

اثرات حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی - قارچی پوست و آبشش و برخی شاخص‌های خون‌شناسی و استرس تاس ماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus*

سلاخ قاسمی، م. ت.؛ خارا، ح.؛ جلیل پور، ج.؛

^۱ گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

^۲ بخش بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت،

ایران

*Email: h.khara1974@yahoo.com

هدف این تحقیق تعیین اثر حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش برخی شاخص‌های خون‌شناسی و استرس تاس ماهی استرلیاد بود. برای این منظور ۱۰۵ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد با وزن میانگین $2/85 \pm 41/83$ گرم و طول میانگین $23/67 \pm 0/48$ سانتی‌متر مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارها شامل سولفات مس با دوزهای ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۵ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه)، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و پرمنگنات پتاسیم با دوزهای ۱ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۲ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه)، ۳ میلی‌گرم در لیتر (حمام دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و یک گروه شاهد «بدون ماده ضدعفونی» بودند. 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 نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد و سایر تیمارها داشته‌اند ($p < 0.05$). همچنین میزان هورمون کورتیزول و گلوکز به‌عنوان شاخص‌های استرس در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده‌اند ($p < 0.05$). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در ماهی استرلیاد روش ضدعفونی کوتاه‌مدت (۱۰ دقیقه) برای هر دو ماده توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: تاس ماهی استرلیاد، سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم، فلور باکتریایی - قارچی، فاکتورهای خون‌شناسی، استرس.

مقدمه:

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 et al., 2006). سولفات مس در آبیان به‌طور گسترده برای جلوگیری از پوسیدگی باله‌ها و آسیب‌های پوست ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gratzek et al., 1992; Leitritz and Lewis, 1980). همچنین برای جلوگیری از انگل‌های خارجی ماهی در آکواریوم‌های دریایی مورد استفاده می‌شود (Cardeilhac and Whitaker, 1998; Gratzek and Blasiola, 1992). پرمنگنات پتاسیم یک ماده شیمیایی

غیرآلی است که به‌طور گسترده در سطح جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و اطلاعات زیادی در مورد فرآورده‌های شیمیایی و موارد استفاده آن در دسترس است (Duncan, 1978). پرمنگنات پتاسیم برای درمان عوامل بیماری‌زای خارجی شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و تعدادی از انگل‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Stoskopf, 1993; Straus and Griffin, 2002). استفاده از ترکیبات رنگی نظیر پرمنگنات پتاسیم یا سولفات مس نیز برای شستشو مفید است، زیرا مناطقی را که غلظت ماده ضدعفونی‌کننده زیاد است، می‌توان دید و مدت‌زمانی را که باید ماهیان تحت درمان قرار گیرند (ستاری، ۱۳۷۸). این تحقیق باهدف تعیین اثر حمام درمانی‌های مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلورباکتریایی و قارچی پوست و آبشش و شاخص‌های خونی ماهی استرلیاد و اتخاذ مناسب‌ترین روش‌های درمانی انجام شد.

مواد و روش‌ها:

برای انجام این تحقیق ۱۰۵ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد و ۲۱ وان با حجم ۴۰ لیتر آب در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت استفاده شدند. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب $14/80 \pm 0/73$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن $4/80 \pm 0/26$ و $pH 7/65 \pm 0/12$ بود. در کلیه حمام درمانی‌ها، نمونه‌برداری از ماهیان برای بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی در انتهای دوره ۲ روزه انجام گرفت. پس از پایان عملیات ضدعفونی از هر تیمار ۳ عدد بچه تاس ماهی استرلیاد جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی و قارچ‌شناسی به‌صورت تصادفی انتخاب شدند (Pollock et al., 2002; Willoughby, 1994). خون‌گیری از ورید ساقه دم به‌وسیله سرنگ ۲ سی‌سی انجام شد (Torrecillas et al., 2010). نمونه‌های خون برای برخی فاکتورهای خون‌شناسی و هورمون‌های کورتیزول و گلوکز به‌عنوان شاخص‌های استرس تهیه شدند (and Klontz, 1994). برای بررسی‌های آماری از آزمون واریانس یک‌طرفه و توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج:

