزی مولدین در رودخانه‌ها جمعیت آن رو به کاهش و در نتیجه نسل آن رو به انقراض گذاشته است (Peterson و همکاران، 2006).



می‌گیرد و اطلاعات زیادی در مورد فرآورده‌های شیمیایی و موارد استفاده آن در دسترس است (Duncan, 1978). استفاده از ترکیبات رنگی نظیر پرمنگنات پتاسیم یا سولفات مس نیز برای شستشو مفید است، زیرا مناطقی را که غلظت ماده ضد عفونی کننده زیاد است، می‌توان دید و مدت زمانی را که باید ماهیان تحت درمان قرار گیرند (ستاری، 1378). در این تحقیق دو ماده ضد عفونی کننده سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم برای کنترل برخی بیماری‌های قارچی و باکتریایی تاسماهی استرلیاد استفاده شدند. هدف این تحقیق تعیین اثر حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلورباکتریایی و قارچی پوست و آبشش و بافت‌شناسی آبشش تاسماهی استرلیاد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال 1393 در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در 25 کیلومتری جنوب شرقی شهرستان رشت در حاشیه رودخانه سفید رود و در جوار سد سنگر اجراء شد. برای انجام این تحقیق 105 عدد بچه تاسماهی استرلیاد و 21 وان با حجم 40 لیتر آب استفاده شدند. در طول دوره آزمایش فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب شامل: دما، اکسیژن و pH توسط دستگاه اکسی متر HACH مدل HQ40d اندازه‌گیری شدند. که به ترتیب میانگین هر یک از فاکتورها به ترتیب در طول دوره عبارت بودند از: دمای آب $14/80 \pm 0/73$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن $4/80 \pm 0/26$ و pH $7/65 \pm 0/12$.

در کلیه حمام درمانی‌ها، نمونه‌برداری از ماهیان برای بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی در انتهای دوره 2 روزه انجام گرفت. پس از پایان عملیات ضد عفونی از هر تیمار 3 عدد بچه تاسماهی استرلیاد جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی بصورت تصادفی انتخاب شدند. جهت مطالعات باکتری‌شناسی نمونه‌ها جهت حذف فلور آب پرورشی با سرم فیزیولوژی استرل 0/9% شستشو داده شدند. سپس بوسیله قیچی و اسکالپل استرل از 1 سانتی‌متر مربع پوست و 1 گرم آبشش در شرایط استرل قطعه‌برداری شده و در ظرف استرل به قطعات ریزتری تقسیم شد. آنگاه با توزین نمونه، به میزان 9 برابر وزن بدست آمده به آن سرم فیزیولوژی استرل 0/9% اضافه نموده و محلول هموزن تهیه گردید. پس از تهیه رقت‌های لازم (1-10 تا 7-10) 0/1 میلی‌لیتر از رقت‌ها بوسیله سمپلر بر روی محیط کشت تربیتیک سوی آگار (TSA) به روش کشت سطحی تلقیح شدند و پلیت‌ها در دمای 20 درجه سانتی‌گراد به مدت 3-5 روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. شمارش‌ها بر اساس میانگین حسابی دو شمارش که در ضریب رقت ضرب شده محاسبه گردید. کلنی‌ها شمارش شده و CFU (Colony forming Unit) تعداد کلنی در واحد، محاسبه گشتند (Pollock و همکاران، 2002).

برای مطالعات قارچ‌شناسی بعد از 2-3 بار شستشو با آب مقطر استرل، به ظروف استرل حاوی 9 میلی‌لیتر آب مقطر

استرل منتقل شدند. پس از تهیه محلول سوسپانسیون جهت شمارش کلی (تعداد کلنی در میلی‌لیتر CFU) اقدام به رقیق‌سازی (1-10 تا 2-10) در لوله‌های آزمایش استرل گردید. 0/5 میلی‌لیتر از رقت‌های بدست آمده توسط پیپت استرل بر روی محیط‌های کشت SDA حاوی کلرامفنیکل 1% و جنتامایسین 80 میلی‌گرم کشت داده شدند. پلیت‌های کشت شده (از هر رقت 3 کشت) به مدت 48-72 ساعت به منظور شمارش کلی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. شمارش‌ها بر اساس میانگین حسابی دو شمارش که در ضریب رقت ضرب شده محاسبه گردید (Willoughby, 1994; کریم، 1378; جلیل‌پور، 1388).

