

## بررسی باکتریایی ضایعات پوستی تاس ماهی روسی پرورشی (*Acipenser gueldenstaedtii*) در استان گیلان

سید جواد ابوالقاسمی<sup>۱\*</sup>، مهدی سلطانی<sup>۲</sup>، محمد پور کاظمی<sup>۳</sup>، عیسی شریف پور<sup>۴</sup>، علیرضا شناور ماسوله<sup>۴</sup>

۱- گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران، صندوق پستی: ۴۳۷۱۱-۶۵۱۴۳

۲- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۴۵۳

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

۴- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ دریافت: ۲۱ دی ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۵ اردیبهشت ۱۳۹۵

### چکیده

در بررسی حاضر تعداد ۷۷۵ عدد تاس ماهی روسی پرورشی از نظر ضایعات سطحی مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۲۷ عدد از آن‌ها واجد ضایعه بوده و از آن‌ها نمونه برداری باکتریایی به عمل آمد. بیش‌ترین میزان ضایعات در بافت صفحات استخوانی (پلاک) با درصد فراوانی ۸۱/۴۸٪ و پس از آن به ترتیب بافت پوست (۳۷/۰۴٪) و باله (۷/۴٪) مشاهده شد. پوست و صفحات استخوانی ناحیه شکمی بیش‌ترین ناحیه درگیر بودند. در بررسی باکتریایی، جنس‌های *Proteus*، *Enterobacter*، *Pseudomonas*، *Acinetobacter* و *Aeromonas* یافت گردیدند که در مجموع جنس *Acinetobacter* با ۴۲/۱۱٪ بیش‌ترین و جنس‌های *Proteus* و *Enterobacter* هر یک با ۵/۲۶٪ کم‌ترین فراوانی را در ضایعات دارا بودند. بروز ضایعات شایع در سطح شکمی بدن می‌تواند بدلیل نوع عادت تاس ماهیان که از کف تغذیه می‌کنند باشد. با توجه به ارتباطی که بین گونه‌های باکتریایی جدا شده در این بررسی و گونه‌های شناخته شده در آب وجود دارد. مدیریت بهداشتی و جلوگیری از افزایش بار آلی از یک طرف و ایجاد تراکم مناسب و کاهش دستکاری می‌تواند باعث کنترل عوامل باکتریایی گردد.

**کلمات کلیدی:** تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*)، ضایعات خارجی، باکتری، گیلان

## مقدمه

از جمله با ارزش‌ترین ماهیان دریای خزر خانواده تاس‌ماهیان (*Acipenseridae*) بوده که به علت تولید خاویار گران‌بها از مهم‌ترین ماهیان تجاری جهان محسوب می‌گردند، این ماهیان رود کوچ بوده و جهت تولید مثل نیاز به مهاجرت به آب شیرین دارند. همچنین در شرایط پرورشی نیز قادر به زندگی در آب شیرین می‌باشند. از این خانواده شش گونه مهم در حوضه دریای خزر حضور داشته که پنج گونه آن در ناحیه جنوب این دریا یافت می‌شوند (کیوان، ۱۳۸۲).

یکی از گونه‌های مهم این خانواده، تاس‌ماهی روسی با نام علمی *Acipenser gueldenstaedtii* است. این ماهی با نام مترادف چالباش، دارای بدنی کشیده و دراز می‌باشد، رنگ بدن تیره و زردفام است. دهان آن عرضی بوده و لب پایینی دارای بریدگی یا شیار می‌باشد و پوزه کوتاه و پهن و سیلک‌ها در انتهای پوزه قرار دارد (کیوان، ۱۳۸۱؛ شریعتی، ۱۳۸۳).

محدوده انتشار آن شامل دریا‌های سیاه، آزوف، خزر و رودخانه‌هایی است که به آن‌ها می‌ریزند، این ماهی تقریباً در تمام مدت سال به رودخانه ولگا وارد می‌شود. تاس‌ماهی روسی بر اساس عادات غذایی یک ماهی کفزی است که از نرم‌تان و ماهیان تغذیه می‌کند، ماهیان جوان دریای خزر از سخت پوستان و کرم‌ها تغذیه می‌کنند (عباسی و همکاران، ۱۳۷۸ و Holcik, 1989). چالباش از جمله ماهیانی است که قابلیت تکثیر و پرورش داشته و طول دوره پرورش آن نیز همانند دیگر ماهیان خاویاری طولانی است (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲؛ کیوان، ۱۳۸۱).

در طول این دوره نیز عوامل بیماری‌زا می‌توانند ماهیان را مورد هجوم قرار دهند که استرس ناشی از آن

می‌تواند موجب کاهش وزن، کاهش بهره اقتصادی ناشی از آن و حتی تلفات گردد. اندام‌های خارجی ماهیان به دلیل اینکه ارتباط مستقیم با محیط آب دارند بیش‌تر از اندام‌های داخلی در معرض انواع آسیب‌ها و عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرند. پوست اولین خط دفاعی ماهیان علیه عوامل خارجی بوده و بروز ضایعاتی مانند خراشیدگی، زخم، ایجاد زمینه مناسبی برای فعالیت انواع میکروارگانیسم‌ها مانند قارچ‌ها و بخصوص باکتری‌ها و باز شدن راه ورود آن‌ها به بدن می‌گردد (Sharifpour, 1997).