بررسی‌ها نشان داد که دوزهای بالای سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم (حمام درمانی کوتاه‌مدت و غوطه‌وری) موجب کاهش فلور باکتریایی و قارچی آبشش و پوست می‌شود، بطوریکه در مقایسه با شاهد و تیمار حمام درمانی بلندمدت تفاوت‌ها معنی‌دار بودند ($p < 0.05$) (جدول ۱). مقادیر گلبول‌های سفید ماهی استرلیاد با افزایش مدت‌زمان حمام درمانی (کاهش دوز مواد ضدعفونی) افزایش نشان داد و این در شمارش‌های افتراقی نوتروفیل، منوسیت و ائوزونوفیل دیده شد. ضمن اینکه تفاوت‌ها در تعداد گلبول‌های سفید و نوتروفیل معنی‌دار بودند (جدول ۲) ($p < 0.05$). در مقابل تغییرات گلبول‌های قرمز و اندیس خونی معنی‌دار نبودند (جدول ۳) ($p > 0.05$). میانگین هورمون‌های کورتیزول و گلوکز نیز در کلیه تیمارها با افزایش مدت‌زمان ضدعفونی افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است (شکل‌های ۱ و ۲) ($p < 0.05$).

جدول ۱- میانگین شمارش باکتریایی و قارچی در آبشش و پوست ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف.

تیمار	باکتری آبشش (لگاریتم کلنی بر گرم)	باکتری پوست (لگاریتم کلنی بر سانتی‌متر مربع)	قارچ آبشش (لگاریتم کلنی بر گرم)	قارچ پوست (لگاریتم کلنی بر گرم)
شاهد	$4/76 \pm 0/05^c$	$4/77 \pm 0/12^a$	$120 \pm 11/55^d$	$80 \pm 17/32^c$
۱ (سولفات مس mg/l)	$3/30 \pm 0/17^a$	$3/10 \pm 0/1^b$	30 ± 10^a	$20 \pm 5/78^{ab}$

(۱۰)

۲۳/۳۳ ± ۸/۸۱ ^{ab}	۴۳/۳۳ ± ۸/۸۲ ^a	۳/۲۰ ± ۰/۱۱ ^c	۳/۴۷ ± ۰/۱۲ ^a	۲ (سولفات مس mg/l)
				(۵)
۴۳/۳۳ ± ۸/۸۲ ^b	۸۶/۶۷ ± ۱۴/۵۳ ^c	۳/۸۵ ± ۰/۰۳ ^c	۳/۸۵ ± ۰/۰۳ ^b	۳ (سولفات مس mg/l)
				(۳)
۶/۶۷ ± ۳/۳۳ ^a	۲۰ ± ۵/۷۸ ^a	۳/۴۹ ± ۰/۰۱ ^c	۳/۴۹ ± ۰/۰۶ ^a	۴ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)
				(۳)
۶/۶۷ ± ۳/۳۳ ^a	۲۶/۶۷ ± ۳/۳۳ ^{ab}	۳/۴۷ ± ۰/۱۱ ^d	۳/۴۸ ± ۰/۰۹ ^a	۵ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)
				(۲)
۲۳/۳۳ ± ۳/۳۳ ^{ab}	۶۳/۳۳ ± ۸/۸۲ ^b	۳/۵۳ ± ۰/۱۲ ^e	۳/۹۶ ± ۰/۰۲ ^b	۶ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)
				(۱)

