

اثرات ماده ضد عفونی کننده 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 فشمی^۴،
محمد علی یزدانی ساداتی^۵، نادره روشن ضمیر^۶

*^۱ و ^۲ - 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: ۴۱۶۳۵ - ۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: ۲۲ خرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۲۶ بهمن ۱۳۹۰

چکیده

یکی از راه‌های موثر در بهسازی محیط پرورش و ارتقای کیفیت تولید، استفاده از مواد ضد عفونی کننده بدون اثرات سو بر محیط زیست می‌باشد. این بررسی با هدف ارزیابی اثرات داروی ضد عفونی کننده هالامید بر روی فلور باکتریایی پوست و آبشش بچه تاسماهی ایرانی انجام شد. تعداد ۴۵۰ عدد تاسماهی ایرانی با وزن متوسط $7/3 \pm 1/6$ گرم و طول کل متوسط $13/7 \pm 1/1$ سانتی متر در ۹ حوضچه فایبرگلاس با ابعاد $1 \times 1 \times 0/5$ متر، به طور یکسان و تصادفی توزیع گردید. تعداد بچه تاسماهی ایرانی در هر حوضچه ۵۰ عدد بود. تیمارها با سه تکرار شامل گروه شاهد (بدون ماده ضد عفونی)، تیمار هالامید با دوز ۲۰ میلی گرم در لیتر و تیمار هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر بودند. ضد عفونی 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، آمونیم، نیتريت، CO₂، سختی کل، قلیائیت و EC قبل و بعد از استفاده از داروی ضد عفونی کننده اندازه گیری شدند. جهت ارزیابی تعداد کل فلور باکتریایی بر حسب (Colony Forming Unit) CFU 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 ضد عفونی کننده هالامید با دوزهای تعیین شده تأثیر معنی دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی پوست و آبشش در مقایسه با تیمار شاهد داشته است ($P < 0/05$). در کاهش فلور باکتریایی آبشش‌ها، هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر ($3/9 \pm 0/8 \log \text{CFU/g}$) موثرتر از دوز ۲۰ میلی گرم در لیتر بوده است هر چند اختلاف معنی داری بین دوزهای انتخابی دیده نشد. حداکثر فلور باکتریایی در آبشش گروه شاهد به مقدار $5/2 \pm 0/3 \log \text{CFU/g}$ مشاهده شد. کاهش فلور باکتریایی پوست تاسماهی ایرانی با هالامید دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با دوز کمتر از آن چشمگیرتر بوده است ($3/6 \pm 0/5 \log \text{CFU/cm}^2$)، اگرچه هیچگونه اختلاف معنی دار آماری در بین دوزهای مورد بررسی دیده نشد. حداکثر فلور باکتریایی در پوست گروه شاهد به مقدار $5/5 \pm 0/5 \log \text{CFU/cm}^2$ مشاهده شد.

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

مقدمه

از منابع مهم تولید غذا، اشتغال زایی و کسب درآمد در اکثر جوامع و کشورها صید و آبی پروری می‌باشد. بدیهی است که برای توسعه آبی پروری 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 بر تأمین 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 هرگونه آلودگی میکروبی می‌باشد. بنابراین ضروری است که در تحقیقات شیلاتی توجه ویژه‌ای به موضوعات بهداشتی در تولید محصولات سالم و با کیفیت مبذول گردد. از سوی دیگر شناسایی و استفاده از ماده ضد عفونی کننده مناسب بدون اثرات جانبی بر محیط زیست برای پیشگیری و کاهش 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 کار گرفته شد. هالامید یک ماده ضد عفونی کننده فعال علیه باکتری‌های (گرم مثبت و منفی)، ویروس‌ها (کپسول دار و بدون کپسول)، قارچ‌ها و انگل‌ها می‌باشد

و در جنبه‌های گوناگون آبی پروری 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 در کنترل 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*، *Flexibacter maritimus*، *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 آبی پروری وجود دارد. در حالی که از سوی شرکت‌های تجاری فواید بسیاری در خصوص هالامید، بدون ذکر منبع معتبر علمی ارائه 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 ۱۳۸۸ به انجام رسید. ۴۵۰ عدد تاسماهی ایرانی با وزن متوسط

به صورت یک روز در میان به آزمایشگاه انتقال و در آن جا اندازه گیری می شدند.

