

اثرات کلریدسدیم و متیلن بلو بر فلور باکتریایی محیط پرورشی، پوست و آبشش بچه

تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus*رقیه فتح الهی^{(۱)*}؛ حسین خارا^(۱)؛ ذبیح الله پزند^(۲)؛ علیرضا شناور ماسوله^(۲)؛ بتول مشتاقی^(۱)؛ زهرا منافی^(۳)

Roghayefatolahi@yahoo.com

۱- دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی ۱۶۱۶

۲- انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری - رشت، ایران، صندوق پستی ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات خوزستان، ایران، صندوق پستی ۱۶۳

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۲

چکیده

کنترل بیماری های ماهیان پرورشی به دلیل پرورش آنها در سیستم هایی که تولید آنها بستگی به شرایط بسته محیطی دارد، بسیار مشکل است. یک بیماری زمانی می تواند رخ دهد که عوامل بیماری زا از موانع اولیه نفوذ کند. سه راه عمده سرایت عفونت از میان پوست، آبشش و مجاری گوارشی می باشد. در این مطالعه اثرات کلریدسدیم و متیلن بلو بر روی فلور باکتریایی پوست، آبشش و آب پرورشی ۳۶۰ بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با میانگین وزنی $1/74 \pm 0/45$ گرم در انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش با ۶ تیمار و ۳ تکرار برای هر ماده انجام شد. در طی آزمایش میانگین میزان دمای آب $23/78 \pm 0/24$ درجه سانتیگراد، میانگین میزان اکسیژن محلول $7/08 \pm 0/27$ میلی گرم بر لیتر و میانگین pH آب $7/6 \pm 0/32$ بود. نتایج حاصل از شمارش باکتریایی آب نشان داد که در کلریدسدیم اختلاف معنی دار آماری بین میزان فلور باکتریایی شاهد و آب پرورشی پس از ۹۶ ساعت وجود نداشته است. در تیمار $6/3$ گرم بر لیتر کلریدسدیم تعداد باکتری ها در اندام پوست پس از ۹۶ ساعت کمتر از شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید. نتایج حاصل از شمارش باکتریایی آب پرورشی در مجاورت با متیلن بلو در تیمار $3/83$ میلی گرم بر لیتر کمتر از شاهد و سایر تیمارها بود و همچنین در تیمار $1/56$ میلی گرم در لیتر در پوست و در تیمار ۱ میلی گرم بر لیتر متیلن بلو در آبشش کمتر از سایر تیمارها بود.

کلمات کلیدی: تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus*، متیلن بلو، کلریدسدیم، فلور باکتریایی پوست و آبشش.

۱. مقدمه

پرورش آریزیا در سال های اخیر در کشور ما رشد فزاینده ای داشته که متأسفانه به موازات آن شاهد بروز بیماری های عفونی و غیر عفونی بوده ایم که خسارات و تلفات چندی را به دنبال داشته است (۴).

کنترل بیماری های ماهیان به دلیل پرورش آنها در سیستم هایی که تولید آنها بستگی به شرایط محیطی دارد بسیار مشکل است. یک بیماری زمانی می تواند رخ دهد که عوامل بیماری زا از موانع اولیه نفوذ کند، سه راه عمده سرایت عفونت از میان پوست، آبشش و مجاری گوارشی می باشد (۱۵).

ضد عفونی کننده های خارجی برای کنترل عفونت های ناشی از موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان و ریشه کن کردن یا کاهش عوامل بیماری زا در کارگاه های پرورشی ماهی و ابزار بکار می روند (۱). استفاده غیر اصولی از ترکیبات ضد باکتریایی و ضد عفونی کننده ها و سموم ... می تواند خطرات جدی را برای مصرف کننده ها و محیط زیست بوجود آورد (۴).

کلرید سدیم و متیل بلو به عنوان مواد ضد عفونی کننده برای کنترل عفونت های ناشی از موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان، ریشه کن کردن یا کاهش عوامل بیماری زا مانند انگل های تک یاخته ای و بیماری های قارچی و ... در کارگاه های پرورش ماهی بکار می روند. کلرید سدیم یا نمک معمولی یکی از معمول ترین داروهای مورد استفاده در آبی پروری است و برخی زمان ها به عنوان اسپرین آبی پروری محسوب می شود (۱۷) کلرید سدیم (NaCl) ارزان قیمت، قابل دسترس و برای تصفیه آب و سلامت ماهیان آب شیرین مناسب می باشد. از کلرید سدیم می توان برای درمان بسیاری از انگل های خارجی شامل کاستیا، Epistylis، تریکودینا، چیلودلنا و انگل های قلابدار داکتیلوژیروس و ژیروداکتیلوس استفاده کرد (۱۷).

