اثرات ماده ضدعفونی‌کننده هالامید بر روی بار باکتریایی پوست و آبشش بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*)

سعیده سهیل نقشی*[۱]، عباسعلی زمینی[۲]، علیرضا شناور ماسوله[۳]، حمید رضا پورعلی فشتمی[۴]، محمد علی یزدانی ساداتی[۵]، نادره روشن ضمیر[۶]

۱* و۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳، ۴، ۵ و ۶- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، ایران، صندوق پستی: ۳۴۶۴- ۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: ۲۶ بهمن ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: ۲۲ خرداد ۱۳۹۱

چکیده

یکی از راه‌های موثردر بهسازی محیط پرورش و ارتقای کیفیت تولید، استفاده از مواد ضدعفونی کننده بدون اثرات سو بر محیط زیست می‌باشد. این بررسی با هدف ارزیابی اثرات داروی ضد عفونی کننده هالامید بر روی فلور باکتریایی پوست وآبشش بچه تاسماهی ایرانی انجام شد. تعداد ۴۵۰ عدد تاسماهی ایرانی با وزن متوسط ۱/۶±۷/۳ گرم و طول کل متوسط ۱/۱± ۱۳/۷ سانتی متر در ۹ حوضچه فایبرگلاس با ابعاد ۰/۵×۱×۱ متر، به طور یکسان و تصادفی توزیع گردید. تعداد بچه تاسماهی ایرانی در هرحوضچه ۵۰ عدد بود. تیمارها با سه تکرار شامل گروه شاهد (بدون مادهٔ ضد عفونی)، تیمار هالامید با دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. ضدعفونی به صورت حمام دهی برای مدت ۳۰ دقیقه در طی ۵ روز متوالی و کشت باکتری‌ها در سه مرحله به صورت یک روز در میان انجام شد. فاکتورهای کیفی آب شامل درجه حرارت، pH ، اکسیژن محلول، آمونیوم، نیتریت، CO_2، سختی کل، قلیائیت وEC قبل و بعد از استفاده از داروی ضدعفونی کننده اندازه‌گیری شدند. جهت ارزیابی تعداد کل فلور باکتریایی بر حسب CFU (Colony Forming Unit) پس از انتقال بچه تاسماهیان به آزمایشگاه، در شرایط کاملاً استریل نمونه برداری از پوست و آبشش انجام شد. نتایج بررسی‌های آماری حاصل از سه مرحله کشت باکتری نشان می‌دهد که ماده ضدعفونی کننده هالامید با دوزهای تعیین شده تأثیر معنی دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی پوست وآبشش در مقایسه با تیمار شاهد داشته است ($P<0/05$). در کاهش فلور باکتریایی آبشش‌ها، هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر(۰/۸±۳/۹ log CFU/g) موثرتر از دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بوده است هرچند اختلاف معنی‌داری بین دوزهای انتخابی دیده نشد. حداکثر فلور باکتریایی در آبشش گروه شاهد به مقدار (۰/۳±۵/۲ log CFU/g) مشاهده شد. کاهش فلور باکتریایی پوست تاسماهی ایرانی با هالامید دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با دوز کمتر ازآن چشمگیرتر بوده است (۰/۵±۳/۶ log CFU/cm^2)، اگرچه هیچگونه اختلاف معنی دار آماری در بین دوزهای مورد بررسی دیده نشد. حداکثر فلور باکتریایی در پوست گروه شاهد به مقدار (۰/۵±۵/۵ log CFU/ cm^2) مشاهده شد.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، هالامید، فلور باکتریایی، ضدعفونی، پوست و آبشش.

* عهده دار مکاتبات (✉). saeideh_soheilnaghshi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