به منظور ارزیابی اثرات هیستوپاتولوژیکی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم در پایان روز دوم از بین هر تیمار یک ماهی بطور تصادفی انتخاب و از آبشش آن‌ها جهت تهیه لام‌های هیستوپاتولوژی نمونه‌برداری صورت گرفت. برای فیکس نمودن نمونه بافت، آبشش ماهیان از آن‌ها خارج گردیده و در داخل محلول تثبیت‌کننده بوئن قرار گرفت. برای این کار از شیشه‌های تیره نمونه‌برداری استفاده می‌گردد و روی هر شیشه برچسب زده شد و نام و غلظت ماده مورد نظر ثبت گردید. پس از تثبیت نمونه‌ها در محلول بوئن مراحل آماده‌سازی بافت، آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه نمودن، قالب‌گیری، تهیه برش و رنگ‌آمیزی انجام گرفت (حلاجیان، 1388).

نتایج

تیمارهای 1 و 4 و تیمارهای 2 و 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت، در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند ($p < 0/05$). همچنین بر اساس نتایج عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 1 و 2 (سولفات مس) و تیمارهای 4 و 5 (پرمنگنات پتاسیم) عملکرد یکسانی در کاهش شمارش باکتریایی آبشش داشته‌اند (جدول 1). بر اساس نتایج میانگین شمارش باکتریایی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است ($p < 0/05$). تیمارهای 1، 2، 4 و 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت، در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. همچنین بر اساس نتایج و به منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 1 و 2 (سولفات مس) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای 4 و 5 (پرمنگنات پتاسیم) داشته‌اند (جدول 2).

جدول 1: میانگین شمارش باکتریایی آبشش ماهیان در شاهد و تیمار-های مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)



تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$4/76 \pm 0/05^c$	4/7	4/8
تیمار 1 (سولفات مس 10 میلی گرم در لیتر)	$3/30 \pm 0/17^a$	3	3/6
تیمار 2 (سولفات مس 5 میلی گرم در لیتر)	$3/47 \pm 0/12^a$	3/3	3/7
تیمار 3 (سولفات مس 2 میلی گرم در لیتر)	$3/85 \pm 0/03^b$	3/8	3/9

تیمار 4 (پرمنگنات پتاسیم 3 میلی گرم در لیتر)

تیمار 5 (پرمنگنات پتاسیم 2 میلی گرم در لیتر)

تیمار 6 (پرمنگنات پتاسیم 1 میلی گرم در لیتر)

حروف غیر همنام کوچک در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

جدول 2: میانگین شمارش باکتریایی پوست ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر سانتی متر مربع)

تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$4/77 \pm 0/12^a$	4/5	4/9
تیمار 1 (سولفات مس 10 میلی گرم در لیتر)	$3/10 \pm 0/1^b$	3	3/3
تیمار 2 (سولفات مس 5 میلی گرم در لیتر)	$3/20 \pm 0/11^c$	3	3/3
تیمار 3 (سولفات مس 2 میلی گرم در لیتر)	$3/85 \pm 0/03^c$	3/5	3/7
تیمار 4 (پرمنگنات پتاسیم 3 میلی گرم در لیتر)	$3/49 \pm 0/01^c$	3/4	3/6
تیمار 5 (پرمنگنات پتاسیم 2 میلی گرم در لیتر)	$3/47 \pm 0/11^d$	3/3	3/7
تیمار 6 (پرمنگنات پتاسیم 1 میلی گرم در لیتر)	$3/53 \pm 0/12^e$	3/3	3/7

