

## اثرات حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی- قارچی پوست و آبشش و هیستوپاتولوژی آبشش تاس ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

- محمدتقی سلاخ قاسمی: گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
- حسین خارا\*: گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
- جلیل جلیل پور: بخش بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

### 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 تاس ماهی استرلیاد بود. این پژوهش در سال ۱۳۹۳ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت انجام شد. برای این منظور ۱۰۵ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد با وزن میانگین  $2/85 \pm 1/83$  گرم و طول میانگین  $48 \pm 23/67$  سانتی‌متر مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت اجراء وان با حجم ۴۰ لیتر آب استفاده شد. تیمارها شامل سولفات مس با دوزهای ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۵ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، ۱۰-۵ دقیقه)، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و پرمنگنات پتاسیم با دوزهای ۱ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، ۱۰-۵ دقیقه)، ۳ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و یک گروه شاهد «بدون ماده ضدعفونی» بودند. در هر سه نوع حمام درمانی، نمونه‌برداری از ماهیان برای بررسی‌های باکتریایی- قارچی و بافت شناسی 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 ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر و سولفات مس با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش فلور باکتریایی پوست در بچه تاس ماهیان استرلیاد شدند. نتایج بافت‌شناسی آبشش عوارضی چون پرخونی، خونریزی، نکروز سلولی، چسبندگی رشته‌های ثانویه، عریض و تحلیل رفتن لاملای اولیه، هیپرپلازی، جداشدن لایه اپی‌تلیوم رشته‌های ثانویه، داسی شکل و چماقی شدن رشته‌های ثانویه نشان دادند. شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی‌گرم در لیتر و سولفات مس ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بیش‌تر از سایر تیمارها بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده در ماهی استرلیاد روش ضدعفونی کوتاه مدت (۱۰ دقیقه) برای هر دو ماده توصیه می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تاس ماهی استرلیاد، سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم، فلور باکتریایی- قارچی، هیستوپاتولوژی

## مقدمه

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 (پورکاسمی، ۱۳۷۶). ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) کوچک‌ترین گونه از خانواده تاس ماهیان 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، ۲۰۰۶). در صنعت آبزی‌پروری 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 به طوری که در غلظت‌های بالا سبب مسمومیت‌های حاد تا مزمن می‌گردد (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). در این بین سولفات مس در آبزیان به طور گسترده برای جلوگیری از پوسیدگی باله‌ها و آسیب‌های پوست ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gratzek و همکاران، ۱۹۹۲؛ Lewis و Leitritz، ۱۹۸۰). هم‌چنین برای جلوگیری از انگل‌های خارجی ماهی در آکواریوم‌های دریایی مورد استفاده می‌شود (Whitaker و Cardeilhac، ۱۹۹۸؛ Gratzek و Blasiola، ۱۹۹۲) پرمنگنات پتاسیم یک ماده شیمیایی غیر آلی است که به طور گسترده در سطح جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و اطلاعات زیادی در مورد فرآورده‌های شیمیایی و موارد استفاده آن در دسترس است (Duncan، ۱۹۷۸). 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، ۱۳۷۸). در این تحقیق دو ماده ضد عفونی کننده سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم برای کنترل برخی بیماری‌های قارچی و باکتریایی تاس ماهی استرلیاد استفاده شدند. هدف این تحقیق تعیین اثر حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش و بافت‌شناسی آبشش تاس ماهی استرلیاد می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در ۲۵ کیلومتری جنوب