متیلن بلو با فرمول مولکولی (C₁₆H₁₈ClN₃S₃.3H₂O) با نام شیمیایی 3,7-bis(Dimethylamino)-Phen- thiosin- 5-um Chloride Tetramethyl thionine cworide می باشد (۱۸). متیلن بلو کاتیون تیاژین به رنگ آبی پررنگ در حالت اکسیده می باشد و در فرم ساده رنگ متیلن بلو کم رنگ می شود (۱۴). مطابق نظر (Schaperclaus (1992) متیلن بلو به عنوان یک بازدارنده باکتریایی و قارچی عمل می کند و برای بسیاری از گونه های ماهیان قابل تحمل می باشد.

این تحقیق به منظور بدست آوردن مقدار مناسب و قابل تحمل کلرید سدیم و متیلن بلو برای بچه تاسماهی ایرانی و اثرات این دو ماده ضد عفونی کننده بر روی فلور باکتریایی پوست، آبشش و آب پرورشی بچه تاسماهی ایرانی انجام گرفت.

مشتاقی (۱۳۸۸) تعداد باکتری های آب پرورشی و پوست را در مجاورت ۰/۰۷ mg/l پرمنگنات پتاسیم به ترتیب Log CFU/cm² ۰/۱۵ ± ۲/۴۶ و ۴/۸۵ ± ۰/۰۵ CFU/ml بدست آورد (۵). طبق مطالعات صورت گرفته توسط علیزاده (۱۳۸۷) دامنه باکتریایی هوازی و بی هوازی اختیاری در آب پرورشی بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ۶/۳۳ - ۷/۰۱ logCFU /ml بدست آمده است. تعداد باکتری ها در آب پرورشی فیل ماهی ۴/۸۷ ± ۱/۵۴ logCFU /ml بدست آمده است (۶). در این تحقیق تاثیر دو ماده ضد عفونی کننده کلرید سدیم و متیلن بلو بر روی بار میکروبی پوست و آبشش و آب پرورشی بچه تاسماهی ایرانی به دلیل اهمیت اقتصادی و پرورشی این ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۸ در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان واقع در استان گیلان، شهر سنگر اجرا شد. جهت اجرای این تحقیق ۳۶۰ عدد بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) با میانگین وزنی ۱/۴۵ ± ۱/۷۴ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید

Archive of SID

نظر، کشت با استفاده از محیط کشت (تریپتیک سوی آگار) انجام شده و پلیت ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. به منظور مطالعه میکروبی آبشش نیز از روش فوق استفاده گردید. نمونه برداری از آب پرورشی گروه های شاهد و تیمار با استفاده از ظروف شیشه ای استریل انجام شد و پس از تهیه رقت های لازم، با استفاده از محیط کشت TSA مطابق با شرایط مذکور کشت صورت گرفت. پس از طی زمان انکوباسیون شمارش باکتری ها بر اساس (Colony Forming Unit) CFU انجام گردید و برای آنالیز آماری از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و نشان دادن معنی دار بودن تفاوت داده ها در سطح پنج درصد از آزمون Tuke استفاده گردید.

۳. نتایج

آزمایشات اولیه به منظور بدست آوردن غلظت قابل تحمل متیلن بلو و کلریدسدیم بر روی بچه تاسماهی ایرانی با میانگین وزنی 0.45 ± 1.74 گرم انجام گرفت. پس از بدست آوردن غلظت مورد نظر، Lc50 این مواد در طی ۹۶ ساعت با ۶ تیمار و ۳ تکرار برای کلریدسدیم 7.67 گرم در لیتر و متیلن بلو 1.69 میلی گرم در لیتر بدست آمد. جهت شمارش باکتریایی پوست، آبشش و آب پرورشی در تیمار 6 mg/l متیلن بلو و در تیمار 13 g/l کلریدسدیم پس از ۹۶ ساعت هیچ نمونه ای برای بررسی زنده باقی نماند. تعداد باکتری های شمارش شده در آب پرورشی در مجاورت با کلریدسدیم پس از ۹۶ ساعت در شاهد کمتر از سایر تیمارها می باشد ($5.09 \pm 0.10 \log \text{CFU/ml}$). نتایج شمارش باکتریایی آب پرورشی در مجاورت با متیلن بلو کمترین باکتری شمارش شده را در تیمار 3.83 mg/l ($\log \text{CFU/ml}$) 4.43 ± 0.51 نشان می دهد.

