Arshive of SID

اثر مهارکنندگی کلرامین T و متیلن بلو بر بار میکروبی و قارچی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی (*Cyprinus carpio*)

سیده تارا طالب زاده[۱]، حبیب وهاب زاده رودسری*[۲]، حسین خارا[۱]

۱- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی،لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ دریافت: ۱۹ مهر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۴ اسفند ۱۳۹۵

چکیده

این بررسی با هدف ارزیابی اثرات داروهای ضدعفونی کنندهٔ متیلن بلو و کلرامین T بر فلور باکتریایی و قارچی بچه ماهیان کپور کوی انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در طرح کاملاً تصادفی طراحی گردید. تعداد ۲۱۰ عدد بچه ماهی کپور کوی با وزن متوسط ۱/۵ گرم و طول کل ۴/۵ سانتی‌متر در ۲۱ تشتک ۲۰ لیتری به طور یکسان توزیع گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل گروه شاهد (بدون مادهٔ ضدعفونی)، تیمارهای ضدعفونی با مادهٔ شیمیایی متیلن بلو با غلظت‌های ۲، ۳ و ۴ ppm و تیمارهای کلرامین T با غلظت‌های ۱۰، ۱۵و ۲۰ ppm هر یک با ۳ تکرار بودند. عملیات ضدعفونی به صورت حمام‌دهی برای مدت ۳۰ دقیقه در طی ۳ روز متوالی انجام شد. در پایان روز سوم کشت میکروبی و قارچی نمونه‌های پوست و آبشش به روش کشت سطحی صورت گرفت. نتایج ارزیابی آماری فلور باکتریایی پوست و آبشش نشان داد کلرامین T ۲۰ppm و متیلن بلو ۴ ppm تأثیر معنی دار آماری کاهشی بر فلور باکتریایی و قارچی اندام های مورد بررسی در مقایسه با تیمار شاهد داشته‌اند به طوری که در کاهش فلور باکتریایی و قارچی آبشش‌ها و پوست مواد و مقادیر یاد شده مؤثرتر از سایر تیمارهای مورد بررسی بوده اند($P<0/05$).

کلمات کلیدی: کوی، *Cyprinus carpio*، ضدعفونی، کلرامین T، متیلن بلو، بارمیکروبی، قارچ.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). habib.vahabzadeh@gmail.com

www.SID.ir

Arshive of SID

مقدمه

با توجه به گسترش صنعت ماهیان زینتی در سال‌های اخیر، متأسفانه اطلاعات مربوط به پیشگیری و درمان بیماری های ماهیان زینتی در حد لازم توسعه نیافته است و این خلاء باعث بروز مشکلات عدیدهای در بین دارندگان این دسته از ماهیان شده است (ابراهیم زاده موسوی،۱۳۸۸). از مهم ترین عوامل زیان آور در صنعت پرورش ماهیان تزئینی، بیماری‌های قارچی می‌باشند (آکسلرود، ۱۹۸۹). لذا در سال‌های اخیر استفاده از مواد ضدعفونی کننده برای درمان این بیماری‌ها، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (فاطمی ومیرزرگر، ۱۳۸۶).

ماهی کوی (*Cyprinus carpio*)یکی از قدیمی‌ترین و شاید اولین ماهی زینتی جهان به شمار می‌رود. این ماهی در ابتدا برای پرورش در استخرها تکثیر شد، ولی زیبایی خیره کننده‌ی این ماهی سبب شد تا نگهداری از آن در آکواریوم‌های خانگی به سرعت مرسوم شود. باتوجه به اینکه ماهی کوی جزء دسته‌ای از ماهیان است که تکثیر آن در استخر صورت می گیرد و بعد به آکواریم منتقل می شوند، احتمال اینکه این ماهی آلوده به عوامل بیماری‌زا باشد بسیار زیاد است. بنابراین بهترین راه برای مقابله با این دسته از بیماری‌ها، پیشگیری از ورود آنها همراه بچه ماهیان به آکواریوم است (آکسلرود، ۱۹۸۹). لذا در این تحقیق به بررسی تاثیر باز دارندهی داروهای کلرامین T و متیلن بلو بر بار باکتریایی و قارچی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی پرداخته شد.