حروف غیر همنام کوچک در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

تیمار 4 (پرمنگنات پتاسیم 3 میلی گرم در لیتر)	20	10	30
تیمار 5 (پرمنگنات پتاسیم 2 میلی گرم در لیتر)	26/67	20	30
تیمار 6 (پرمنگنات پتاسیم 1 میلی گرم در لیتر)	63/33	50	80

خطای استاندارد $\pm$ میانگین

حروف غیر همنام کوچک در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

بین میزان فلور قارچی آبشش ماهیان بین تیمارها و شاهد در پایان دوره اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p < 0/05$). تیمارهای 1، 2 و 4، 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی آبشش و پوست نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت در هر دو ضد عفونی کننده داشته اند و به صورت معنی داری باعث کاهش شمارش قارچی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده اند (جدول 3). همچنین بر اساس نتایج عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 4 و 5 عملکرد بهتری را در کاهش شمارش قارچی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای 1 و 2 داشته اند (جدول 4).

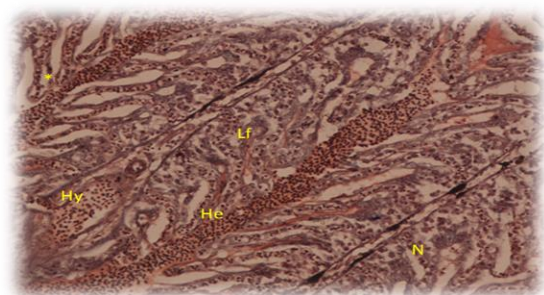
جدول 3: میانگین شمارش قارچی آبشش ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)

تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$120 \pm 11/55^d$	100	140
تیمار 1 (سولفات مس 10 میلی گرم در لیتر)	30 ± 10^a	20	50
تیمار 2 (سولفات مس 5 میلی گرم در لیتر)	$43/33 \pm 8/82^a$	30	60
تیمار 3 (سولفات مس 2 میلی گرم در لیتر)	$\pm 14/53^c$ 86/67	60	110

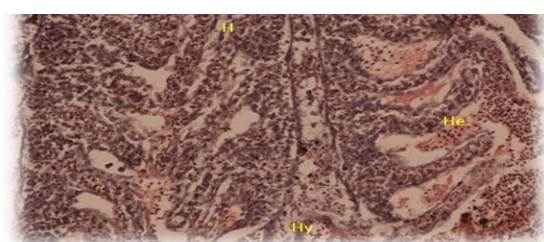
جدول 4: میانگین شمارش قارچی پوست ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)

تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$80 \pm 17/32^c$	50	110
تیمار 1 (سولفات مس 10 میلی گرم در لیتر)	$20 \pm 5/78^{ab}$	10	30
تیمار 2 (سولفات مس 5 میلی گرم در لیتر)	$23/33 \pm 8/81^{ab}$	10	40

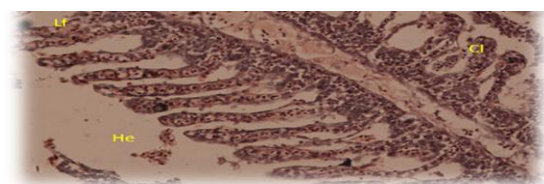




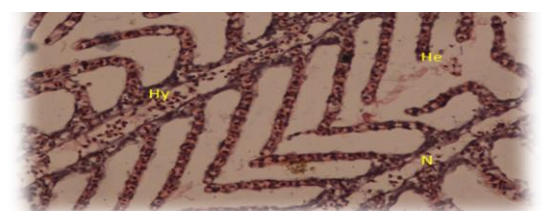
شکل 3: مشاهده عوارض پرخونی (Hy)، خونریزی (He) و هیپرپلازی (H) (20x- H&E) (در حمام‌دهی با سولفات مس 5ppm)



شکل 4: مشاهده عوارض نکروز سلولی (N)، چسبندگی رشته‌های ثانویه (Lf)، باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، پرخونی (Hy) و خونریزی (He) (20x- H&E) (در حمام‌دهی با سولفات مس 10 ppm)