تعداد باکتری های شمارش شده در تیمار 6.3 g/l کلریدسدیم $5.46 \pm 0.20 \log \text{CFU/cm}^2$ و در تیمار 1.56 mg/L متیلن

بهشتی تهیه و برای نگهداری به وان های فایبرگلاس با محتوای آب ۱۵۰ لیتری واقع در سالن تکثیر و پرورش دکتر یوسف پور منتقل شدند و به مدت ۷ روز برای سازگاری در این وان ها نگهداری و با غذای زنده دافنی تغذیه شدند. بچه ماهیان برای تست سمیت به آکواریوم های شیشه ای منتقل شدند. پس از ۲۴ ساعت هوادهی و سازگاری آزمایش با ۶ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار (کلریدسدیم مرک آلمان: شاهد، 5 g/l ، 6.34 g/l ، 8.06 g/l ، 10.23 g/l و 13 g/l و متیلن بلو مرک آلمان: شاهد، 1 mg/l ، 1.56 mg/l ، 2.45 mg/l ، 3.83 mg/l و 6 mg/l) که بصورت لگاریتمی (Probit value) انتخاب شده بود) لازم به ذکر است که این تیمارها بر اساس آزمایش های اولیه برای تعیین غلظت کشندگی هر ماده تعیین گردید) انجام گرفت. دما، pH و اکسیژن محلول برای کلریدسدیم به ترتیب: 24 ± 0.24 ، 7.6 ± 0.32 ، $7.23 \pm 0.23 \text{ mg/l}$ و $7.08 \pm 0.27 \text{ mg/l}$ و برای متیلن بلو به ترتیب 17 ± 0.17 ، 23.63 ± 0.02 ، $8.26 \pm 0.23 \text{ mg/l}$ و $7.05 \pm 0.23 \text{ mg/l}$ اندازه گیری گردید.

به منظور ارزیابی بار باکتریایی پوست و آبشش و آب پرورشی بچه ماهیان از هر تیمار در پایان ۹۶ ساعت سه نمونه بطور تصادفی صید و کشت باکتریایی انجام گرفت. مطالعات باکتری شناسی بر اساس روش های ارائه شده توسط (Holt et al., 1994; Mac Cormack & Fraile., 1990 and Mac Farlane et al., 1986) گردید. بدین صورت که در ابتدا بچه ماهیان با ضربه مکانیکی به سر بیهوش شده، سپس جهت حذف فلور باکتریایی آب، بچه ماهیان با سرم فیزیولوژی استریل 0.9 درصد شسته شده و با استفاده از اسکالپل و پنس استریل یک سانتی متر مربع از پوست در شرایط استریل جدا و در ظرف استریل به قطعات کوچکتر تقسیم شد. به میزان ۹ برابر وزن نمونه در داخل ظرف نمونه برداری استریل شده سرم فیزیولوژی استریل 0.9 درصد اضافه گردید و محلول هموژن تهیه شد. پس از تهیه رقت های مورد

کلرید سدیم در تیمار $8/06 \text{ g/l}$ ($3/46 \pm 0/32 \text{ Log CFU/g}$) و در مجاورت با متیلن بلو در تیمار 1 mg/l ($3/52 \pm 0/48 \text{ Log CFU/g}$) که در این تحقیق تنها در تیمار $1/56 \text{ mg/l}$ متیلن بلو بر روی پوست تاسماهی ایرانی در مقایسه با سایر تیمارها می باشد، این درحالی بود دار آماری وجود داشت (جدول ۱) و در هیچ یک از دوزهای کلرید سدیم در پوست، آبخش و آب پرورشی اثرات معنی دار آماری مشاهده نگردید (شکل ۱ و ۲).

همچنین از لحاظ رفتاری بچه تاسماهیان با افزایش غلظت دچار عدم تعادل و حرکات غیرعادی و ترشح موکوس بر روی بدن شدند. میزان موکوس تولید شده بر روی بچه ماهیانی که در معرض متیلن بلو قرار داشتند بیشتر از بچه تاسماهیانی بود که در معرض کلرید سدیم قرار گرفته بودند.