کلرامین T یک نمک سدیم است که آنیون آن در آب به آرامی به آنیون هیپوکلریت تجزیه شده و هیپوکلریت هم به اسید هیپوکلرو (HCLO) ضعیف تبدیل می‌شود و این اسید به نوبهٔ خود به کلر و اکسیژن تجزیه می شود. ترکیب تجزیه ای حاصل از کلرامین T، به شکل پارا تولوئن سولفونامید است که اخیراً به عنوان یک عامل پیشگیری کننده در بیماری باکتریایی آبشش استفاده می شود (Thorburn and Moccica, 1993). این ماده ضدعفونی کنندهٔ فعالی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها و فاقد اثر خورندگی و تجمع مواد در محیط زیست می باشد (Campbell and Parsons, 1999). از آنجا که فاصلهٔ بین دوز درمانی و مرگ‌آور کلرامین T زیاد است ، از این ماده به عنوان یک ضدعفونی کننده وسیع‌الطیف یاد می‌شود. کلرامین T از سوی تمامی سازمان های بین المللی مسئول محیط زیست انسان و حیوان نظیر WHO، FAO و همچنین انستیتو پاستور ایران و وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی مورد تأیید قرار گرفته و به عنوان یک ضدعفونی کنندهٔ بدون زیان برای انسان شناخته شده است (شفیعی ثابت، ۱۳۸۸).

بیماری باکتریایی آبشش‌ها، عفونت ناشی از چند عامل است، باکتری فلکسی باکتربرانشیوفیلوم (*Flexibacter branchiophilum*) و تک یاخته‌های ایکتیوفتریوس، ایکتیوبود، چیلودنلا و تریکودینا اغلب ممکن است در بروز عفونت دخالت داشته باشند. به طور متعارف بیماری را با ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی یا کلرامین T درمان می کنند، اما این ترکیبات دارای حاشیه‌ی سلامتی اندکی هستند (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶). مبنای فعالیت کلرامین T، تجزیه‌ی تدریجی آن به اسید هیپوکلروس و آزاد کردن اکسیژن و کلر می‌باشد. با استفاده از ۱۵ قسمت در میلیون کلرامین T به مدت یک ساعت، می‌توان عفونت ناشی از آئرومونـاس سالمونیسیدا را در قزل‌آلای جویباری

www.SID.ir

Arshive of SID

کنترل کرد در حالی که فرمالین در کنترل آن اثری نخواهد داشت. کم‌ترین غلظت بازدارنده کلرامین T، در مورد آئروموناس سالمونیسیدا در آزمایشگاه در محدودهٔ ۵ تا ۱۲/۵ قسمت در میلیون کلرامین T به مدت ۶۰ دقیقه و ۱/۵ تا ۳ قسمت در میلیون به مدت ۲۴ ساعت بود (فاطمی و میرزرگر، ۱۳۸۶). به عنوان یک اصل کلی در صورتی که pH اسیدی باشد از غلظت پایین کلرامین T و با افزایش میزان سختی آب از غلظت بالاتر کلرامین T جهت ضدعفونی آب و تهیهٔ محلول‌های ضدعفونی استفاده می‌کنیم (شفیعی ثابت، ۱۳۸۸).

متیلن‌بلو کریستال‌هایی به رنگ آبی با فرمول مولکولی C16H18CIN3S.3H2O می‌باشد که دارای خاصیت گند زدایی وسیع است و ماهی بدون اثرات جانبی غلظت‌های بالای آنرا تحمل می‌کند . از متیلن بلو برای ماهیان آب شیرین و دریایی، آکواریوم‌ها و استخرها استفاده می‌شود و معمولاً برای ضدعفونی قارچ‌های سطحی ماهیان استفاده می‌شود و می‌توان به عنوان جایگزینی برای مالاشیتگرین درکنترل آلودگی قارچی در زمان حساسیت ماهی‌ها استفاده می‌شود. همچنین می‌توان برای جلوگیری از عفونت‌های قارچی تخم‌ها و بچه ماهیان نورس مورد استفاده قرار گیرد.