شرقی شهرستان رشت در حاشیه رودخانه سفیدرود و در جوار سد سنگر اجراء شد. برای انجام این تحقیق ۱۰۵ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد و ۲۱ وان با حجم ۴۰ لیتر آب استفاده شدند. در طول دوره آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل: دما، اکسیژن و pH توسط دستگاه اکسی متر HACH مدل HQ۴۰d اندازه گیری 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، نمونه برداری از ماهیان برای بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی در انتهای دوره ۲ روزه انجام گرفت. پس از پایان عملیات ضد عفونی از هر تیمار ۳ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی به صورت تصادفی انتخاب شدند. جهت مطالعات باکتری‌شناسی نمونه‌ها جهت حذف فلور آب پرورشی با سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹٪ شستشو داده شدند. سپس به وسیله قیچی و اسکالپل استریل از ۱ سانتی‌متر مربع پوست و ۱ گرم آبشش در شرایط استریل قطعه برداری شده و در ظرف استریل به قطعات ریزتری تقسیم شد. آن‌گاه با توزین نمونه، به میزان ۹ برابر وزن به دست آمده به آن سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹٪ اضافه نموده و محلول هموزن تهیه گردید. پس از تهیه رقت‌های لازم (۱-۱۰ تا ۷-۱۰) ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌ها به وسیله سمپلر بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) به روش کشت سطحی تلقیح شدند و پلیت‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵-۳ 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، ۲۰۰۲). برای مطالعات قارچ‌شناسی بعد از ۳-۲ بار شستشو با آب مقطر استریل، به ظروف استریل حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل منتقل شدند. پس از تهیه محلول سوسپانسیون جهت شمارش کلی (تعداد کلنی در میلی‌لیتر = CFU) اقدام به رقیق سازی (۱-۱۰ تا ۲-۱۰) در لوله‌های آزمایش استریل گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت‌های به دست آمده توسط پمپ استریل بر روی محیط‌های کشت SDA حاوی کلرامفنیکل ۱٪ و جنتامایسین ۸۰ میلی‌گرم کشت داده شدند. پلیت‌های کشت شده (از هر رقت ۳ کشت) به مدت ۴۸-۷۲ ساعت به منظور شمارش کلی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. شمارش‌ها بر اساس میانگین حسابی دو شمارش که در ضریب رقت ضرب شده محاسبه گردید (جلیل‌پور، ۱۳۸۸؛ کریم، ۱۳۷۸؛ Willoughby، ۱۹۹۴).



به منظور ارزیابی اثرات هیستوپاتولوژیکی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم در پایان روز دوم از بین هر تیمار یک ماهی به طور تصادفی انتخاب و از آبشش آن‌ها جهت تهیه لام‌های هیستوپاتولوژی نمونه برداری صورت گرفت. برای فیکس نمودن نمونه بافت، آبشش ماهیان از آن‌ها خارج گردیده و در داخل محلول تثبیت کننده بوئن قرار گرفت. برای این کار از شیشه‌های تیره نمونه برداری 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، آبیگری، شفاف‌سازی، پارافینه نمودن، قالب‌گیری، تهیه برش و رنگ آمیزی انجام گرفت (حلاجیان، ۱۳۸۸).

## نتایج

تیمارهای ۱ و ۴ و تیمارهای ۲ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت، در

هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی داری باعث کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند ( $p < 0.05$ ). همچنین براساس نتایج عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۱ و ۲ (سولفات مس) و تیمارهای ۴ و ۵ (پرمنگنات پتاسیم) عملکرد یکسانی در کاهش شمارش باکتریایی آبشش داشته‌اند (جدول ۱). براساس نتایج میانگین شمارش باکتریایی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داده است ( $p < 0.05$ ). تیمارهای ۱، ۲، ۴ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت، در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی داری باعث کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. همچنین براساس نتایج و به منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۱ و ۲ (سولفات مس) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای ۴ و ۵ (پرمنگنات پتاسیم) داشته‌اند (جدول ۲).

جدول ۱: میانگین شمارش باکتریایی آبشش ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)

تیمار	خطای استاندارد	میانگین	حد اقل	حد اکثر
شاهد	$4/76 \pm 0/05^c$		۴/۷	۴/۸
تیمار ۱ (سولفات مس ۱۰ میلی گرم در لیتر)	$3/30 \pm 0/17^a$		۳	۳/۶
تیمار ۲ (سولفات مس ۵ میلی گرم در لیتر)	$3/47 \pm 0/12^a$		۳/۳	۳/۷
تیمار ۳ (سولفات مس ۲ میلی گرم در لیتر)	$3/85 \pm 0/03^b$		۳/۸	۳/۹
تیمار ۴ (پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی گرم در لیتر)	$3/49 \pm 0/06^a$		۳/۹	۳/۶
تیمار ۵ (پرمنگنات پتاسیم ۲ میلی گرم در لیتر)	$3/48 \pm 0/09^a$		۳/۳	۳/۶
تیمار ۶ (پرمنگنات پتاسیم ۱ میلی گرم در لیتر)	$3/96 \pm 0/02^b$		۳/۹	۴