۳. بحث

ضد عفونی کننده های خارجی برای کنترل عفونت های ناشی از موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان و ریشه کن کردن یا کاهش عوامل بیماری زا در کارگاه های پرورش ماهی و ابزار بکار می روند (۱) کلرید سدیم و متیلن بلو به عنوان مواد ضد عفونی کننده برای کنترل عفونت های ناشی از موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان، ریشه کن کردن یا کاهش عوامل بیماری زا مانند انگل های تک یاخته ای و بیماری های قارچی و... در کارگاه های پرورش ماهی بکار می روند. این تحقیق به منظور بدست آوردن تأثیرات این مواد ضد عفونی کننده بر روی فلور باکتریایی پوست و آبخش و آب پرورشی بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مورد بررسی قرار گرفت با هدف اینکه نتایج بدست آمده بتواند در بکارگیری روش های مدیریت بهداشتی این گونه و حفظ نسل این ماهیان حائز اهمیت باشد.

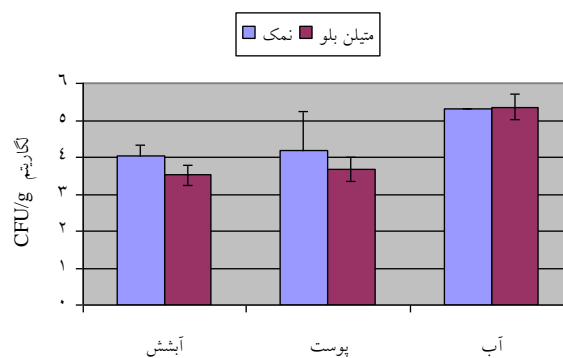
مطابق مطالعه انجام شده در این تحقیق تنها در تیمار 1 mg/l متیلن بلو بر روی پوست تاسماهی ایرانی در مقایسه با سایر

بلو $2/77 \pm 0/26 \text{ logCFU/cm}^2$ در پوست کمتر از سایر تیمارها می باشد

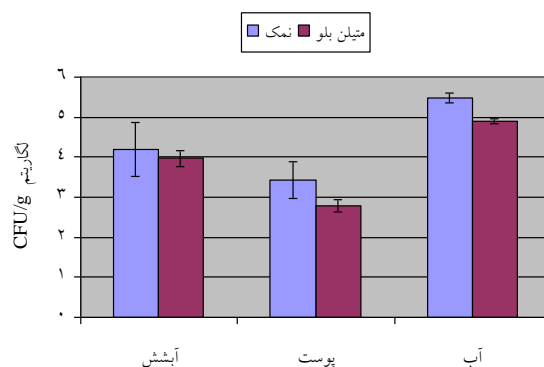
جدول ۱: شمارش باکتریایی پوست (Log CFU/cm^2)

در تیمار های متیلن بلو

تیمار	انحراف معیار \pm میانگین
شاهد	$2/67 \pm 0/58^b$
1 mg/l	$3/66 \pm 0/57^a$
$1/56 \text{ mg/l}$	$2/77 \pm 0/26^{ab}$
$2/45 \text{ mg/l}$	$3/37 \pm 0/96^{ab}$
$3/83 \text{ mg/l}$	$5/22 \pm 0/53^b$



شکل ۱: مقایسه میانگین شمارش کلی باکتریایی آبخش، پوست و آب در تیمار ۱



شکل ۲: مقایسه میانگین شمارش کلی باکتریایی آبخش، پوست و آب در تیمار ۲

نتایج شمارش باکتریایی آبخش در مجاورت با کلرید سدیم و متیلن بلو نشان می دهد که تعداد باکتریها در مجاورت با

که این نتایج نیز با نتایج Bolivar و همکاران در سال ۲۰۰۲ مطابقت می کند.

در این بررسی ارتباط مستقیمی بین افزایش غلظت با کاهش فلور باکتریایی در آب پرورشی در مجاورت با متیلن بلو وجود دارد. اما در کلریدسدیم چنین ارتباطی در آب پرورشی مشاهده نگردید، این موضوع می تواند به دلیل مساعد بودن شرایط برای باکتری های شوری دوست در طی ۹۶ ساعت اتفاق افتاده باشد بطوری که در تیمارهای ۱ تا ۴ تعداد و همچنین باکتری های شمارش شده بیشتر از شاهد می باشد و همچنین در پوست و آبشش بچه ماهیان مطالعه شده در مجاورت با کلریدسدیم و متیلن بلو ارتباط مستقیمی بین افزایش غلظت و کاهش فلور باکتریایی مشاهده نگردید که این نتایج با نتایج مطالعات مشتاقی (۱۳۸۹) در ارتباط با تاثیرات غلظت سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم بر روی کاهش فلور باکتریایی بچه تاسماهی ایرانی مطابقت دارد.