از جمله مطالعات انجام شده در رابطه با ضدعفونی کننده‌های یاد شده، می‌توان به بررسی اثرات کلرامین T در درمان بیماری‌های عفونی آبشش و پوست در آزاد ماهیان توسط Davis و Dawson (۱۹۹۷)، بررسی اثر مادهٔ کلرامین T برکاهش تعداد فلور باکتریایی موجود در آبشش آزاد ماهیان توسط Trust (۱۹۷۵). بررسی اثرات درمانی و سمیت کلرامین T برای تیمار آلودگی با فلاووباکتریوم کلومناریس درماهی طلایی توسط Altinok (۲۰۰۴) اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان، واقع در بندر چمخاله انجام گردید. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله دما، pH، اکسیژن محلول و سختی، قبل و بعد از اضافه کردن ماده‌ی ضدعفونی‌کننده اندازه‌گیری شدند. میانگین دمای آب سالن هنگام انجام پژوهش ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود. برای این تحقیق ۲۱۰ قطعه بچه ماهی کپور کوی با میانگین وزن ۱/۵ گرم و طول ۴/۵ سانتی‌متر تهیه شد. تیمارهای مورد بررسی شامل سه غلظت ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T و سه غلظت ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر متیلن بلو، با سه تکرار و همچنین یک گروه شاهد (بدون دارو) بوده است. تعداد بچه ماهیان در هر تکرار از گروه تیماری و شاهد ۱۰ عدد در نظر گرفته شد. بچه ماهیان سه روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه مورد ضدعفونی، همراه با هوادهی قرار گرفتند. به منظور کشت میکروبی پس از پایان سومین روز دارودهی، از پوست و آبشش دو عدد بچه ماهی از هر تیمار و تکرارهای مربوط به آن، به طور تصادفی نمونه‌برداری شد.

به منظور مطالعات باکتری‌شناسی، نمونه‌ها با سرم فیزیولوژی استریل (۰/۹٪) شستشو داده شد و سپس در ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی محلول هموژن تهیه گردید. پس از تهیه رقت‌های لازم از سوسپانسیون اولیه (10^{-1} تا 10^{-7})، ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌ها بر روی محیط‌های کشت TSA به روش کشت سطحی تلقیح انجام داده و پلیت ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵

www.SID.ir

Arshive of SID

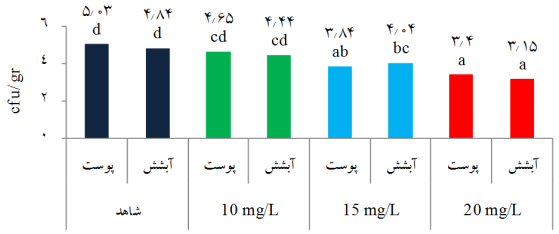
روز مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس کلونی‌ها شمارش شده و CFU محاسبه شد (Pollock *et al.*, 2002).

برای انجام مطالعات قارچ شناسی نیز پس از تهیه محلول هموژن از پوست و آبشش اقدام به رقیق‌سازی (۰/۱ ، ۰/۰۱) در لوله‌های آزمایش استریل گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت‌های بدست آمده توسط سمپلر بر روی محیط کشت SDA حاوی کلرامفنیکل و جنتامایسین تلقیح شدند. پلیت‌های کشت شده به مدت ۷۲-۴۸ ساعت به منظور شمارش کلی ۵ – ۳ روز به منظور رشد کامل پرگنه‌های قارچی در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از رشد پرگنه‌های قارچی، در مرحله نخست خالص‌سازی صورت گرفت و در پاساژ دوم اسلایدکالچر تهیه گردید. پس از تشکیل ساختمان اسپرزائی، بوسیله یک قطره الکل متیلیک عمل فیکس انجام شد و بوسیله رنگ لاکتوفنل کاتن بلو رنگ‌آمیزی صورت گرفت. پس از این مراحل قارچ‌ها بر اساس ساختار میسیلیوم و اندام‌های زایشی مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه مطالعات قارچ شناسی براساس شیوه‌های استاندارد (Willoughby, 1994) انجام پذیرفت.