جهت ارزیابی فلور باکتریایی برحسب (Colony Forming Unit (CFU از هر تیمار یک بچه تاسماهی ایرانی به طور تصادفی انتخاب و به صورت زنده همراه با آب حوضچه های پرورشی به آزمایشگاه بهداشت و بیماری ها انتقال یافت و مورد زیست سنجی قرار گرفت. مطالعات باکتری شناسی در این بررسی بر اساس روش های ارایه شده توسط (Holt, et al., 1994) صورت پذیرفت. بی حرکت 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 سانتی متر 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 لوله های آزمایش استریل محتوی ۹ سی سی سرم فیزیولوژی استریل ریخته شدند. پس از تهیه رقت های لازم برای پوست (تا 10^{-4})، ۰/۱ میلی لیتر 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 سانتی گراد برای مدت ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری شدند. برای تهیه نمونه آبشش پس از شستشوی آن با سرم فیزیولوژی استریل، توسط پنس و قیچی استریل آبشش ها از بچه تاسماهیان ایرانی جدا شدند، با ترازوی دیجیتال با دقت صدم اعشار وزن گردیدند و پس از رقت سازی (تا 10^{-3}) در لوله های آزمایش محتوی ۹ سی سی سرم فیزیولوژی، ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت بر روی محیط کشت باکتریایی TSA ریخته شد و مانند

۱۳/۷±۱/۱ گرم و طول کل متوسط ۱×۱×۰/۵ سانتی متر در ۹ حوضچه فایبرگلاس با ابعاد ۱ متر، به طور یکسان توزیع گردید. تعداد بچه تاسماهی ایرانی در هر حوضچه ۵۰ عدد بود. تیمارهای مورد بررسی شامل گروه شاهد (بدون ماده ضد عفونی)، تیمار ضد عفونی با ماده ضد عفونی کننده هالامید (ساخت فرانسه، نماینده انحصاری خرید در ایران: شرکت بصیر شیمی) با دوز ۲۰ میلی گرم در لیتر و تیمار هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر بود (هر تیمار با سه تکرار). عملیات ضد عفونی به صورت حمام دهی برای مدت ۳۰ دقیقه در طی ۵ روز متوالی انجام شد و کشت باکتری ها در سه مرحله به صورت یک روز در میان صورت گرفت. جهت انجام عملیات ضد عفونی شیر ورودی کلیه وان ها بسته شدند تا غلظت داروی مصرفی در وان ها ثابت باقی بماند، سپس شلنگ هوادهی کلیه وان ها جهت تزریق اکسیژن یکنواخت و دایم به درون وان ها مورد بررسی قرار گرفت. پس از ثابت نگه داشتن حجم آب موجود در هر وان (۹۵ لیتر)، داروی ضد عفونی کننده هالامید که به صورت جامد می باشد 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 از گذشت ۳۰ دقیقه در معرض قرارگیری با ماده ضد عفونی کننده به منظور بررسی اثر احتمالی هالامید بر پارامترهای کیفی آب توسط دستگاه های اکسیژن متر و pH متر (WTW-Multi 340I) اندازه گیری شدند. جهت اندازه گیری دیگر فاکتورهای آب از قبیل آمونیوم، نیتريت، CO₂، سختی کل، قلیائیت و EC (ASTM, 1996)، نمونه ها

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 ($7/17 \pm 0/1$ mg/l) با تیمار شاهد و دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید می‌باشد ($P < 0/05$). 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 ($P > 0/05$).

استفاده از ماده ضد عفونی کننده هالامید با دوزهای پیشنهادی تأثیر معنی‌دار آماری بر کاهش فلور باکتریایی آبشش بچه تاسماهیان ایرانی داشته است ($P < 0/05$). در مجموع سه مرحله کشت باکتری، ماده ضد عفونی کننده هالامید با دوز ۶۰ میلی‌گرم در لیتر ($3/9 \pm 0/8$ log CFU/g) در کاهش فلور باکتریایی آبشش‌ها موثرتر بوده است، هر چند این تأثیر از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری نیست ($P > 0/05$). حداکثر فلور باکتریایی در گروه شاهد به مقدار ($5/2 \pm 0/3$ log CFU/g) مشاهده شد. در مجموع سه مرحله کشت باکتری، فلور باکتریایی موجود در آبشش بچه تاسماهیان ایرانی پس از ضد عفونی با دوز ۲۰ میلی‌گرم در لیتر هالامید به ($4 \pm 0/5$ log CFU/g) رسید.