از منابع مهم تولید غذا، اشتغال زایی و کسب درآمد در اکثر جوامع و کشورها صید و آبزی پروری می‌باشد. بدیهی است که برای توسعه آبزی‌پروری بیوتکنیک پرورش نقش کلیدی دارد و از مهمترین اصول بیوتکنیک پرورش آبزیان، حفظ بهداشت و سلامت بچه ماهیان و ماهیان جوان پرورشی در کلیه مراحل رشد می‌باشد تا علاوه برتأمین بخشی از پروتئین غذایی، امکان معرفی بچه ماهیان سالم و عاری از هرگونه آلودگی‌های زیستی به محیط‌های طبیعی فراهم گردد. افزایش مصرف سرانه آبزیان به بیش از ۶ کیلوگرم در سال ۱۳۸۵ مدیون تولید غذای سالم و عاری از هر گونه آلودگی میکروبی می‌باشد. بنابراین ضروری است که در تحقیقات شیلاتی توجه ویژه ای به موضوعات بهداشتی در تولید محصولات سالم و با کیفیت مبذول گردد. از سوی دیگر شناسایی و استفاده از ماده ضدعفونی کننده مناسب بدون اثرات جانبی بر محیط زیست برای پیشگیری وکاهش اثرات زیان بار اقتصادی که ناشی از بار آلودگی در سیستم‌های پرورشی است می‌تواند راهکاری موثر در جهت ارتقای کیفیت محصولات شیلاتی و بهسازی محیط پرورش آبزیان باشد. برای نخستین بار در سال ۱۳۸۸ بررسی اثرات هالامید بر فلور باکتریایی پوست، آبشش، آب و روده و مقایسه آن با دیگر مواد ضد عفونی کننده تاسماهی ایرانی انجام شد (سهیل نقشی، ۱۳۸۸). در این بررسی ماده ضد عفونی کننده هالامید (سدیم- ان- کلرو- پاراتولوئن سولفونامید تری هیدرات) به کارگرفته شد. هالامید یک ماده ضد عفونی کننده فعال علیه باکتری‌های (گرم مثبت ومنفی)، ویروس‌ها (کپسول‌دار و بدون کپسول)، قارچ‌ها و انگل‌ها می‌باشد و در جنبه‌های گوناگون آبزی‌پروری مانند ضد عفونی کردن انواع سالن‌های تکثیر، تانک‌ها، قفس‌های شناور دریایی (Cage) مناسب می‌باشد (Campbell and Parsons, 1999). این ماده فاقد اثر خورندگی و تجمع مواد در محیط بوده و درکنترل بیماری‌های باکتریایی آبشش کاربرد فراوان دارد (Campbell and Parsons, 1999). علاوه بر آن در مورد گونه‌های تاسماهی دریاچه‌ای (*Acipenser fulvescens*) (Gaikowski *et al*., 2008) و تاسماهی آتلانتیک (*Acipenser oxyrinchus*) (King and Farrell, 2002) نیز استفاده شده است. بعضی از میکروارگانیسم‌های مخصوص آبزیان که تأثیر هالامید بر روی آن‌ها به اثبات رسیده است شامل: *Yersinia ruckeri*، *Vibrio anguillarum*، *Vibrio salmonicida*، *Aeromonas salmonicida*، *Flexibacte rmaritimus*، *Flavobacterium columnaris* و ... می‌باشد. در مقایسه با فرمالین،کلرامین T (هالامید) در برابر باکتری‌ها اثر بیشتری دارد و در مقابل تک یاخته‌ها اثر آن کمتر است (تروس براون، ۲۰۰۰). در مجموع اطلاعات ناچیزی در خصوص هالامید و اثرات آن در آبزی پروری وجود دارد. در حالی که از سوی شرکت‌های تجاری فواید بسیاری در خصوص هالامید، بدون ذکر منبع معتبر علمی ارایه می‌شود.

مواد و روش‌ها

این بررسی در بخش‌های تکثیر و پرورش و بهداشت و بیماری‌های انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان واقع در ایران، شهرستان سنگر، طی مدت ۱۴ روز در تیر ماه سال ۱۳۸۸به انجام رسید. ۴۵۰ عدد تاسماهی ایرانی با وزن متوسط