شکل 5: مشاهده عوارض پرخونی (Hy)، خونریزی (He)، باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، چماقی شدن (Cl) و چسبندگی رشته‌های ثانویه (Lf) (20x- H&E) (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم 1 ppm)

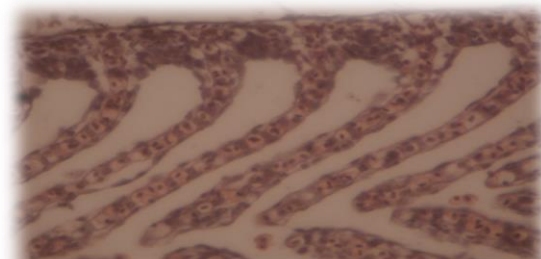


شکل 6: مشاهده عوارض خونریزی (He)، نکروز سلولی (N) داسی شکل شدن رشته‌ها (ستاره) (20x- H&E) (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم 2 ppm)

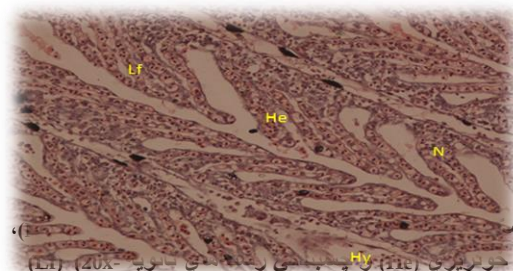
60	30	43/33 ± 8/82 ^b	تیمار 3 (سولفات مس 2 میلی‌گرم در لیتر)
10	0	6/67 ± 3/33 ^a	تیمار 4 (پرمنگنات پتاسیم 3 میلی‌گرم در لیتر)
10	0	6/67 ± 3/33 ^a	تیمار 5 (پرمنگنات پتاسیم 2 میلی‌گرم در لیتر)
30	20	23/33 ± 3/33 ^{ab}	تیمار 6 (پرمنگنات پتاسیم 1 میلی‌گرم در لیتر)

حروف غیر همنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد.

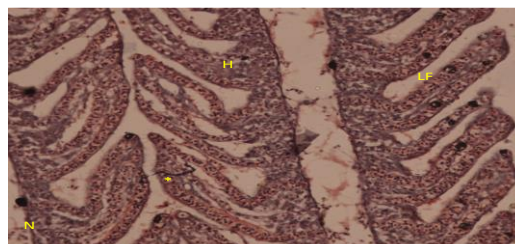
نتایج هیستوپاتولوژی نیز نشان داد که در یافت آبشش پس از قرار گرفتن در مجاورت دو ماده سولفات و پرمنگنات پتاسیم عوارضی همچون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، چسبندگی رشته‌های ثانویه، عریض و تحلیل رفتن لاملای اولیه، هیپرپلازی، جدا شدن لایه اپیتلیوم رشته‌های ثانویه، داسی شکل و چماقی شدن رشته‌های ثانویه وجود دارد. شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم میلی‌گرم در لیتر 3 بیشتر از سایر تیمارهای پرمنگنات پتاسیم بود و تیمار پرمنگنات پتاسیم میلی‌گرم در لیتر 2 نیز نسبت به دو تیمار دیگر کمتر بوده است. شدت بیشترین عارضه در بین تیمارهای سولفات مس در غلظت میلی‌گرم در لیتر 10 بوده است (شکل‌های 5 تا 8).



شکل 1: مشاهده رشته‌های ثانویه (40x- H&E) تیمار شاهد



شکل 2: مشاهده عوارض پرخونی (Hy)، خونریزی (He) و هیپرپلازی (H) (20x- H&E) (در حمام‌دهی با سولفات مس 2 میلی‌گرم در لیتر)



شکل 7: مشاهده عوارض چسبندگی رشته‌های ثانویه (LF)، هیپرپلازی (H)، نکروز سلولی (N) و باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، (x- H&E20) (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم 3ppm)

بهتری را در کاهش شمارش قارچی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای 1 و 2 داشته‌اند.