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

جدول ۲: میانگین شمارش باکتریایی پوست ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر سانتی متر مربع)

تیمار	خطای استاندارد	میانگین	حد اقل	حد اکثر
شاهد	$4/77 \pm 0/12^a$		۴/۵	۴/۹
تیمار ۱ (سولفات مس ۱۰ میلی گرم در لیتر)	$3/10 \pm 0/11^b$		۳	۳/۳
تیمار ۲ (سولفات مس ۵ میلی گرم در لیتر)	$3/20 \pm 0/11^c$		۳	۳/۳
تیمار ۳ (سولفات مس ۲ میلی گرم در لیتر)	$3/85 \pm 0/03^c$		۳/۵	۳/۷
تیمار ۴ (پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی گرم در لیتر)	$3/49 \pm 0/01^c$		۳/۴	۳/۶
تیمار ۵ (پرمنگنات پتاسیم ۲ میلی گرم در لیتر)	$3/47 \pm 0/11^d$		۳/۳	۳/۷
تیمار ۶ (پرمنگنات پتاسیم ۱ میلی گرم در لیتر)	$3/53 \pm 0/12^e$		۳/۳	۳/۷

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

نسبت به شاهد و دو تیمار حمام دراز مدت شده‌اند (جدول ۳). همچنین بر اساس نتایج عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۴ و ۵ عملکرد بهتری را در کاهش شمارش قارچی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ داشته‌اند (جدول ۴).

بین میزان فلور قارچی آبشش ماهیان بین تیمارها و شاهد در پایان دوره اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). تیمارهای ۱، ۴، ۲ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی آبشش و پوست نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی داری باعث کاهش شمارش قارچی آبشش



جدول ۳: میانگین شمارش قارچی آبشش ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)

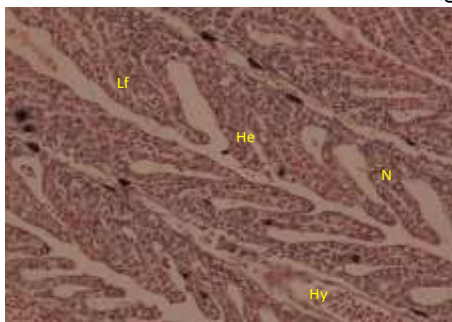
تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$120 \pm 11/55^d$	۱۰۰	۱۴۰
تیمار ۱ (سولفات مس ۱۰ میلی گرم در لیتر)	$30 \pm 10^a$	۲۰	۵۰
تیمار ۲ (سولفات مس ۵ میلی گرم در لیتر)	$43/33 \pm 8/82^a$	۳۰	۶۰
تیمار ۳ (سولفات مس ۲ میلی گرم در لیتر)	$86/67 \pm 14/53^c$	۶۰	۱۱۰
تیمار ۴ (پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی گرم در لیتر)	$20 \pm 5/78^a$	۱۰	۳۰
تیمار ۵ (پرمنگنات پتاسیم ۲ میلی گرم در لیتر)	$26/67 \pm 3/33^{ab}$	۲۰	۳۰
تیمار ۶ (پرمنگنات پتاسیم ۱ میلی گرم در لیتر)	$63/33 \pm 8/82^b$	۵۰	۸۰

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد

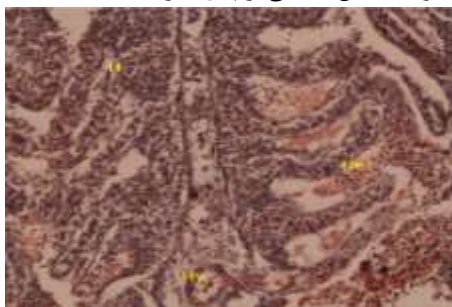
جدول ۴: میانگین شمارش قارچی پوست ماهیان در شاهد و تیمارهای مختلف (لگاریتم کولنی بر گرم)