نمونه قبل در انکوباتور 25°C برای مدت ۲۴-۴۸ 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 میلی‌لیتر یا در هر گرم صورت گرفت (Pollock, et al., 2002).

$$10 \times \text{فاکتور رقت} = a \times \text{CFU/cm}^2 \text{ یا CFU/g}$$

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

نتایج

نوسانات پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب حوضچه‌های پرورشی شامل درجه حرارت، اکسیژن و pH در طی ۵ مرحله ضد عفونی در جدول ۱ آورده شده است. در اولین مرحله ضد عفونی بر اساس آزمون واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA)، میانگین درجه حرارت آب و pH در تیمار شاهد و کلیه تیمارهای مورد آزمایش بعد از ضد عفونی اختلاف معنی‌دار آماری نشان ندادند ($P > 0/05$). حداقل و حداکثر درجه حرارت آب در حوضچه‌های پرورش

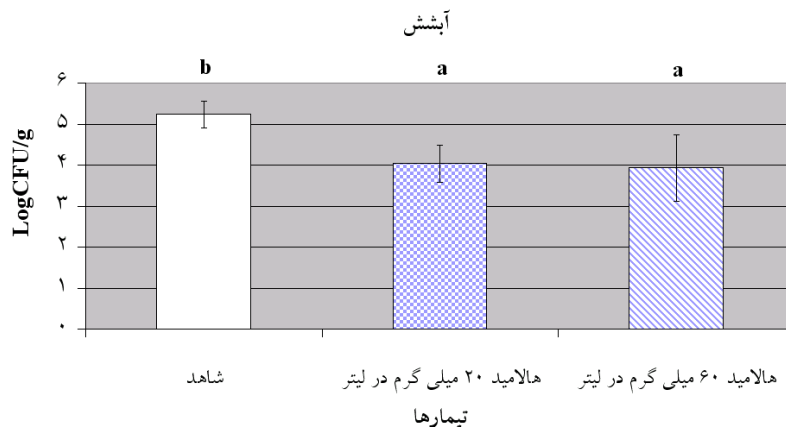
جدول ۱: فاکتورهای کیفی آب در طی مراحل آزمایش

فاکتورهای کیفی آب در اولین مرحله ضد عفونی						
تیمارها	pH	اکسیژن (میلی گرم در لیتر)	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 نیتريت، آمونیوم، سختی، قلیائیت، EC و CO₂ در بین تیمارهای مختلف مطابق جدول ۲ در نوسان بودند:

جدول ۲: مقادیر نیتريت، آمونیوم، سختی، قلیائیت، EC و CO₂ در طی مراحل ضد عفونی

فاکتورهای مورد بررسی						
تیمارها	آمونیوم (mg/l)	نیتريت (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 ۲۰ mg/l	۰/۰۹۳-۰/۱۸۴	۰/۰۱۲-۰/۰۶۰	۳۶۵-۳۹۰	۱-۴/۴	۱۵۸/۶-۱۷۰/۸	۱۳۰۲-۱۴۶۴
هالامید ۶۰ mg/l	۰/۰۹۲-۰/۱۱۶	۰/۰۹۲-۰/۰۹۴	۳۴۵-۳۵۰	۲-۵	۱۳۷/۳-۱۷۳/۲	۱۳۲۷-۱۴۸۱

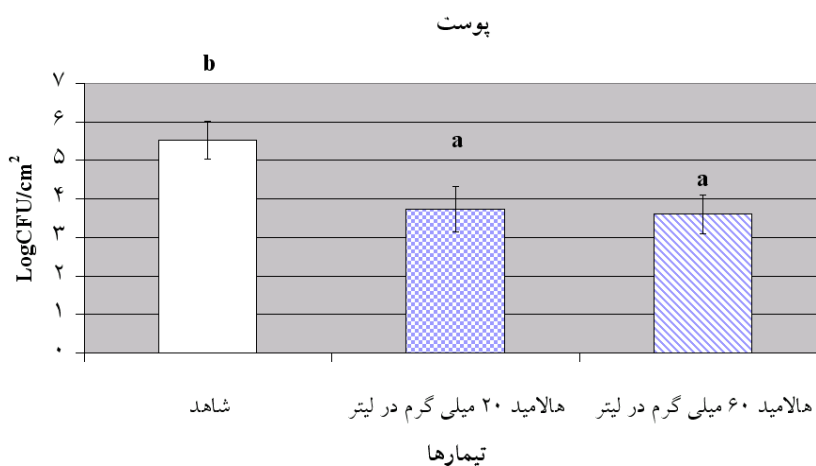


شکل ۱: مقایسه تعداد باکتری در آبشش بچه تاسماهیان ایرانی در سه مرحله کشت

تأثیر از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری نیست ($P > 0.05$).