آبشش‌ها که محل تبادل گازی و یونی جهت تنفس و تنظیم اسمزی تاسماهیان می‌باشند، از جایگاه ویژه‌ای در سلامت آن‌ها برخوردارند، زیرا جهت جریان خون در مویرگ‌ها بر خلاف جهت جریان آب تنفسی است که در بین تیغه‌های آبشش قرار دارند. این سیستم در تعویض گازهای تنفسی بسیار موثر است (Altufiev, 1997).

در فرایند ضدعفونی آبشش‌های بچه تاسماهیان ایرانی توسط سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم با افزایش دوز دارو ارتباط مستقیم وجود ندارد. با توجه به اینکه آبشش ماهی همواره در معرض عوامل محیطی است و در شرایط نامساعد جهت محافظت و سازش با تغییراتی نیز روبرو می‌شود و سعی در محافظت دارد لذا احتمالاً می‌تواند در این عدم ارتباط دخیل باشد (مشتاقی، 1388). با تحقیق صورت گرفته مغایرت دارد. در صورتیکه در تحقیق انجام شده با افزایش دوز و کاهش زمان عملکرد بهتری حاصل شد.

در تحقیق انجام شده شمارش باکتریایی آبشش در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای 1، 4، 2 و 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت، در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. همچنین جهت مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 1 و 2 (سولفات مس) و تیمارهای 4 و 5 (پرمنگنات پتاسیم) عملکرد یکسانی در کاهش شمارش باکتریایی آبشش داشته‌اند.

از نظر میانگین شمارش قارچی آبشش، کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای 1، 4، 2 و 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی آبشش نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش قارچی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. به منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 4 و 5 عملکرد بهتری را در کاهش شمارش قارچی آبشش ماهیان نسبت به تیمارهای 1 و 2 داشته‌اند.

آبشش‌ها به علت موقعیت آناتومیک خود، که حجم بالایی از خون در آن‌ها جریان داشته و تماس بسیار نزدیکی که با آب دارند مرتباً تحت تأثیر عوامل و محرک‌های گوناگون محلول یا معلق در آب از جمله فلزات سنگین قرار گرفته و به شدت آسیب‌پذیر می‌باشند. در تحقیقی که توسط مظفری، 1391 صورت گرفت نیز به دنبال مجاورت بافت‌های آبشش و پوست ماهی سفید دریای خزر با غلظت 0/1 میلی‌گرم در لیتر سولفات مس ضایعاتی منجمله هاپیرپلازی در تیغه‌های اولیه و ثانویه آبششی ملاحظه گردید. آنچه بیشترین توجه را به خود جلب می‌کند حضور بسیار زیاد گلبول‌های قرمز در قسمت‌های انتهایی فیلامان‌های ثانویه می‌باشد و پرخونی بسیار زیادی قابل مشاهده می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده برای مقدار 250 میلی‌گرم در لیتر سولفات مس در تیمار کوتاه مدت (20 دقیقه) نشان داد که با افزایش ساعات آزمایش تأثیرات فلز مس بر روی

بدن که حیوان را از محیط مجزا و حمایت می‌کند همچنین راهی است که بسیاری از تماس‌ها و ارتباطات از طریق آن با محیط خارج صورت می‌گیرد. مهمترین وظیفه پوست ماهی حفاظت است. فرایند ضدعفونی سولفات مس روی پوست بچه تاسماهیان ایرانی با افزایش دوز دارو ارتباط مستقیم ندارد که احتمالاً می‌تواند با متغییر بودن بعضی از خصوصیات پوست بر حسب گونه، سن، شرایط محیطی همچنین ترشح موکوس، وجود فلس، ضخامت اپیدرم و مواردی از این قبیل مرتبط باشد (مشتاقی و همکاران، 1388). با تحقیق صورت گرفته مغایرت دارد. در صورتیکه در تحقیق انجام شده با افزایش دوز و کاهش زمان عملکرد بهتری حاصل شد.