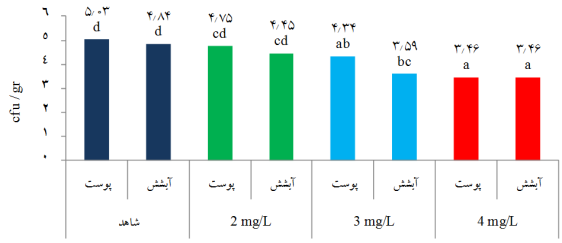
به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro - Wilk و رسم نمودار هیستوگرام استفاده شد. به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) انجام آزمون همگن بودن واریانس، مقایسه‌ی گروه‌ها با یکدیگر با آزمون دانکن و مقایسه‌ی دو گروه با آزمون Independent Samples T-Testانجام شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ و رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه میانگین شمارش کل باکتریایی در پوست و آبشش بچه ماهیان پس از استفاده از کلرامین T با مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و متیلن بلو با غلظت های ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر با شاهد در طی ضدعفونی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در این ارتباط و بر اساس آزمون دانکن، میانگین شمارش کل باکتریایی در پوست و آبشش به ترتیب در مقادیر ۲۰ ، ۱۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T و غلظت‌های ۴، ۳ و ۲ میلی‌گرم در لیتر متیلن بلو کمتر از شاهد بوده است (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱: مقایسه‌ی میزان کل باکتری در پوست و آبشش بچه ماهیان در شاهد و تیمارهای ضدعفونی شده با کلرامین T



شکل ۲: مقایسه‌ی میزان کل باکتری در پوست و آبشش بچه ماهیان در شاهد و تیمارهای ضدعفونی شده با متیلن بلو

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه میانگین شمارش کل قارچی در پوست بچه ماهیان پس از استفاده از کلرامین T با مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر برای ضدعفونی، در تمامی سطوح با هم و با

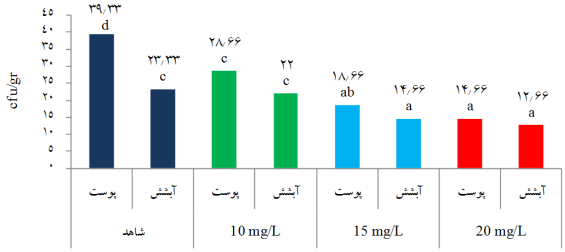
www.SID.ir

Arshive of SID

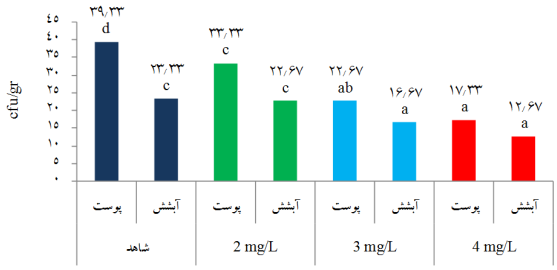
تیمار شاهد اختلاف معنی‌دارآماری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

چنین اختلاف معنی‌داری در شمارش کل قارچی آبشش بچه ماهیان نیز دیده شد. اگر چه در بین تیمارهای ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، اما بار قارچی در این دو غلظت با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵). در بین تیمارهای شاهد و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T، اختلاف معنی داری دیده نشد اما بار قارچی در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T، کم‌تر از شاهد بوده است (P>۰/۰۵).

بر اساس آزمون دانکن، میانگین شمارش کل قارچی در پوست و آبشش به ترتیب در مقادیر ۲۰ ، ۱۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T و ۴ ، ۳ و۲ میلی‌گرم در لیتر متیلن بلو کمتر از شاهد بوده است (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳: مقایسه‌ی میزان کل قارچ در پوست و آبشش بچه ماهیان در شاهد و تیمارهای ضدعفونی شده با کلرامین T



شکل ۴: مقایسه‌ی میزان کل قارچ در پوست و آبشش بچه ماهیان در شاهد و تیمارهای ضدعفونی شده با متیلن بلو

بحث

آب در مناطقی که آلودگی با مواد آلی زیاد است محیط مناسبی برای رشد بسیاری از جنس‌های میکروب‌ها است، محققین نشان داده‌اند که فلور میکروبی عادی ماهی رابطه مستقیمی با فلور میکروبی آب محیط زیستش دارد. همچنین انواعی از باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارند که دارای زندگی انگلی اجباری‌اند و در خارج بدن ماهی میزبان قادر به ادامه حیات نمی‌باشند (مخیر، ۱۳۷۴). بیماری‌های باکتریایی و قارچی نقش عمده‌ای در مرگ و میر ماهی‌ها دارند و به عنوان فاکتورهای مهم پویایی جمعیت ماهیان محسوب می‌شوند (Macfariane *et al.*, 1986).