تیمار	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	حداقل	حد اکثر
شاهد	$80 \pm 17/32^c$	۵۰	۱۱۰
تیمار ۱ (سولفات مس ۱۰ میلی گرم در لیتر)	$20 \pm 5/78^{ab}$	۱۰	۳۰
تیمار ۲ (سولفات مس ۵ میلی گرم در لیتر)	$33/33 \pm 8/81^{ab}$	۱۰	۴۰
تیمار ۳ (سولفات مس ۲ میلی گرم در لیتر)	$43/33 \pm 8/82^b$	۳۰	۶۰
تیمار ۴ (پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی گرم در لیتر)	$6/67 \pm 3/33^a$	۰	۱۰
تیمار ۵ (پرمنگنات پتاسیم ۲ میلی گرم در لیتر)	$6/67 \pm 3/33^a$	۰	۱۰
تیمار ۶ (پرمنگنات پتاسیم ۱ میلی گرم در لیتر)	$23/33 \pm 3/33^{ab}$	۲۰	۳۰

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



شکل ۲: مشاهده عوارض پر خونی (Hv)، نکروز سلولی (N)، خونریزی (He) و چسبندگی رشته های ثانویه (Lf) (۲۰x- H&amp;E) در حمام-دهی با سولفات مس ۲ میلی گرم در لیتر)



شکل ۳: مشاهده عوارض پر خونی (Hv)، خونریزی (He) و هیپرپلازی (H) (۲۰x- H&amp;E) (در حمام دهی با سولفات مس ۵ppm)

نتایج هیستوپاتولوژی نیز نشان داد که در بافت آبشش پس از قرار گرفتن در مجاورت دو ماده سولفات و پرمنگنات پتاسیم عوارضی هم چون پر خونی، خونریزی، نکروز سلولی، چسبندگی رشته های ثانویه، عریض و تحلیل رفتن لاملای اولیه، هیپرپلازی، جدا شدن لایه اپیتلیوم رشته های ثانویه، داسی شکل و چماقی شدن رشته های ثانویه وجود دارد. شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم میلی گرم در لیتر ۳ بیش تر از سایر تیمارهای پرمنگنات پتاسیم بود و تیمار پرمنگنات پتاسیم میلی گرم در لیتر ۲ نیز نسبت به دو تیمار دیگر کم تر بوده است. شدت بیشترین عارضه در بین تیمارهای سولفات مس در غلظت میلی گرم در لیتر ۱۰ بوده است (شکل های ۵ تا ۸).



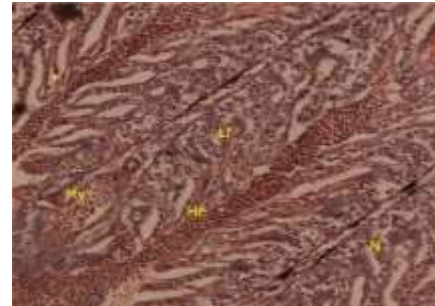
شکل ۱: مشاهده رشته های ثانویه (۴۰x- H&amp;E) تیمار شاهد

## بحث

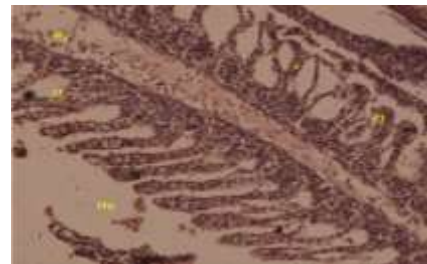
پوست ماهی مانند سایر مهره‌داران، پوششی است برای بدن که حیوان را از محیط مجزا و حمایت می‌کند هم‌چنین راهی است که بسیاری از تماس‌ها و ارتباطات از طریق آن با محیط خارج صورت می‌گیرد. مهم‌ترین وظیفه پوست ماهی حفاظت است. فرآیند ضدعفونی سولفات مس روی پوست بچه تاس‌ماهیان ایرانی با افزایش دوز دارو ارتباط مستقیم 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، ۱۳۸۸). با تحقیق صورت گرفته مغایرت دارد. در صورتی که در تحقیق انجام شده با افزایش دوز و کاهش زمان عملکرد بهتری حاصل شد.