Archive of SID

www.SID.ir

۱/۶±۷/۳ گرم و طول کل متوسط ۱/۱±۱۳/۷ سانتی‌متر در ۹ حوضچه فایبرگلاس با ابعاد ۰/۵×۱×۱ متر، به طور یکسان توزیع گردید. تعداد بچه تاسماهی ایرانی در هر حوضچه۵۰ عدد بود. تیمارهای مورد بررسی شامل گروه شاهد (بدون ماده ضد عفونی)، تیمار ضدعفونی با ماده ضدعفونی کننده هالامید (ساخت فرانسه، نماینده انحصاری خرید در ایران: شرکت بصیر شیمی) با دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر بود (هر تیمار با سه تکرار). عملیات ضدعفونی به صورت حمام دهی برای مدت ۳۰ دقیقه در طی ۵ روز متوالی انجام شد و کشت باکتری‌ها در سه مرحله به صورت یک روز در میان صورت گرفت. جهت انجام عملیات ضد عفونی شیر ورودی کلیه وان‌ها بسته شدند تا غلظت داروی مصرفی در وان‌ها ثابت باقی بماند، سپس شلنگ هوادهی کلیه وان‌ها جهت تزریق اکسیژن یکنواخت و دایم به درون وان‌ها مورد بررسی قرارگرفت. پس از ثابت نگه داشتن حجم آب موجود در هر وان (۹۵ لیتر)، داروی ضد عفونی‌کننده هالامید که به صورت جامد می‌باشد پس از توزین توسط ترازوی دیجیتال با دقت صدم اعشار در مقدار معینی از آب همان وان حل شد و به درون وان ریخته شد (Gaikowski, *et al*., 2008). فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، pH، اکسیژن محلول روزانه قبل و بعد ازگذشت ۳۰ دقیقه در معرض قرارگیری با ماده ضد عفونی کننده به منظور بررسی اثر احتمالی هالامید بر پارامترهای کیفی آب توسط دستگاه‌های اکسیژن متر و pH متر(WTW-Multi 340I) اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای آب از قبیل آمونیوم، نیتریت، CO_2، سختی کل، قلیائیت و EC (ASTM, 1996)، نمونه‌ها به صورت یک روز در میان به آزمایشگاه انتقال و در آن جا اندازه‌گیری می‌شدند.

جهت ارزیابی فلور باکتریایی برحسب (Colony CFU (Forming Unit از هر تیمار یک بچه تاسماهی ایرانی به طور تصادفی انتخاب و به صورت زنده همراه با آب حوضچه‌های پرورشی به آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌ها انتقال یافت و مورد زیست سنجی قرار گرفت. مطالعات باکتری‌شناسی در این بررسی بر اساس روش‌های ارایه شده توسط (Holt, *et al*., 1994) صورت پذیرفت. بی‌حرکت شدن ماهیان با ضربه مکانیکی به سر انجام گرفت. به منظور حذف فلورباکتریایی آب پرورشی، ماهیان با سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹٪ شستشو داده شدند، سپس جهت ارزیابی فلورباکتریایی پوست، یک سانتی‌متر مربع از پوست توسط اسکالپل و پنس استریل در محیطی استریل از بدن ماهی جدا شده و سپس به منظور تهیه محلول هموژن در داخل لوله‌های آزمایش استریل محتوی ۹ سی سی سرم فیزیولوژی استریل ریخته شدند. پس از تهیه رقت‌های لازم برای پوست (تا 10^{-4})، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت بر روی محیط کشت TSA (Tryptic Soy Agar) ساخت شرکت مرک (Merck) آلمان، ریخته شد و جهت رشد باکتری در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری شدند. برای تهیه نمونه آبشش پس از شستشوی آن با سرم فیزیولوژی استریل، توسط پنس و قیچی استریل آبشش‌ها از بچه تاسماهیان ایرانی جدا شدند، با ترازوی دیجیتال با دقت صدم اعشار وزن گردیدند و پس از رقت سازی (تا 10^{-3}) در لوله‌های آزمایش محتوی ۹ سی‌سی سرم فیزیولوژی، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت بر روی محیط کشت باکتریایی TSA ریخته شد و مانند

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه قبل در انکوباتور $25^{o}C$ برای مدت ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری شدند. این عملیات به صورت یک روز در میان تکرار می‌گردید. کلنی‌های یکسان در سطح خارجی پلیت علامت‌گذاری شد و سپس شمارش کلنی‌های باکتریایی بر اساس فرمول تعداد کلنی در هر میلی لیتر یا در هر گرم صورت گرفت (Pollock, *et al.*, 2002).