در فرایند ضدعفونی توسط پرمنگنات پتاسیم از لحاظ بار میکروبی روی پوست بچه ماهیان کپور علفخوار با افزایش دوز دارو ارتباط مستقیم وجود ندارد. با افزایش غلظت مواد ضدعفونی کننده بار میکروبی هم افزایش می‌یابد و کمترین بار میکروبی در دوز 1 میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جوینده، 1391). در تحقیقی که صورت گرفت میانگین شمارش باکتریایی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای 1 و 4 (غوطه‌وری، 30-45 ثانیه بوسیله سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم) و 2 و 5 (حمام کوتاه مدت، 10 دقیقه بوسیله سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت، در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. جهت مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 1 و 2 (سولفات مس) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای 4 و 5 (پرمنگنات پتاسیم) داشته‌اند. میانگین شمارش قارچی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای 1، 4، 2 و 5 عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی پوست نسبت به حمام بلند مدت، 12 ساعت در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش قارچی پوست نسبت به شاهد و 2 تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. به منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای 4 و 5 عملکرد



را نشان داد. ماهی با تیمار 1/315 و 2/190 میلی گرم در لیتر هیپرپلازی گسترده، بهم چسبندگی تیغه‌های آبششی و از بین رفتن فضای بین تیغه‌های آبششی با تراوش التهابی شامل سلول های اپیتلیال نکروتیک را نشان داد (Darwish و همکاران، 2002).

در تحقیقی که توسط جوبنده (1391) انجام شد، نتایج حاصل از هیستوپاتولوژی آبشش بچه ماهیان کپور علفخوار پس از نود و شش ساعت در معرض پرمنگنات پتاسیم عوارضی از قبیل پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی لاملای ثانویه به همدیگر، نکروز سلولی (کم)، چماقی شدن رشته‌های ثانویه (کم)، تحلیل رفتن رشته‌های اولیه مشاهده شد. در تحقیقی که توسط مشتاقی طولارود، 1389 صورت گرفت پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان ایرانی در مجاورت پرمنگنات پتاسیم بعد از 96 ساعت عوارضی از قبیل پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی لاملای ثانویه به همدیگر، حجیم شدن غضروف‌های پشتیبان در رشته‌های آبششی، نازک شدن لاملای اولیه و ضخیم شدن لاملای ثانویه را نشان داد که شدت موارد آسیبی از تیمار کمتر به طرف تیمار بیشتر زیاد بود.

در تحقیق انجام شده شدت عارضه پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان استرلیاد بعد از 48 ساعت در مجاورت پرمنگنات پتاسیم مشاهده شد که شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم 3 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، 45-30 ثانیه) نسبت به تیمارهای 1 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت، 12 ساعت) و 2 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، 10-5 دقیقه) بیشتر و تیمار پرمنگنات پتاسیم 2 میلی گرم در لیتر نسبت به دو تیمار دیگر کمتر بوده است. عوارض دیده شده در آبشش ماهی در واقع یک پاسخ عمومی به تحریکات جهت محافظت یا سازش می‌باشد. این عوارض بر تبادلات گازی و تنفس تأثیر گذاشته و در حالات شدیدتر می‌تواند منجر به اتصال تیغه‌های مجاور به یکدیگر و جلوگیری از تبادلات گاز شده و در نهایت منجر به مرگ شود.

با توجه به نتایج بدست آمده از اثر سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش (عدم تفاوت معنی‌دار بین دو روش غوطه‌وری و کوتاه مدت) و همچنین اثرات هیستوپاتولوژیک (تفاوت‌های قابل قبول) در ماهی استرلیاد روش ضد عفونی کوتاه مدت (10 دقیقه) توصیه می‌شود. ضمن اینکه در این روش ما مجبور به دستکاری و خروج ماهی برای ضد عفونی غوطه‌وری و قطع طولانی مدت جریان آب برای روش ضد عفونی طولانی مدت (12 ساعت) نیستیم.