حداکثر فلور باکتریایی در گروه شاهد به مقدار $(5/5 \pm 0/5 \log CFU/cm^2)$ مشاهده شد. در مجموع سه مرحله کشت باکتری، فلور باکتریایی موجود در پوست بچه تاسماهیان ایرانی پس از ضدعفونی با دوز ۲۰ میلی گرم در لیتر هالامید به $(3/7 \pm 0/6 \log CFU/cm^2)$ رسید.

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 ($P < 0.05$). در مجموع سه مرحله کشت باکتری، ماده ضدعفونی کننده هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر در کاهش فلور باکتریایی $(3/6 \pm 0/5 \log CFU/cm^2)$ پوست تاسماهی ایرانی موثرتر بوده است، هر چند این



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

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 (MacFarlane, et al., 1986). میکروب‌های 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 طور کلی تنوع و تعداد ایزوله‌های باکتریایی به زیستگاه‌های 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 قزل‌آلا 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 5×10^4 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 $5/2 \pm 0/3$ CFU/g Log Trust (۱۹۷۵) با آزمایشی که بر روی آبشش سالمونیده‌های پرورشی و وحشی انجام داده بود دریافت که مقدار متوسط تعداد باکتری‌های جدا شده از آبشش از 6×10^2 تا $2/2 \times 10^6$ میکروارگانیزم در هر گرم وزن تر آبشش است (Trust, 1975). Austin و Mudarris (۱۹۸۸) دریافتند که بالاترین تعداد باکتری‌های جدا شده از آبشش

توربوت (*Scophthalmus maximus*) 7×10^5 میکروارگانیزم در هر گرم وزن تر آبشش بود (Mudarris and Austin, 1988). بالاتر بودن مقادیر باکتریایی در آبشش بچه تاسماهیان ایرانی در مقایسه با ماهیان ذکر شده در منابع فوق که هیچ ماده ضد عفونی 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 ضد عفونی با دوز بالاتر ماده هالامید موثرتر از دوز پایین تر 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 سانتی متر مربع از پوست و یک میلی لیتر از آب را 10^2-10^3 تخمین زد (Cahill, 1990). Austin (۱۹۸۲ و ۱۹۸۳) 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 و ۱۹۸۳) 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, 1973, 1983; Horsley, 1973). حداکثر میانگین فلور باکتریایی پوست در این مطالعه پس از سه مرحله کشت در تیمار شاهد با مقدار $5/5 \pm 0/5$ CFU/cm²Log محاسبه شد. موذن زاده (۱۳۸۶) کمترین میانگین بار باکتریایی پوست بچه فیلماهیان پرورشی موجود در حوضچه‌های ونیرو را در تیمار ضد عفونی با هیدروکس با دوز 40 g/m^3 ($4/68 \pm 0/8$ CFU/cm²Log) و حداکثر آن را در تیمار شاهد (بدون ماده ضد عفونی) ($5/5 \pm 0/5$ CFU/cm²Log) گزارش کرد (موذن زاده، ۱۳۸۷). کمترین میانگین بار باکتریایی پوست بچه تاسماهیان پرورشی در این تحقیق پس از ضد عفونی با ماده هالامید با دوز ۶۰ میلی گرم در لیتر به مقدار ($3/6 \pm 0/5$ CFU/cm²Log) 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 موذن زاده (۱۳۸۶) با یافته‌های این بررسی در خصوص موثرتر بودن دوز بالاتر ماده ضد عفونی 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 میلی گرم 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

- دکتر دادمان که امکان انجام چنین تحقیقی را در آن مرکز فراهم نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم. از کلیه پرسنل محترم بخش های تکثیر و پرورش، بهداشت و بیماری ها و اکولوژی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در کلیه مراحل اجرایی این کار ما را همراهی نمودند تشکر و قدردانی می نمایم.
- 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 هیدروکس در ضد عفونی بچه فیلماهیان پرورشی *Huso huso* به منظور کاهش بار میکروبی و بررسی تأثیرات آن بر کیفیت 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, *Scophthalmus maximus* 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.