CFU/g یا CFU/cm^2 = a × فاکتور رقت ×۱۰

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SPSS14 و جهت نشان دادن اختلاف معنی دار آماری از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تست جداساز Duncan درسطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. جهت رسم نمودارها نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

نوسانات پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی شامل درجه حرارت، اکسیژن وpH در طی ۵ مرحله ضد عفونی در جدول ۱ آورده شده است. در اولین مرحله ضدعفونی بر اساس آزمون واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA)، میانگین درجه حرارت آب و pH در تیمار شاهد و کلیه تیمارهای مورد آزمایش بعد از ضدعفونی اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداده‌اند (P>۰/۰۵). حداقل و حداکثر درجه حرارت آب در حوضچه‌های پرورش ۲۸ و ۲۸/۲ درجه سانتی‌گراد بود. مقایسه آماری داده‌های حاصل از سنجش میزان اکسیژن محلول در آب حوضچه‌های پرورش ماهی در اولین مرحله ضد عفونی، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید (۷/۱۷±۰/۱ mg/l) با تیمار شاهد و دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید می‌باشد (P<۰/۰۵). نوسانات پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی در دیگر مراحل ضد عفونی (مراحل ۲ تا ۵) بر اساس آزمون واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA)، هیچگونه اختلاف معنی‌دار آماری را در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵).

استفاده از ماده ضد عفونی کننده هالامید با دوزهای پیشنهادی تأثیر معنی دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی آبشش بچه تاسماهیان ایرانی داشته است (P<۰/۰۵). در مجموع سه مرحله کشت باکتری، ماده ضدعفونی کننده هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر (۳/۹±۰/۸ log CFU/g) درکاهش فلور باکتریایی آبشش‌ها موثرتر بوده است، هر چند این تأثیر از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری نیست (P>۰/۰۵). حداکثر فلور باکتریایی در گروه شاهد به مقدار (۵/۲±۰/۳ log CFU/g) مشاهده شد. در مجموع سه مرحله کشت باکتری، فلور باکتریایی موجود در آبشش بچه تاسماهیان ایرانی پس از ضدعفونی با دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید به (۴±۰/۵ log CFU/g) رسید.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: فاکتورهای کیفی آب در طی مراحل آزمایش

فاکتورهای کیفی آب در اولین مرحله ضد عفونی						
تیمارها	pH		اکسیژن (میلی گرم درلیتر)		درجه حرارت(سانتی گراد)	
شاهد	۷/۶±۰/۱	a	۷/۶۷±۰/۱	a	۲۸/۰±۰/۱	a
هالامید ۲۰ میلی گرم در لیتر	۷/۷±۰/۱	a	۷/۱۷±۰/۱	b	۲۸/۲±۰/۲	a
هالامید ۶۰ میلی گرم در لیتر	۷/۷±۰/۱	a	۷/۶۴±۰/۱	a	۲۸/۱±۰/۱	a
فاکتورهای کیفی آب در دومین مرحله ضد عفونی						
شاهد	۸/۰±۰/۱	a	۷/۲±۰/۱	a	۲۸/۰±۰/۱	a
هالامید ۲۰ میلی گرم در لیتر	۸/۰±۰/۱	a	۷/۲±۰/۳	a	۲۸/۲±۰/۲	a
هالامید ۶۰ میلی گرم در لیتر	۸/۰±۰/۱	a	۷/۳±۰/۲	a	۲۸/۰±۰/۱	a
فاکتورهای کیفی آب در سومین مرحله ضد عفونی						
شاهد	۸/۰±۰/۱	a	۷/۵۸±۰/۲	a	۲۶/۱±۰/۰	a
هالامید ۲۰ میلی گرم در لیتر	۸/۰±۰/۱	a	۷/۷۳±۰/۲	a	۲۶/۱±۰/۰	a
هالامید ۶۰ میلی گرم در لیتر	۸/۰±۰/۱	a	۷/۷۱±۰/۲	a	۲۶/۱±۰/۰	a
فاکتورهای کیفی آب در چهارمین مرحله ضد عفونی						
شاهد	۷/۹±۰/۲	a	۷/۶±۰/۲	a	۲۵/۱±۰/۰	a
هالامید ۲۰ میلی گرم در لیتر	۸/۰±۰/۲	a	۷/۷±۰/۲	a	۲۵/۱±۰/۰	a
هالامید ۶۰ میلی گرم در لیتر	۷/۹±۰/۲	a	۷/۷±۰/۱	a	۲۵/۱±۰/۰	a
فاکتورهای کیفی آب در پنجمین مرحله ضد عفونی						
شاهد	۷/۹±۰/۱	a	۷/۸±۰/۱	a	۲۵/۰±۰/۰	a
هالامید ۲۰ میلی گرم در لیتر	۷/۹±۰/۱	a	۷/۸±۰/۱	a	۲۵/۰±۰/۰	a
هالامید ۶۰ میلی گرم در لیتر	۷/۹±۰/۱	a	۷/۶±۰/۱	a	۲۵/۰±۰/۰	a