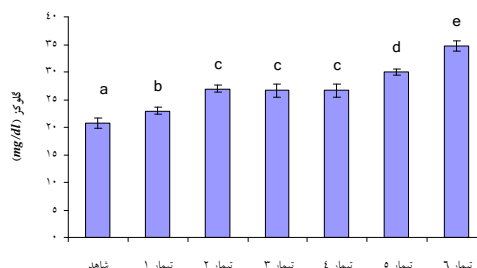
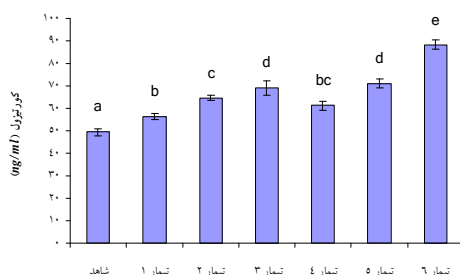
جدول ۲- شمارش افتراقی و میانگین گلبول‌های سفید ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم.

تیمار	گلبول سفید (mm ³)	نوتروفیل (%)	لیمفوسیت (%)	موسیت (%)	آنوزیوفیل (%)
شاهد	±۲۰۲/۷۶ ^a	±۰/۶۷ ^a	±۰/۸۸	۲/۳۳ ± ۰/۳۳	۰/۳۳ ± ۰/۳۳
۱ (سولفات مس ۱۰ mg/l)	±۳۶۶/۶۷۴ ^a	±۰/۶۷ ^a	۶۷ ± ۰/۵۸	۲/۶۷ ± ۰/۳۳	۱ ± ۰/۵۸
۲ (سولفات مس ۵ mg/l)	۱۰۹۰۰ ± ۳۲۱/۴۵ ^{ab}	±۰/۸۹ ^a	±۱/۴۵	۳ ± ۰/۵۷	±۰/۳۳
۳ (سولفات مس ۳ mg/l)	۱۴۲۰۰ ± ۱۶۵۰/۲۵ ^c	۳۳/۶۷ ± ۰/۸۸ ^c	±۰/۶۷	۳/۶۷ ± ۰/۳۳	±۰/۳۳
۴ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)	۱۰۳۰۰ ± ۲۰۸/۱۷ ^a	±۱/۴۵ ^{bc}	±۱/۴۵	±۰/۳۳	±۰/۳۳
۵ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)	±۱۶۸۹/۵۱ ^c	±۱/۳۳ ^c	±۰/۳۳	۴ ± ۰/۵۸	۱ ± ۰/۵۸
۶ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)	۱۳۲۰۰ ± ۲۶۴/۵۸ ^{bc}	۳۳/۶۷ ± ۰/۶۷ ^c	±۰/۸۸	±۰/۳۳	±۰/۳۳

جدول ۳- میانگین گلبول قرمز و اندیس‌های خونی ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم.

تیمار	گلبول قرمز (mm ³)	MCV (fl)	MCH (P/g)	MCHC (g/dl)
شاهد	±۱۰۰۳۸/۸۱	۴۰۹ ± ۱/۵۳	±۰/۳۳	۲۷ ± ۰
۱ (سولفات مس ۱۰ mg/l)	±۳۷۱۱۸/۴۳	۴۲۷ ± ۱/۱۵	±۰/۳۳	۲۶ ± ۰
۲ (سولفات مس ۵ mg/l)	۶۹۵۰۰ ± ۳۵۸۳۷/۵۹	±۱/۳۳	±۰/۳۳	۲۵/۳۳ ± ۰/۳۳
۳ (سولفات مس ۳ mg/l)	±۳۷۳۵۵/۶۴	±۲/۶۷	±۰/۳۳	۲۶ ± ۰
۴ (پرمنگنات پتاسیم mg/l)	۷۰۴۰۰ ± ۲۴۲۴۸/۷۱	±۲/۰۲	±۰/۳۳	۲۷ ± ۰