در فرآیند 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 ۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جوینده، ۱۳۹۱). در تحقیقی که صورت گرفت میانگین شمارش باکتریایی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای ۱ و ۴ (غوطه‌وری، ۳۰-۴۵ ثانیه به‌وسیله سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم) و ۲ و ۵ (حمام کوتاه مدت، ۱۰ دقیقه به‌وسیله سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت، در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به‌صورت 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 ۱ و ۲ (سولفات مس) عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای ۴ و ۵ (پرمنگنات پتاسیم) داشته‌اند. میانگین شمارش قارچی پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای ۱، ۴، ۲ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی پوست نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت در هر دو ضدعفونی کننده داشته‌اند و به‌صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش قارچی پوست نسبت به شاهد و ۲ تیمار حمام دراز مدت شده‌اند. به‌منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۴ و ۵ عملکرد بهتری را در کاهش شمارش قارچی پوست ماهیان نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ داشته‌اند.

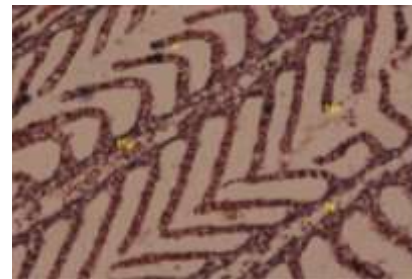
آبشش‌ها که محل تبادل گازی و یونی جهت تنفس و تنظیم اسمزی تاس‌ماهیان می‌باشند، از جایگاه ویژه‌ای در سلامت آن‌ها



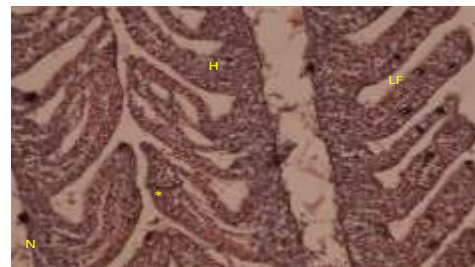
شکل ۴: مشاهده عوارض نکروز سلولی (N)، چسبندگی رشته‌های ثانویه (Lf)، باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، پرخونی (Hy) و خونریزی (He) (در حمام‌دهی با سولفات مس ۱۰ ppm)



شکل ۵: مشاهده عوارض پرخونی (Hy)، خونریزی (He)، باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، چماقی شدن (Cl) و چسبندگی رشته‌های ثانویه (Lf) (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم ۱ ppm)



شکل ۶: مشاهده عوارض خونریزی (He)، نکروز سلولی (N) داسی شکل شدن رشته‌ها (ستاره) (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم ۲ ppm)



شکل ۷: مشاهده عوارض چسبندگی رشته‌های ثانویه (Lf)، هیپرپلازی (H)، نکروز سلولی (N) و باز شدن لایه اپیتلیوم (ستاره)، (در حمام‌دهی با پرمنگنات پتاسیم ۳ ppm)



می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده برای مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس در تیمار کوتاه مدت (۲۰ دقیقه) نشان داد که با افزایش ساعات آزمایش تأثیرات فلز مس بر روی 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 (فرخ‌روز و همکاران، ۱۳۹۲).

در تحقیقی که توسط جوینده (۱۳۹۱) 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 تاس ماهیان ایرانی در مجاورت سولفات مس بعد از ۹۶ 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، ۱۳۸۸).

طی تحقیقات رستمی و سلطانی (۱۳۸۸) پس از قرارگیری کپور معمولی در مجاورت سولفات مس به میزان ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، آبشش دچار هیپر تروفی، هیپرپلازی سلول‌های پوششی آبشش، پرخونی، چسبندگی لام‌های ثانویه به یکدیگر و افزایش سلول‌های کلراید مشاهده شد. در تحقیقی هایپرپلازی لاملاهای آبششی در ماهی قزل آلی رنگین کمان به دنبال مجاورت با سولفات مس را به عنوان 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، ۲۰۰۴).

در تحقیق صورت گرفته پس از قرارگیری بچه تاس ماهیان استرلیاد بعد از ۴۸ 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 تاس ماهیان استرلیاد بعد از ۴۸ ساعت در مجاورت سولفات مس مشاهده شد که شدت عارضه در تیمار سولفات مس ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) نسبت به تیمارهای ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت،

برخوردارند، زیرا جهت جریان خون در مویرگ‌ها برخلاف جهت جریان آب تنفسی است که در بین تیغه‌های آبشش قرار دارند. این سیستم در تعویض گازهای تنفسی بسیار موثر است (Altufiev، ۱۹۹۷).