تشکر و قدردانی

از جناب مهندس عباس عزیزاده ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر تاسماهیان شهید دکتر بهشتی و کلیه کارشناسان آن مرکز که در انجام این تحقیق همکاری لازم را مبذول داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. آذری تاکامی، ق.، 1388. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری)، انتشارات دانشگاه تهران، 401 صفحه.

پوست افزایش می‌یابد. هر چقدر ساعت آزمایش افزایش می‌یابد غلظت کمتری از ماده ضد عفونی لازم است. یکی از عوامل تأثیرگذار در تحقیق انجام شده فاکتور زمان می‌باشد. عامل سختی آب نیز بر روی نتیجه آزمایش تأثیرگذار است. با افزایش سختی آب منجر به رسوب سولفات مس می‌گردد، از این رو برای انجام آزمایش نیاز به آب با سختی کم می‌باشد (فرخ روز و همکاران، 1392).

در تحقیقی که توسط جوبنده (1391) صورت گرفت بعد از قرارگیری بچه ماهیان کپور علفخوار در مجاورت سولفات مس بعد از نود و شش ساعت عوارضی از قبیل پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی رشته‌های آبششی ثانویه و نکروز سلولی (کم) مشاهده شد.

پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان ایرانی در مجاورت سولفات مس بعد از 96 ساعت عوارضی از قبیل پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی لاملای ثانویه، نازک شدن لاملای اولیه، ترشحات موکوسی، حجیم شدن غضروف‌های پشتیبان در رشته‌های آبششی و نکروزی شدن لاملا مشاهده شد که شدت موارد آسیبی با افزایش غلظت افزایش پیدا کرد (مشتاقی و همکاران، 1388).

طی تحقیقات رستمی و سلطانی در سال 1388 پس از قرارگیری کپور معمولی در مجاورت سولفات مس به میزان 0/01 میلی گرم در لیتر، آبشش دچار هیپرتروفی، هیپرپلازی سلول‌های پوششی آبشش، پرخونی، چسبندگی لام‌های ثانویه به یکدیگر و افزایش سلول‌های کلراید مشاهده شد.

در تحقیقی هاپیرپلازی لاملاهای آبششی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بدنبال مجاورت با سولفات مس را بعنوان یک مکانیسم جبرانی (ترمیمی) گزارش نمودند که این ضایعه نشان‌دهنده عدم توانایی سلول‌ها در پوسته‌پوسته شدن و تفکیک شدن می‌باشد که در نهایت تقسیم سلولی یا میتوز افزایش می‌یابد (Heerden و همکاران، 2004).

در تحقیق صورت گرفته پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان استرلیاد بعد از 48 ساعت در مجاورت سولفات مس در بررسی بافت‌های آبشش تیمارهای مختلف، عوارضی همچون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، چسبندگی رشته‌های ثانویه، عریض و تحلیل رفتن لاملای اولیه، هیپرپلازی، جدا شدن لایه اپیتلیوم رشته‌های ثانویه، داسی شکل و چماقی شدن رشته‌های ثانویه مشاهده گردید. شدت عارضه پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان استرلیاد بعد از 48 ساعت در مجاورت سولفات مس مشاهده شد که شدت عارضه در تیمار سولفات مس 10 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، 45-30 ثانیه) نسبت به تیمارهای 2 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت، 12 ساعت) و 5 میلی گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، 10-5 دقیقه) بیشتر از همه بوده است.

ماهی که در مجاورت KMnO_4 قرار گرفته است ممکن است علائمی از آسیب بافت‌ها بسته به غلظت KMnO_4 مورد استفاده نشان دهد. در تحقیقی که صورت گرفت گربه ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* که در مجاورت KMnO_4 با غلظت های 0/438، 1/315 و 2/190 میلی گرم در لیتر با 0/3 $\text{pH}=7/3\pm$ قرار گرفته بودند، ضایعات میکروسکوپی را در آبشش‌ها نشان داد. ماهی با تیمار 0/438 هاپیرپلازی مختصر