میکروفلور باکتریایی و قارچی جدا شده از تخم‌ها، پوست، آبشش‌ها و روده در تعداد محدودی از ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. به طور کلی تنوع و تعدادگونه‌های باکتریایی به زیستگاه‌های آبی ماهیان وابسته است 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 رابطه‌ی دقیق بین میکروفلور ماهی و آب را با مشکل مواجه سازد. باکتری‌ها و قارچ‌های موجود در پوست و آبشش ممکن است به صورت گذرا و لحظه‌ای در روی آن‌ها قرار گیرند و مقیم این اندام نباشند (Cahill, 1990). با وجود اهمیت ماهیان تزئینی از نقطه نظر اقتصادی در دنیا مطالعات میکروبی به ویژه شناسایی فلور باکتریایی و قارچی در این ماهیان بسیار اندک و در برخی گونه‌ها حتی ناشناخته است.

در این تحقیق تأثیر مثبت کلرامین T و متیلن بلو بر کاهش بار باکتریایی و قارچی پوست و آبشش به

www.SID.ir

Arshive of SID

خوبی به اثبات رسیده است. در بررسی حاضر غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و بعد ازآن غلظت ۱۵ میلی‌گرم درلیتر کلرامین T به عنوان بهترین غلظت برای کاهش بار باکتریایی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی معرفی شده است. Gaikowski و همکاران (۲۰۰۸) نیز در پی بررسی اثرات غلظت‌های پیشنهادی کلرامین T بر بقای ماهیان گرمابی و سردابی آب شیرین اعلام نمودند که کلرامین T در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند برای بقای این ماهیان بسیار مفید واقع شود. همچنین Altinok و همکاران (۲۰۰۴)، غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کلرامین T را برای کاهش آلودگی باکتریایی در ماهی طلایی به عنوان یک ضدعفونی‌کننده‌ی مؤثر معرفی نمودند. از آنجا که این گونه و کوی هر دو از کپورماهیان تزئینی می‌باشند و همچنین دارای شرایط زیستی مشابهی هستند، می‌توان نتایج حاصل از این دو تحقیق را با هم مشابه دانست.

در تحقیق حاضر، از بین غلظت‌های پیشنهاد شده غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در طی حمام نیم ساعته، به عنوان بهترین غلظت برای ضدعفونی بچه‌ماهیان کوی معرفی شده است. این در حالی است که Dawson و همکاران (۱۹۹۷)، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر کلرامین T را در طی یک حمام یک ساعته برای پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی پوست و آبشش در آزادماهیان توصیه کرده‌اند که تفاوت در نتایج این دو مطالعه را می‌توان با اختلاف در مدت حمام‌دهی و رابطه غلظت با آن توجیه کرد.

در تحقیق حاضر کلرامین T موجب کاهش بار باکتریایی شده است .Aydin و همکاران (۲۰۰۹)، نیز بهترین دارو برای جلوگیری از شیوع بیش‌تر و حتی درمان عفونت باکتریایی پسودوموناس در کپور آینه‌ای را غلظت ppm ۱۰ کلرامین T به صورت حمام دهی دانستند. بنابراین از آنجا که کوی و کپور آینه‌ای هر دو از یک جنس و گونه می‌باشند تشابه نتایج حاصل از این دو مطالعه در تایید یکدیگر می‌باشند.

در این تحقیق، با وجود آن‌که همه غلظت‌های مورد آزمایش کلرامین T و متیلن‌بلو نقش مثبتی در کاهش بار باکتریایی و قارچی پوست و آبشش ماهیان مورد بررسی داشتند، اما عملکرد کلرامین T در غلظت ۲۰ و متیلن‌بلو در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر بیش‌تر و بهتر از سایر غلظت‌ها بوده است.