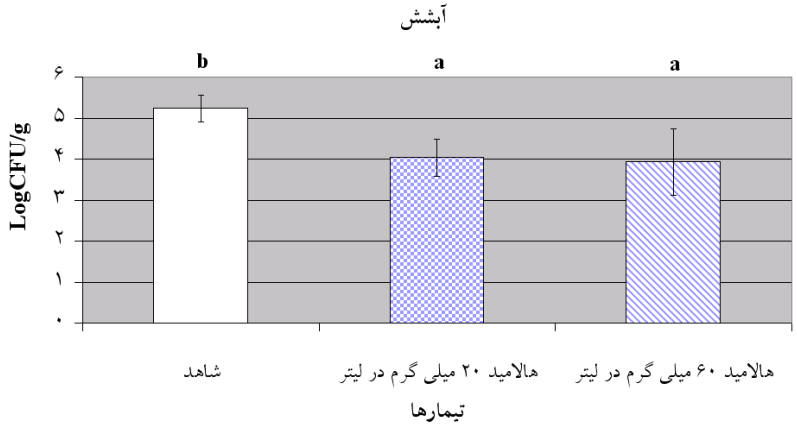
فاکتورهای نیتریت، آمونیوم، سختی، قلیائیت، EC و CO_2 در بین تیمارهای مختلف مطابق جدول ۲ در نوسان بودند:

جدول ۲: مقادیر نیتریت، آمونیوم، سختی، قلیائیت، EC و Co_2 در طی مراحل ضد عفونی

تیمارها	فاکتورهای مورد بررسی					
	آمونیوم (mg/l)	نیتریت (mg/l)	سختی (mg/l)	CO_2 (mg/l)	قلیائیت (mg/l)	EC (µs/cm)
شاهد	۰/۰۴۲-۰/۰۸۸	۰/۰۱۲-۰/۰۴۳	۴۰۰	۲/۸-۵	۱۶۷/۸ - ۱۷۳/۸	۱۳۰۷ - ۱۴۵۳
هالامید ۲۰mg/l	۰/۰۹۳-۰/۱۸۴	۰/۰۱۲-۰/۰۶۰	۳۶۵ -۳۹۰	۱-۴/۴	۱۵۸/۶ - ۱۷۰/۸	۱۳۰۲ - ۱۴۶۴
هالامید ۶۰mg/l	۰/۰۹۲-۰/۱۱۶	۰/۰۹۲-۰/۰۹۴	۳۴۵ -۳۵۰	۲-۵	۱۳۷/۳ - ۱۷۳/۲	۱۳۲۷ - ۱۴۸۱

Archive of SID

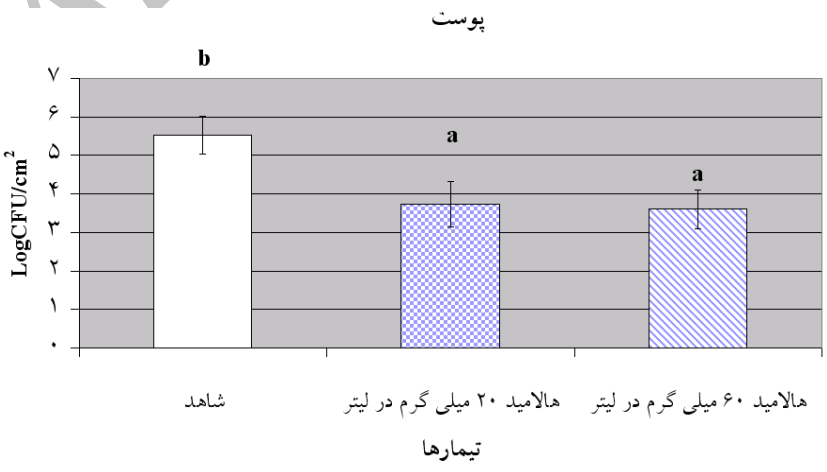
www.SID.ir



شکل ۱: مقایسه تعداد باکتری درآبشش بچه تاسماهیان ایرانی در سه مرحله کشت

استفاده از ماده ضد عفونی کننده هالامید با دوزهای پیشنهادی تأثیر معنی دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی در پوست بچه تاسماهیان ایرانی داشته است ($P<۰/۰۵$). در مجموع سه مرحله کشت باکتری، ماده ضدعفونی کننده هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر ($۳/۶ \pm ۰/۵$ log CFU/cm^2) درکاهش فلور باکتریایی پوست تاسماهی ایرانی موثرتر بوده است، هر چند این تأثیر از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری نیست ($P>۰/۰۵$).