در پوست و آبشش مورد مطالعه در مجاورت با کلریدسدیم با افزایش غلظت افزایش فلور باکتریایی مشاهده گردید (بجز تنها تیمار ۶/۳ گرم در لیتر در پوست، که میزان آن حتی کمتر از شاهد بود) که ممکن است از دلایل مهم آن افزایش موکوس مترشح از این این اندام ها باشد که می تواند با توجه به زمان مورد بررسی (۹۶ ساعت) محیط مناسبی برای رشد باکتری های نمک دوست باشد. که این افزایش در بافت آبشش بیشتر از پوست می باشد و تعداد باکتری های شمارش شده در آبشش، پوست و آب پرورشی بر اساس مقایسه انجام شده توسط آزمون T-test نشان می دهد که فلور باکتریایی در متیلن بلو در تمام تیمارها کمتر از کلریدسدیم می باشد. با توجه به نتایج بدست آمده می توان بیان نمود که کلریدسدیم به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده تاثیر بسیار کمی بر روی فلور باکتریایی پوست، آبشش و آب پرورشی بچه تاسماهی ایرانی در مقایسه با متیلن بلو در طی ۹۶ ساعت دارد. البته این مطالعه نمی تواند دلیل بر کم

تیمارها تاثیرات معنی دار آماری وجود داشت این در حالی بود که در هیچ یک از مقدارهای کلریدسدیم در پوست، آبشش و آب پرورشی تاثیرات معنی دار آماری مشاهده نگردید.

علیزاده در سال ۱۳۸۷ دامنه باکتریایی هوازی و بی هوازی اختیاری در آب پرورشی تاسماهی ایرانی $7/01 \text{ CFU/ml}$ $6/33 \pm$ بدست آورد. تعداد باکتری ها برای آب استخرهای پرورشی شهید بهشتی گیلان توسط (Lartseva & bormotova, 1998) $6/67 \pm 0/34 \text{ logCFU/ml}$ بدست آمد. طبق مطالعات انجام شده توسط مؤذن زاده (۱۳۸۷) در آب پرورشی فیل ماهی تعداد باکتری ها $1/54 \text{ logCFU/ml}$ بود که نسبت به مطالعات علیزاده (۱۳۸۷) این میزان در استخرهای خاکی کمتر می باشد. که این موضوع می تواند به دلیل تفاوت در فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، گونه، سن ماهی، مخازن پرورشی و تفاوت در فلور باکتریایی منبع آب مورد استفاده باشد. هالامید و اکو اجریم با دز های تعیین شده تأثیر معنی دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی آب و آبشش پوست بچه تاسماهی ایرانی در مقایسه با تیمارهای شاهد داشته اند. در کاهش فلور باکتریایی آبشش ها ماده ها لامید با دز ۶۰ میلی گرم در لیتر مؤثرتر از مقدار ۲۰ میلی گرم در لیتر بوده و در مجموع در مقایسه با آکو اجریم ها کاهش چشمگیری را نشان داده است (۲).

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق متیلن بلو و کلریدسدیم در کاهش فلور باکتریایی آب، پوست و آبشش بچه تاس ماهی ایرانی پس از ۹۶ ساعت تاثیر گذار بوده است. که این نتایج با نتایج بدست آمده توسط Bolivar و همکاران در سال ۲۰۰۲ که بیان کردند کلریدسدیم و متیلن بلو بر روی آب انتقالی ماهی *Oreochromis niloticus* در طی ۱۲ ساعت تاثیر گزار است، مطابقت می کند. در تیمار ۴ (۳/۳۸ میلی گرم بر لیتر متیلن بلو) در مقایسه با تیمار ۱ (۱ میلی گرم در لیتر متیلن بلو) موجب کاهش فلور باکتریایی در آب پرورشی شده است

Archive of SID

نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۲۷ صفحه.