- University of California Agricultural and Natural Resources Publications, Oakland, CA. 197 p.
18. **Peterson, D.; Vecsei, P. and Hochleithner, M., 2006.** Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Acipenseridae). Environ. Biol. Fishes. 2 p.
19. **Pollock, R.A.; Finlay, L.; Mondschein, W. and Modesto, R. R., 2002.** Laboratory exercises in Microbiology. John Wiley & sons, INC. 232 p.
20. **Willoughby, I.G., 1994.** Fungi and fish diseases. Pisces Press. Stirling, Scotland. 57 p.
2. **پورکاظمی، م.، 1376.** نگرشی بر وضعیت تاس‌ماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران. سال ششم، شماره 3، صفحه 13 تا 22.
3. **جلیل‌پور، ج.؛ خسروی، ع.؛ ابراهیمزاده موسوی، ح. و شناور ماسوله، ع.، 1388.** بررسی میزان فراوانی و شناسایی عوامل قارچی تخم و لارو تاسماهی ایرانی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی. مجله علمی شیلات ایران. سال هیجدهم، شماره 3.
4. **جوینده، ف.، 1391.** ارزیابی اثرات ضد عفونی کننده پرمنگنات پتاسیم و سولفات مس بر بار میکروبی پوست و شاخص‌های بافت شناسی آبشش بچه ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. 93 صفحه.
5. **رستمی، م. و سلطانی، م.، 1388.** مطالعه اثرات دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام های کپور معمولی. مجلات تحقیقات دامپزشکی، سال 64، شماره 3.
6. **ستاری، م.، 1378.** بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. 304 صفحه.
7. **کریم، گ.، 1378.** آزمون‌های میکروبی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. 517 صفحه.
8. **مشتاقی، ب.؛ نظامی بلوچی، ش.؛ خارا، ح.؛ پژند، ذ.؛ شناور ماسوله، ع.؛ حلاجیان، ع. و فتح الهی، ر.، 1388.** تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم ($Kmno_4$) و سولفات مس ($Cuso_4.5H_2O$) در بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) (Borodin, 1897). مجله علوم زیستی. سال سوم، شماره 4، صفحات 77 تا 67.
9. **فرخ روز، م.؛ زمینی، ع. و مظفری، ا.، 1392.** بررسی تاثیرات فرمالین و سولفات مس بر بافت‌های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر. مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری. سال ششم، شماره 4، صفحات 35 تا 27.
10. **Altufiev, YU., 1997.** Morphplucltional abnormalities in some organs and tissues of the Caspian sturgeon (Acipenseridae) 3rd ISS 97.
11. **Cardeilhac, P. and Whitaker, B., 1998.** Copper treatments: uses and precautions. Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract. Vol. 18, pp: 435-448.
12. **Darwish, A.M.; Griffin, BR.; Straus, D.L. and Mitchell, A.J., 2002.** Histological and hematological evaluation of potassium permanganate exposure in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 14, pp: 134-144.
13. **Duncan, T.O., 1978.** The use of potassium permanganate ($Kmno_4$) in fisheries; a literature review. National Technical Information Service, pp: 275-397, FWS-LR-74-14. Washington DC.
14. **Gratzek, J.B. and Blasiola, G.C., 1992.** Checklists, quarantine procedures and calculations of particular use in fish health management. In: Gratzek, J.B., Matthews, J.R. (Eds.), Aquariology: The Science of Fish Health Management. Tetra Press, Morris Plains, NJ, pp: 301-31.
15. **Gratzek, J.B.; Shotts jr, E.B. and Dave, D.L., 1992.** In fectionsdiseases and parasites of freshwater ornamental fish. In: Gratzek, J.B, Matthews, J.R.(Eds.), Aquariology: The science of fish Health management. Terra press, Morris plains, NJ. pp: 227-274.
16. **Heerden, D.; Vosloo, A. and Nikinma, M., 2004.** Effects of short-term copper exposure on gill structure metallothionein and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic toxicology. Vol.69.
17. **Leitritz, E. and Lewis, R.C., 1980.** Trout and Salmon Culture (Hatchery Methods): California Fish Bulletin Number 164.