از بین غلظت‌های پیشنهاد شده در تحقیق حاضر، غلظت۴ppm در طی حمام نیم ساعته، به عنوان بهترین غلظت برای ضدعفونی بچه‌ماهیان کوی معرفی شده است. این در حالی است که Subasinghe (۱۹۹۲) متیلن بلو را در طول درمان قرنطینه‌ای ماهیان آکواریومی بویژه برای مولدین به صورت حمام دائمی ppm ۱ معرفی نموده است. همچنین بیان نموده که در حمام دائمی غلظت ppm ۳-۲ را می‌توان برای ماهیان در تمام سنین مورد استفاده قرار داد. اختلاف مقادیر توصیه شده این داروها در نتایج این دو مطالعه را می‌توان ناشی از رابطه مدت زمان مواجهه و غلظت ماده شیمیایی توجیه کرد.

در این تحقیق متیلن بلو در غلظت ۴ppm به عنوان یک ضدعفونی کنندهٔ مناسب برای کاهش فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی معرفی شد. از آنجا که Bolivar و همکاران (۲۰۰۲)، نیز غلظت ۳/۸۳ میلی‌گرم بر لیتر متیلن‌بلو را به عنوان یک ضدعفونی کنندهٔ مؤثر برای کاهش فلور باکتریایی آب محیط پرورش تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)معرفی نموده‌اند می‌توان نتایج این دو تحقیق

www.SID.ir

Arshive of SID

را با یکدیگر مطابق دانست. این در حالی است که Eleke و Okpokwasilli (۱۹۹۷)، بیان کرده‌اند که متیلن بلو در غلظت ppm ۸ به خوبی سبب توقف رشد باکتریایی و قارچی می شود. علت تفاوت غلظت متیلن بلو با تحقیق حاضر می‌تواند به دلیل نوع گونه، اندازه‌ی ماهی، شرایط نگهداری و شرایط دمایی و حتی میزان آلودگی باشد.

Remedios و همکاران (۲۰۰۳) ، ثابت کردند که از بین غلظت های ۱ و ۳ ppm متیلن بلو، غلظت ppm۳ در طی ۶ تا ۱۲ ساعت بیش‌ترین کاهش بار باکتریایی را در آب محیط بچه ماهیان انگشت قد تیلاپیا داشته است .در این تحقیق غلظت ۳ ppm متیلن بلو از نظر اثربخشی در رتبه‌ی دوم قرار گرفت، زیرا اثربخشی غلظت ۴ ppm متیلن بلو در کاهش بار باکتریایی و قارچی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی حتی از غلظت ۳ ppm نیز بیش‌تر بوده است.

Anderson (۱۹۹۲)، بیان نمود که متیلن بلو می‌تواند برای درمان بیماری‌های قارچی پوستی روی تخم‌های ماهیان آب شیرین در استخرها و نهرها با بکار بردن نسبت ۲ تا ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر در یک حمام دائمی استفاده شود. در حالی که در تحقیق حاضر، از بین غلظت‌های پیشنهاد شده غلظت ۴ ppm در طی حمام نیم ساعته، به عنوان بهترین غلظت برای ضدعفونی بچه ماهیان کوی معرفی شده است. تناقض در نتایج این دو مطالعه را میتوان با در نظر گرفتن مدت حمام دهی و سن نمونه های مورد آزمایش توجیه کرد.

در این تحقیق متیلن بلو در غلظت‌های ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر به عنوان یک ضدعفونی کننده‌ی مناسب برای کاهش فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش بچه ماهیان کوی معرفی شد. از آنجا که Van Duijn (۱۹۷۳)، نیز بیان نموده که متیلن بلو به عنوان یک ضدعفونی کننده در تمام بیماری‌های آبششی، زمانی که ماهیان مشکلات تنفسی را تحمل می‌کنند می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد لذا می‌توان دست کم افزایش غلظت تا غلظت ppm۴ را موجه دانست.