حداکثر فلور باکتریایی در گروه شاهد به مقدار ($۵/۵ \pm ۰/۵$ log CFU/ cm^2) مشاهده شد. در مجموع سه مرحله کشت باکتری، فلور باکتریایی موجود در پوست بچه تاسماهیان ایرانی پس از ضدعفونی با دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید به ($۳/۷ \pm ۰/۶$ log CFU/cm^2) رسید.



شکل ۲: مقایسه تعداد باکتری در پوست بچه تاسماهیان ایرانی در سه مرحله کشت

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

بیماری‌های باکتریایی تلفات شدیدی را در ماهیان وحشی و پرورشی موجب می‌شوند و می‌توانند به عنوان فاکتورهای معنی‌دار در جمعیت‌های پویای ماهیان به حساب آیند (MacFariane, *et al*., 1986). میکروب-های عامل بیماری ماهیان یا به طور اولیه بیماری‌زا بوده و یا در شرایط معینی بیماری‌زا گشته و میزبان خود را مورد حمله قرار می‌دهند. میکرو فلور باکتریایی جدا شده از تخم‌ها، پوست، آبشش‌ها و روده در تعداد محدودی از ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفته است. به طورکلی تنوع و تعداد ایزوله‌های باکتریایی به زیستگاه-های آبی ماهیان وابسته بوده و با عواملی مانند شوری محیط و بار باکتریایی در آب تغییر می‌کند (Cahill, 1990). در بسیاری از تحقیقات، شناسایی ایزوله‌های باکتریایی تا حد جنس ممکن است تخمین رابطه دقیق بین میکروفلور ماهی و آب را با مشکل مواجه سازد. باکتری‌های موجود در پوست و آبشش ممکن است به صورت گذرا و لحظه‌ای در روی آن‌ها قرار گیرند و جز باکتری‌های مقیم این اندام‌ها نباشند. میکروب‌های ساپروفیت پوست و روده به سرعت پس از مرگ ماهی در بدن نفوذ می‌کنند. با وجود اهمیت ماهیان خاویاری از نقطه نظر اقتصادی در دنیا مطالعات میکروبی به ویژه شناسایی فلور باکتری در این ماهیان بسیار اندک و در برخی گونه‌ها حتی ناشناخته است.

درخصوص فلور باکتریایی در اندام آبزیان تحت تأثیر هالامید اطلاعاتی بسیار محدودی وجود دارد و شاخصی برای مقایسه فلور باکتریایی آبشش و پوست تاسماهی ایرانی گزارش نشده است. تعدادی از منابع به فلور باکتریایی آبشش ماهیان قزل آلا رنگین کمان و توربوت در شرایط طبیعی و یا در سیستم پرورش با جریان آب مناسب اشاره نموده‌اند. McIntosh و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که نرخ جریان آب در وان‌های پرورشی به طور موثری در تعداد باکتری‌های آبشش در قزل‌آلای جوان تأثیرگذار است. تعداد باکتری‌های آبشش ماهیان پرورشی تحت جریان کند آب بیشتر از شرایط پرورش ماهی در آب با جریان شدید است. احتمالاً هوادهی (اکسیژن دهی) ضعیف در وان‌هایی با جریان کند آب ممکن است مانع از جریان موکوس روی آبشش ماهیان شود همان طوری که توسط Derksen و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده ممکن است افزایش نرخ جریان آب در وان‌های پرورشی خطر عفونت ماهیان نوجوان را به (*F. branchiophilum*) یا دیگر گونه‌های باکتریایی کاهش دهد، احتمالاً افزایش جریان آب باعث جدا شدن باکتری‌ها و دیگر ذرات از آبشش‌ها می‌شوند (McIntosh, *et al*., 2005).