در فرآیند ضد عفونی آبشش‌های بچه تاس ماهیان 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، ۱۳۸۸). با تحقیق صورت گرفته مغایرت دارد. در صورتی که در تحقیق انجام شده با افزایش دوز و کاهش زمان عملکرد بهتری حاصل شد.

در تحقیق انجام شده شمارش باکتریای آبشش در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. تیمارهای ۱، ۴، ۲ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت، در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش باکتریایی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام درازمدت شده‌اند. هم‌چنین جهت مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۱ و ۲ (سولفات مس) و تیمارهای ۴ و ۵ (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 ۱، ۴، ۲ و ۵ عملکرد بهتری در کاهش شمارش قارچی آبشش نسبت به حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت در هر دو ضد عفونی کننده داشته‌اند و به صورت معنی‌داری باعث کاهش شمارش قارچی آبشش نسبت به شاهد و دو تیمار حمام درازمدت شده‌اند. به منظور مقایسه عملکرد دو ماده و دو روش درمانی تیمارهای ۴ و ۵ عملکرد بهتری را در کاهش شمارش قارچی آبشش ماهیان نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ داشته‌اند.

آبشش‌ها به علت موقعیت آناتومیکی 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 (۱۳۹۱) صورت گرفت نیز به دنبال مجاورت بافت‌های آبشش و پوست ماهی سفید دریای خزر با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس ضایعاتی از جمله هایپرپلازی 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

اثرات هیستوپاتولوژیک (تفاوت‌های قابل قبول) در ماهی استرلیاد روش ضدعفونی کوتاه مدت (۱۰ دقیقه) توصیه می‌شود. ضمن این‌که در این روش اجباری به دستکاری و خروج ماهی برای ضدعفونی غوطه‌وری و قطع طولانی مدت جریان آب برای روش ضدعفونی طولانی مدت (۱۲ ساعت) نیست.

## تشکر و قدردانی

از جناب مهندس عباس علیزاده 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

۱. آذری‌ناکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری)، انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۱ صفحه.
۲. پورکاظمی، م.، ۱۳۷۶. نگرشی بر وضعیت تاس‌ماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران. سال ۶، شماره ۳، صفحات ۱۳ تا ۲۲.
۳. جلیل‌پور، ج.؛ خسروی، ع.؛ ابراهیم‌زاده موسوی، ح. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۸. 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 ۱۸، شماره ۳، صفحات ۳۵ تا ۴۲.
۴. جوینده، ف.، ۱۳۹۱. ارزیابی اثرات ضدعفونی کننده پرمنگنات پتاسیم و سولفات مس بر بار میکروبی پوست و شاخص‌های بافت‌شناسی آبشش بچه‌ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۹۳ صفحه.
۵. رستمی، م. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸. مطالعه اثرات دوز مزمن سولفات مس بر برخی اندام‌های کپور معمولی. مجلات تحقیقات دامپزشکی. سال ۶۴، شماره ۳، صفحات ۱۹۳ تا ۱۹۸.
۶. ستاری، م.، ۱۳۷۸. بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. رشت. ۳۰۴ صفحه.
۷. کریم، گ.، ۱۳۷۸. آزمون‌های میکروبی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۱۷ صفحه.
۸. مشتاقی، ب.؛ نظامی‌بلوچی، ش.؛ خارا، ح.؛ پژند، ذ.؛ شناور ماسوله، ع.؛ حلاجیان، ع. و فتح‌الهی، ر.، ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم ( $\text{KMnO}_4$ ) و سولفات مس ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) در بچه تاس‌ماهیان ایرانی (۱۸۹۷). مجله علوم زیستی. سال ۳، شماره ۴، صفحات ۷۷ تا ۶۷.