نتایج مطلوب تمامی تحقیقات یاد شده به همراه گستردگی غلظت‌های قابل استفاده در فرآیند ضدعفونی و همچنین امکان بهره‌گیری از روش‌های گوناگون برای انجام عملیات حمام دهی دارویی، همگی لزوم ادامه‌ی بررسی‌هایی نظیر این تحقیق رادر شرایط گوناگون محیط پرورش بیان می کنند، تا این دو ماده بهتر از قبل شناسایی و معرفی شوند و با اطمینان بیش‌تری مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله ازآقای مهندس جلیل جلیل‌پور به جهت همکاری در انجام پردازش آماری داده‌ها و مراحل آزمایشگاهی کشت نمونه‌ها سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

۱. ابراهیم‌زاده‌موسوی، ح.، ذبیحی محمودآبادی، ع.، قره باغی، ع.، منصوری‌دانش،م.. ۱۳۸۸، بیماری‌های ماهیان زینتی.انتشارات علمی آبزیان، ۳۷۸ صفحه.
۲. آکسلرود، ه.، ۱۹۸۹. راهنمای بیماری ماهی‌های آکواریمی، ترجمهٔ حمید صفری۱۳۸۲، ۱۹۵ صفحه.
۳. شفیعی‌ثابت، س.، ۱۳۸۸. هالامید ضدعفونی کننده فراگیر در مجموعه فعالیت‌های آبزی پروری، مجله دام، کشت و صنعت، ۱۱۷، ۳۰-۳۱.
۴. فاطمی، س.ا.، میرزرگر، س.س.، ۱۳۸۶. فارماکولوژی کاربردی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران، ۶۲۴ صفحه.

www.SID.ir

Arshive of SID

۵. مخیر، ب.، ۱۳۷۴. بیماری‌های ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران، ۵۶۰ صفحه.

6. Altinok, I., 2004. Toxicity and therapeutic effects of chloramine-T for treating *Flavobacterium columnare* infection of goldfish, Aquaculture, 239, 47–56.
7. Anderson, I.G., 1992. The use of chemotherapeutic agents in finfish and shellfish culture in Australia. 493-504. In: Sheriff, M., Subasinghe, R. P., Arthur, J.R. (eds.). Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 587 P.
8. Bolivar, R.B., Aragones, M.A., Garcia, G., 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. Cahill, M.M., 1990. Bacterial flora of fishes: A review. Microbiology Ecology, 19, 27-47.
10. Campbell, D.J.C., Parsons, D.G., 1999. Halamid and Biosecurity. Fish Veterinary Journal, 3, 68-73.
11. Dawson, V.K., Davis, R.A., 1997. Liquid chromatographic determination of chloramine –T and its primary degradation product, P-Toluen sulfonamide in water. Journal of AOAC International, 80, 316-318.
12. Gaikowski, M.P., Larson, J.W., Gingerich, H.W., 2008. Survival of cool and warm freshwater fish following chloramine-T exposure. Aquaculture, 275, 20–25.
13. Macfarlane, R.D., McLaughlin, J.J., Bullock, G.L., 1986. Quantitative and Qualitative studies of gut flora in striped from estuarine and coastal marine environments. Journal of wildlife Diseases, 22(3), 344-348.
14. Okpokwasili, G.C., Elke, F.N., 1997. Effects of antimicrobial agents on activity and survival of *Aeromonas hydrophilla* and nitrifying bacteria in vitro, Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 25(4), 231-240.
15. Pollock, R.A., Finlay, L., Mondschein, W., Modesto, R.R., 2002. Laboratory exercises in Microbiology. John Wiley & sons, INC, 232 P.
16. Remedios, B.B., Aragones M.D., Garcia, G.G., 2003. Effect of Methylene Blue and Sodium Chloride on The Bacterial Load in the transport water with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings.
17. Schaperclaus, W., 1992. Fish Diseases. Volume 1.A.A. Balkeena, Rotterdam, Holland. Swan. 1993. Transportation of fish in bags.
18. Subasinghe, R.P., 1992. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in Srilanka, 547-554. In: sheriff, M., Subasinghe, R.P., and Arthur, JR. (eds.).Diseases in Asian Aquaculture I. fish Health section, Asian fisheries society, Manila, Philippines, 587 P.
19. Thorburn, M.A., Moccica, R.D., 1993. Use of Chemotherapeutics on Trout farms In Ontario. Journal of Aquatic Animal Health, 5, 85-91.
20. Trust, T. J., 1975. Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater. Journal of Applied Microbiology, Vol. 38, pp. 225-233.
21. Van Duijn, C.Jr., 1973. Diseases of fishes. 3rd edition. Butterworth and co. ltd., London, 372. P.
22. Willoughby, L.G., 1994. Fungi and Fish Diseases. Pisces press, 57 P.

www.SID.ir