مطالعه باکتری‌های هتروژن روی آبشش ۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نوجوان نشان داد که تعداد کلونی‌های باکتریایی تشکیل شده به طور متغیری بالا بود و به طور متوسط در حدود ۵×۱۰^{۴} CFU/g بود (Gaikowski, *et al*., 2008). در بررسی حاضر حداکثر میانگین تعداد باکتری موجود در آبشش بچه تاسماهیان ایرانی پس از سه مرحله در تیمار شاهد ۵/۲±۰/۳ Log CFU/g بوده است. Trust (۱۹۷۵) با آزمایشی که بر روی آبشش سالمونیدهای پرورشی و وحشی انجام داده بود دریافت که مقدار متوسط تعداد باکتری‌های جدا شده از آبشش از ۶×۱۰^{۲} تا $۲/۲\times۱۰^{۶}$ میکروارگانیسم در هر گرم وزن تر آبشش است (Trust, 1975). Mudarris و Austin (۱۹۸۸) دریافتند که بالاترین تعداد باکتری‌های جدا شده از آبشش

Archive of SID

www.SID.ir

توربوت (*Scophthalmus maximus*) ۷×۱۰^{۵} میکروارگانیسم در هرگرم وزن تر آبشش بود (Mudarris and Austin, 1988). بالاتر بودن مقادیر باکتریایی درآبشش بچه تاسماهیان ایرانی در مقایسه با ماهیان ذکر شده در منابع فوق که هیچ ماده ضدعفونی برای آن‌ها به کار نرفته بود، ممکن است ناشی از تفاوت در شرایط کیفی محیط زندگی آن‌ها از لحاظ بهداشتی باشد. به طوری که پس از ضد عفونی محیط زیست این ماهیان با ماده هالامید، تعداد فلور باکتریایی موجود در آبشش به طور چشمگیری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. علاوه بر این متفاوت بودن گونه ماهیان هم ممکن است باعث تفاوت در تعداد باکتری موجود در آبشش آن‌ها گردد. در این مطالعه اثرات کاهش فلور باکتریایی آبشش‌ها پس از ضدعفونی با دوز بالاتر ماده هالامید موثرتر از دوز پایین‌تر بوده است.

تعداد فلور باکتریایی مشاهده شده در پوست ماهیان از تعداد فلور باکتریایی آب تبعیت می‌کند (سهیل نقشی، ۱۳۸۸؛ Horsley, 1973).

Cahill (۱۹۹۰) تعداد باکتری‌های هتروتروفیک موجود در یک سانتی‌متر مربع از پوست و یک میلی لیتر از آب را $۱۰^{۳}$-$۱۰^{۲}$ تخمین زد (Cahill, 1990). Austin (۱۹۸۲ و۱۹۸۳) مطالعه‌ای را بر روی فلورباکتریایی آب دریا، گل و لای، ورودی آب و نواحی سطحی بدن ماهیان توربوت پرورشی انجام داد. او دریافت که بزرگترین تنوع باکتریایی (در مجموع ۲۵ نمونه) از پوست ماهی توربوت سالم جدا شده است (Austin, 1982,1983). میکروفلور باکتریایی شناسایی شده از ماهی توربوت توسط Austin (۱۹۸۲ و۱۹۸۳) منعکس کننده فلور باکتریایی موجود در آب دریا که وان های پرورش با آن پر می‌شدند نبود که این مساله با یافته‌های Horsley (۱۹۷۳) مغایرت دارد (Austin, 1982, 1983; Horsley, 1973). حداکثر میانگین فلور باکتریایی پوست در این مطالعه پس از سه مرحله کشت در تیمار شاهد با مقدار CFU/cm^2Log ۵/۵±۰/۵ محاسبه شد. موذن زاده (۱۳۸۶) کمترین میانگین بار باکتریایی پوست بچه فیلماهیان پرورشی موجود در حوضچه‌های ونیرو را در تیمار ضدعفونی با هیدروکر با دوز g/m_3 ۴۰ (CFU/cm^2Log ۴/۶۸±۰/۸) و حداکثر آن را در تیمار شاهد (بدون ماده ضدعفونی) (CFU/cm^2Log ۵/۵±۰/۵) گزارش کرد (موذن زاده، ۱۳۸۷). کمترین میانگین بار باکتریایی پوست بچه تاسماهیان پرورشی در این تحقیق پس از ضدعفونی با ماده هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر به مقدار (CFU/cm^2Log ۳/۶±۰/۵) به دست آمد اما در مجموع در طی سه مرحله کشت ماده هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر در کاهش بار باکتریایی موثرتر بوده است، هرچند که از نظر آماری در بین تیمارها اختلافی مشاهده نشد. نتایج موذن‌زاده (۱۳۸۶) با یافته‌های این بررسی در خصوص موثرتر بودن دوز بالاتر ماده ضدعفونی کننده در کاهش بار باکتریایی پوست در بچه تاسماهیان همخوانی دارد.