۲۵/۶۷ ± ۰/۳۳	± ۰/۳۳	± ۴/۳۷	± ۳۶۸۸۴/۲۰	۵) پرمنگنات پتاسیم mg/l
	۱۱۰/۳۳	۴۲۷/۳۳	۷۰۸۶۶۶/۶۷	(۲)
	± ۰/۶۷	۴۲۱ ± ۷/۷۷	± ۲۰۱۸۵/۲۵	۶) پرمنگنات پتاسیم mg/l
۲۶/۳۳ ± ۰/۶۷	۱۱۰/۳۳		۷۰۴۶۶۶/۶۷	(۱)



شکل ۲- روند تغییرات هورمون کورتیزول خون ماهیان در مواجهه با تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم

شکل ۱- روند تغییرات هورمون گلوکز خون ماهیان در مواجهه با تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم

بحث:

نتایج این تحقیق نشان داد که میانگین شمارش باکتری‌های پوست در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. در این بین حمام درمانی‌های کوتاه‌مدت و غوطه‌وری بهترین جواب را نسبت به حمام درمانی طولانی‌مدت داشته‌اند و در این بین افزایش دوز ماده ضد عفونی‌کننده مؤثرتر بوده است. چنین نتایجی در تحقیقات جوینده (۱۳۹۱) در ماهی آمور و مشتاقی (۱۳۸۸) در تاس ماهی ایرانی نیز مشاهده شده است. در این مطالعه میزان گلبول سفید و نوتروفیل خون بچه ماهیان استرلیاد در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (حمام دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت) و ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر پرمنگنات پتاسیم (حمام دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت و حمام دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه) افزایش یافته بود. افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در گردش خون غالباً با استرس در ماهی در ارتباط است. نوتروفیل‌ها مشخصاً به محل‌های عفونت باکتریایی مهاجرت می‌کنند و در آنجا به بیگانه‌خواری می‌پردازند، یا در غیر این صورت خاصیت باکتری‌کشی از خود نشان می‌دهند. بر اساس گزارش (Dharam Singh 2008) در بررسی تأثیر سولفات مس بر روی گونه *Channa punctatus* از ماهیان آب شیرین افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون در درازمدت (۱۵ و ۳۰ روز) و تحت تأثیر این ضد عفونی‌کننده مشاهده نمود و دلیل آن را آسیب ناشی از عفونت بافت‌های بدن، استرس شدید و همچنین سرطان خون در ماهیان دانست. یافته‌های مشابهی توسط *Mazon* و همکاران (۲۰۰۲) نیز در زمینه آب‌زیان ثبت شده است. در تحقیق حاضر فاکتورهای استرس شامل کورتیزول و گلوکز نیز دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند. مقدار گلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ‌های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی است و در این حالت گلوکز از کورتیکواستروئیدها آزاد می‌شود که افزایش آن اولین پاسخ به اکثر محرک‌های استرس می‌باشد (Donaldson, 1981). محورهای هیپوفیز در هیپوتالاموس با چندین محرک استرس فعال می‌شوند و سطح کورتیزول خون را بالا می‌برند و واکنش غدد درون‌ریز با افزایش کاتاکولامین‌های را ایجاد و تحریک می‌کند (لیپولیز، گلوکونئوز و گلیکوژنولیز) که به روند انرژی حرکتی معروف هستند (Sheridan, 1986). افزایش غلظت گلوکز خون در نتیجه عدم تعادل بین محصولات هپاتیکی گلوکز و مقدار جذب قند است (Afaghi et al. 2007). به طوری که تیمار

سولفات مس با دوز $2 ppm$ به صورت حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت و پرمنگنات پتاسیم با دوز $1 ppm$ به صورت حمام بلندمدت، ۱۲ ساعت، سبب افزایش استرس در بچه تاس ماهیان استرلیاد می‌گردد. با توجه به نتایج به دست آمده از اثر سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی فلور باکتریایی و قارچی پوست و آبشش (عدم تفاوت معنی‌دار بین دو روش غوطه‌وری و کوتاه‌مدت) و همچنین شاخص‌های خونی (عدم اختلاف معنی‌دار) و استرس (تفاوت‌های قابل قبول) در ماهی استرلیاد روش ضد عفونی کوتاه‌مدت (۱۰ دقیقه) توصیه می‌شود. ضمن اینکه در این روش ما مجبور به دست کاری و خروج ماهی برای ضد عفونی غوطه‌وری و قطع طولانی مدت جریان آب برای روش ضد عفونی طولانی مدت (۱۲ ساعت) نیستیم.