۶- مؤذن زاده، ک. ۱۳۸۷. ارزیابی هیدروکلر در ضد عفونی بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) به منظور کاهش بار میکروبی و بررسی تأثیر آن بر کیفیت آب، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان. ۱۲۵ صفحه.

7- Alapide-Tendencia, E. V. and L. D. de la pena. 2001. Bacterial diseases. In: Liao-po, G.D., Lavilla, C.R and Cruz-Laciera Management in, E. R.(eds.). Health Aquaculture, Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Tigbauan, Iloilo, Philippines. 187pp.

8- Bolivar, R.B.: Aragon, M.A. and G. Garcia. 2002. Effect of methylene Blue and sodium chloride on the bacterial load in the transport water with Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. Fresh water Aquaculture center – college of fisheries.

9-Faber, P., Ronald, A., Millar, B.W. 2005. Methylthionium chloride: pharmacology and clinical applications with special emphasis on nitric oxide mediated vasodilatory shock during cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia*; 60:575 – 587.

10-Holt, J.G., Krige, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. 1994, Bergey manual of determinative bacteriology (9.Edition) Williams and Wilkins pub 1787pp.

11-Lartseva, L. v. & bormotova, M. 1998. Sanitary-Microbiological examination of yung sturgeon in the Volga delta, *Bull.Eur.Fish Pathol.* 183, 102

12- Mac cormack, W.P., Fraile, E.R. 1990. Bacterial flora of newly caught Antarctic fish *notothenia neglecta*. *Polar Biologist* 10:413-417.

13-Mac farlan, R.D., mclaughlin, J.J., Bulloch, G.L. 1986. Quantitative and qualitative studies of gut flora in Striped Bass

تأثیری کلرید سدیم بر فلور باکتریایی باشد، به دلیل اینکه ممکن است در بررسی مشابه در مدت زمان کوتاهتر (که زمان کافی برای رشد باکتری ها وجود نداشته باشد) نتیجه عکس بدست آید.

سپاسگزاری

باسپاس فراوان از جناب آقای دکتر پور کاظمی رئیس انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت که امکانات لازم را برای انجام این تحقیق در اختیار مان قرار دادند. همچنین از جناب آقایان مهندس کاظمی و دکتر مهدی معصوم زاده و مهندس مهدی عزیزاده، مهندس جلیل پور و مهندس محمد یوسفی که در انجام این تحقیق از هیچ کمکی به پژوهشگر دریغ نکردند کمال تشکر را دارم.

منابع

۱- ستاری، م. ۱۳۷۸. بهداشت ماهی، انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۴ صفحه.

۲- سهیل نقشی، س. ۱۳۸۸. بررسی مقایسه ای اثرات مواد ضد عفونی کننده آکواجرم و هالامید بر روی فلور باکتریایی پوست، آبشش، آب و روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۳۰ صفحه.

۳- عزیزاده، م. ۱۳۸۷. شناسایی فلور باکتریایی روده بچه تاسماهیان ایرانی در استخرهای خاکی مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی استان گیلان. مجله علوم زیستی، سال دوم شماره ۴. صفحات ۶۰-۴۹.

۴- فاطمی، س. ا. و میرزرگر، س. س. ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران، ۶۲۴ صفحه.

۵- مشتاقی، ب. ۱۳۸۹. تعیین حد کشندگی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم و تأثیر آنها بر وضعیت میکروبی پوست و آبشش بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). پایان

Archive of SID

from estuarine and coastal marine environments J.Wild life Diseases 223,PP:344-348.

14- Miclescu, A. and Wiklund, L. 2010. Methylene blue, an old drug with new indications.jurnalum Roman de Anestezie Terapie intensive. Vol.17 Nr.1, 35- 41.

15-Ringo, E., Myklebust, R., Mayhew, T.M., Olsen, R.E. 2007.Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. Aquaculture 268, 251-264.

16- Schaperclaus, W.1992.fish Diseases.

Volume 1.A.A. Balkeena, Rotterdam, Holland. Swann,l. 1993.Transportation of fish in bags.

17- Swann , L. and S.Fitzgerald .1993. use and application of salt in aquaculture . [http : // mextension . Missouri. Edu/ explore / is cpubs / mxo393.htm](http://mextension.Missouri.Edu/explore/iscpubs/mxo393.htm) .

18- Wiklund L., Basu, Miclescu A.2007. Neuro and cardioprotective effects of blockade of nitric oxide action by administration of methylen blue . Ann N Y Acad Sci; 1122:231-244.