بر اساس نتایج حاصل از این بررسی استفاده از ماده ضد عفونی کننده هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه روزانه به مدت ۵ روز برای کاهش بار باکتریایی بچه تاسماهیان ایرانی و آب حوضچه های پرورش پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی، ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

Archive of SID
www.SID.ir

دکتر دادمان که امکان انجام چنین تحقیقی را در آن مرکز فراهم نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم. از کلیه پرسنل محترم بخش‌های تکثیر و پرورش، بهداشت و بیماری‌ها و اکولوژی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در کلیه مراحل اجرایی این کار ما را همراهی نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

۱. تروس براون، ک. م.، ۲۰۰۰. فارماکولوژی کاربردی ماهیان. ترجمه فاطمی، ا. و میرزرگر، س. ۱۳۸۶. انتشارات دانشگاه تهران. ۶۲۴ 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*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۳۰ صفحه.

۳. موذن زاده، ک.، ۱۳۸۷. ارزیابی کارایی داروی هیدروکر در ضدعفونی بچه فیلماهیان پرورشی *Huso huso* به منظور کاهش بار میکروبی و بررسی تأثیرات آن برکیفیت آب. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۲۵ صفحه.

4. ASTM, 1996. Annual Book of ASTM Standards. Water and Environmental Technology. Vol.11.01, Water (1). Publication code number (PCN).01-110196-16, pp. 824.
5. Austin, B., 1982. Taxonomy of bacteria isolated from a coastal, marine fish-rearing unit. J Appl .Bacteriol. Vol. 53, pp.253-268.
6. Austin, B., 1983. Bacterial micro flora associated with a coastal, marine fish-rearing unit. J Mar.Biol.Ass.UK.Vol.63, pp.585-592.
7. Cahill, M., 1990. Bacterial Flora of Fishes : A review. Microbiology Ecology, Vol.19, pp. 21-41.
8. Campbell, D. J. C., Parsons, D. G., 1999. Halamid and Biosecurity. Fish Veterinary Journal. Vol. 3, pp.68-73.
9. Gaikowski, M. P., Larson, W. J., Gingerich, W. H., 2008. Survival of cool warm freshwater fish following chloramine-T exposure. Aquaculture. Vol. 275, pp.20-25.
10. Holt, J. G., Krieg, N. R. Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed. Willams and Wilkin, Baltimore, Maryland. pp.122-130.
11. Horsley, R. W., 1973. The bacterial flora of the Atlantic salmon (*Salmosalar*) in relation to its environment. J. Appl. Bacteriol, Vol.36, pp. 91-100.
12. King, K., Farrell, P., 2002. Sensitivity of juvenile Atlantic sturgeon to three therapeutic chemicals used in aquaculture. North American Journal of Aquaculture, Vol. 64, pp. 60-65.
13. MacFariane, R. D., McLaughlin, J. J., Bullock, G. L., 1986. Quantitative and Qualitative studies of gut flora in striped bass from estuarine and coastal marine environments. Journal of wildlife Diseases.Vol. 22, NO.3, pp. 344-348.
14. McIntosh, R., Bermann, D., Barnes, M. E., 2005. Survey of culturable heterotrophic bacteria on the gills of juvenile rainbow trout during hatchery rearing. Proceeding of the South Dakota Academy of Science, Vol. 84, pp.99-107.
15. Mudarris, M. and Austin, B., 1988. Quantitative and qualitative studies of the bacterial micro flora of turbot, *Scophthalmusmaximus* L., gills. J. Fish Biol, Vol. 32, pp. 223-229.
16. Pollock, R. A., Finlay, L., Mondschein, W, Mondesto, R. R., 2002. Laboratory exercises in Microbiology. John Wily & sons, INC. 232p.
17. Trust, T. J., 1975. Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater. J. Appl. Bacteriol, Vol. 38, pp. 225-233.

Archive of SID

www.SID.ir