۱۲ ساعت) و ۵ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، ۱۰-۵ دقیقه) بیش‌تر از همه بوده است. ماهی که در مجاورت  $\text{KMnO}_4$  قرار گرفته است ممکن است علائمی از آسیب بافت‌ها بسته به غلظت  $\text{KMnO}_4$  مورد استفاده نشان دهد. در تحقیقی که صورت گرفت گربه ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* که در مجاورت  $\text{KMnO}_4$  با غلظت‌های ۰/۴۳۸، ۱/۳۱۵ و ۲/۱۹۰ میلی‌گرم در لیتر با  $\text{pH}=7/3 \pm 0/3$  قرار گرفته بودند، ضایعات میکروسکوپی را در آبشش‌ها نشان داد. ماهی با تیمار ۰/۴۳۸ هاپیرپلازی مختصر را نشان داد. ماهی با تیمار ۱/۳۱۵ و ۲/۱۹۰ میلی‌گرم در لیتر هیپرپلازی گسترده، به هم چسبیدگی تیغه‌های آبششی و از بین رفتن فضای بین تیغه‌های آبششی با تراوش التهابی شامل سلول‌های اپی‌تلیال نکروتیک را نشان داد (Darwish) و همکاران، ۲۰۰۲).

در تحقیقی که توسط جوینده (۱۳۹۱) 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 (۱۳۸۹) صورت گرفت پس از قرارگیری بچه تاس‌ماهیان ایرانی در مجاورت پرمنگنات پتاسیم بعد از ۹۶ ساعت عوارضی از قبیل پرخونی، هیپرپلازی، چسبندگی لاملای ثانویه به همدیگر، حجیم‌شدن 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 ۴۸ ساعت در مجاورت پرمنگنات پتاسیم مشاهده شد که شدت عارضه در تیمار پرمنگنات پتاسیم ۳ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) نسبت به تیمارهای ۱ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت) و ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام‌دهی کوتاه مدت، ۱۰-۵ دقیقه) بیش‌تر و تیمار پرمنگنات پتاسیم ۲ میلی‌گرم 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 به‌دست 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



۹. فرخ‌روز، م؛ زمینی، ع. و مظفری، ا.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیرات فرمالین و سولفات مس بر بافت‌های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر. مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری. سال ۶، شماره ۴، صفحات ۳۵ تا ۲۷.
۱۰. **Altufiev, Y.U.**, ۱۹۹۷. Morphpluctional abnormalities in some organs and tissues of the Caspian sturgeon (*Acipenseridae*)<sup>۳۳</sup> ISS ۹۷.
۱۱. **Cardeilhac, P. and Whitaker, B.**, ۱۹۹۸. Copper treatments: uses and precautions. *Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract.* Vol. ۱۸, pp: ۴۳۵-۴۴۸.
۱۲. **Darwish, A.M.; Griffin, BR.; Straus, D.L. and Mitchell, A.J.**, ۲۰۰۲. Histological and hematological evaluation of potassium permanganate exposure in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health.* Vol. ۱۴, pp: ۱۳۴-۱۴۴.
۱۳. **Duncan, T.O.**, ۱۹۷۸. The use of potassium permanganate ( $Kmno_4$ ) in fisheries; a literature review. National Technical Information Service, pp: ۲۷۵-۳۹۷, FWS-LR-۷۴-۱۴. Washington DC.
۱۴. **Gratzek, J.B. and Blasiola, G.C.**, ۱۹۹۲. 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: ۳۰۱-۳۱.
۱۵. **Gratzek, J.B.; Shotts jr, E.B. and Dave, D.L.**, ۱۹۹۲. In fectionsdisease 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: ۲۲۷-۲۷۴.
۱۶. **Heerden, D.; Vosloo, A. and Nikinma, M.**, ۲۰۰۴. Effects of short-term copper exposure on gill structure metallothionein and hypoxia-inducible factor- $\alpha$  (HIF- $\alpha$ ) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology.* Vol. ۶۹.
۱۷. **Leitritz, E. and Lewis, R.C.**, ۱۹۸۰. Trout and Salmon Culture (Hatchery Methods): California Fish Bulletin Number ۱۶۴. University of California Agricultural and Natural Resources Publications, Oakland, CA. ۱۹۷ p.
۱۸. **Peterson, D.; Vecsei, P. and Hochleithner, M.**, ۲۰۰۶. Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus* Linnaeus, ۱۷۵۸ (*Acipenseridae*). *Environ. Biol. Fishes.* ۲ p.
۱۹. **Pollock, R.A.; Finlay, L.; Mondschein, W. and Modesto, R. R.**, ۲۰۰۲. Laboratory exercises in Microbiology. John wiley& sons, INC. ۲۲۲ p.
۲۰. **Willoughby, I.G.**, ۱۹۹۴. Fungi and fish diseases. *Pisces Press.* Stirling, Scotland. ۵۷ p.