منابع:

۱. جوینده، ف.، ۱۳۹۱. ارزیابی اثرات ضد عفونی کننده پرمنگنات پتاسیم و سولفات مس بر بار میکروبی پوست و شاخص‌های یافت‌شناسی آبشش بچه ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodonidella*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۹۳ صفحه.
۲. ستاری، م.، ۱۳۷۸. بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۴ صفحه.
۳. مشتاقی، ب.، نظامی بلوچی، ش.، خارا، ح.، پژند، ذ.، شناورماسوله، ع.، حلاجیان، ع.، و فتح الهی، ر.، ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم ($Kmno_4$) و سولفات مس ($Cuso_4.5H_2O$) در بچه تاس ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) (Borodin, 1897) *مجله علوم زیستی*. سال سوم، شماره ۴، صفحات ۷۷-۶۷.
4. Afaghi, A., Zare, S., Heidari, R., Asadpoor, Y., Viayeh, RM. 2007. Effects of copper sulfate ($CuSo_4$) on the levels of glucose and cortisol in common carp, *Cyprinus carpio*. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*. 10(10):1655-60.
5. Cardeilhac, P., Whitaker, B., 1998. Copper treatments: uses and precautions. *Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract.* 18, 435-448.
6. Donaldson EM. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickering AD. *Stress and Fish*. London:Academic. p. 11-47.
7. 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.
8. Gratzek, J.B., 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.
9. Gratzek, J.B., Shotts jr., E.B., Dave, D.L. (1992). Infections, diseases 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.
10. Klontz, G.W., 1994. Fish Hematology. In: *Techniques in Fish Immunology*, Stolen, J.S., T.C. Flecher, A.F. Rowely, T.C. Zelikoff, S.L. Kaattari and S.A. Smith (Eds.). Vol. 2, SOS Publications, USA., ISBN: 0962550582, pp: 121-132.
11. Leitritz, E., Lewis, R.C., 1980. *Trout and Salmon Culture (Hatchery Methods): California Fish Bulletin Number 164*. University of California Agricultural and Natural Resources Publications, Oakland, CA. 197 pp.
12. Peterson, D., Vecsei, P., Hochleithner, M., 2006. Threatened fishes of the world: *Acipenserruthenus Linnaeus, 1758 (Acipenseridae)*. *Environ. Biol. Fishes* 2p.
13. Pollock, R.A.; Finlay, L. Mondschein, W. and Modesto, R. R. 2002. *Laboratory exercises in Microbiology*. John wiley & sons, INC. 232p.
14. Sacks, D.B. 1999. Carbohydrates. In: Burtis, C.A. Ashwood, E.R. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Third ed.* Saunders, Philadelphia, pp. 750-808.

15. Sheridan MA. 1986. Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. *General and comparative endocrinology*. (2):22038.
16. Stoskopf, MK. 1993. *Fosh Medicine*. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 882pp.
17. Straus, DL. Griffin, BR. 2002. Efficacy of potassium permanganate in treating Ichthyophthiriasis in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 14:145-148.
18. Torrecillas, S. Makol, M. Caballero, M. J. Montero, D. Gines, R. Sweetman, J. and Izquierdo, M.S. 2010. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Aquaculture Nutrition*. (In press).
19. Willoughby, I.G. 1994. *Fungi and Fish Diseases*. Pisces Press. Stirling, Scotland. 57 pp.