اگرچه بخش‌هایی از بدن تاس‌ماهیان دارای ردیف‌هایی از پلاک‌های استخوانی هستند ولی بقیه بدن فاقد آن بوده و در نتیجه عاری از این نوع سد دفاعی می‌باشند (کیوان، ۱۳۸۲). از جمله مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های حاضر در ضایعات سطح خارجی بدن، باکتری‌ها هستند که می‌توانند به‌طور اولیه یا ثانویه در ایجاد یا توسعه این گونه زخم‌ها نقش ایفا کنند (سلطانی، ۱۳۷۵ و Noga, 2010).

مطالعات متعددی در زمینه بروز ضایعات سطح خارجی ناشی از عوامل باکتریایی در سایر گونه‌های ماهیان موجود است (اسماعیلی، ۱۳۷۷؛ سلطانی، ۱۳۷۵؛ سلطانی و ابراهیم‌زاده موسوی، ۱۳۷۹؛ گلچین، ۱۳۸۵؛ Altinok et al., 2006; Austin, 2007; Nieto, 2006) اما در مورد ماهیان خاویاری بدلیل محدود بودن زیستگاه این ماهیان در حوضه‌های آبی جهان، تحقیقات بهداشتی گزارش شده در آن‌ها نیز به همین نسبت اندک می‌باشد.

از جمله تحقیقات بعمل آمده در این زمینه می‌توان به بررسی Francis (۲۰۰۰) در مورد عوامل باکتریایی جدا شده از عفونت‌های خارجی تاس‌ماهیان بیمار اشاره

باکتریایی (Entericred mouth disease) در ماهیان و به ویژه قزل آلائی رنگین کمان است گزارش شده است (Hedrick, 2001).

هدف از تحقیق حاضر تلاشی است جهت آگاهی از فراوانی ضایعات جلدی و نیز نوع عوامل باکتریایی در گیر در این ضایعات که در مسیر روند پرورش گونه تاس ماهی روسی یافت می گردد.

### مواد و روش ها

نمونه برداری جهت بررسی عوامل باکتریایی احتمالی حاضر در ضایعات خارجی گونه تاس ماهی روسی در نیمه گرم سال در موسسه تحقیقات بین المللی تاس ماهیان دریای خزر در استان گیلان انجام پذیرفت. در این تحقیق تعداد ۷۷۵ عدد تاس ماهی روسی که در شرایط پرورشی بسر می بردند از لحاظ وجود زخم بر روی سطح خارجی بدن مورد بررسی قرار گرفتند که از این بین تعداد ۲۷ مورد از آن ها دارای ضایعات مشخصی بر روی سطح بدن بودند که مورد نمونه برداری قرار گرفتند.

ماهیان تحت بررسی در دامنه وزنی بین ۱۷۳۰-۳۲ گرم و دامنه طولی بین ۶۴/۵-۲۲/۵ سانتی متر قرار داشتند.

تاس ماهیان مورد بررسی بسته به مراحل مختلف پرورشی در مخازن نیم تنی و دوتنی از جنس فایبر گلاس در تراکم های مختلف نگهداری می شدند.

غذای تاس ماهیان پرورشی در مجتمع به طور دستی و در فواصل زمانی مشخص بصورت پلت در اندازه های مختلف آماده شده و ارائه می گردد. مراحل مختلف پرورش تاس ماهی روسی در آب شیرین انجام می شود. آب مورد نیاز مراکز عمدتاً از کانال انشعابی از سد

نمود که در آن جنس های سودوموناس، استرپتوکوکوس، گونه های آئروموناس هیدروفیلا، آئروموناس سوبریا، ادواردزیلا تاردا، یرسینیا راکری و فلاوباکتریوم کلومناز گزارش شده است. گزارش هایی نیز مبنی بر وجود گونه هایی از جنس آئروموناس مانند آئروموناس هیدروفیلا در ضایعات پوستی تاس ماهیان بیمار موجود است (Angelica, 2008).

در بررسی که بر روی میکروفلور باکتریایی سطح بدن گونه های مختلف تاس ماهیان پرورشی در استان گیلان انجام شد گونه هایی از جنس آئروموناس، پروتئوس، ادواردزیلا، سالمونلا، سیتروباکتر، مورگانلا، پانزیوموناس، سراتیا، یرسینیا، کلبسیلا، هافنیا، پروویدنسیا، اشیریشیا و ویبریو گزارش شدند (سفلائی، ۱۳۷۸).

در بررسی دیگری که بر روی میکروفلور باکتریایی تاس ماهیان پرورشی در مرحله انگشت قد در همین منطقه انجام پذیرفت باکتری هایی از جنس اسیتوباکتر، مورکسلا، آئروموناس، ویبریو، ادواردزیلا، استافیلوکوکوس، پروتئوس، یرسینیا، سودوموناس و پانزیوموناس از سطح پوست، آبشش و باله ها جدا گردیدند (Shenavar et al., 2006). در گزارشی که راجع به بررسی فلور باکتریایی تاس ماهیان رودخانه ولگا در روسیه موجود است، باکتری های جنس آئروموناس، انتروباکتر، سودوموناس از آن ها جدا شده است (Lartseva, 1999). در همین راستا Bauer و همکاران (۲۰۰۲) گزارشی از وجود گونه فلاوباکتریوم جانسونی از نوزاد تاس ماهیان در روسیه ارائه دادند. در مطالعه دیگری که بر روی فلور باکتریایی تاس ماهی *Acipenser baerii* در جنوب فرانسه انجام شد، باکتری گونه یرسینیا راکری که عامل بیماری دهان قرمز

سنگر که در امتداد رودخانه سپیدرود قرار دارد تأمین گشته و به طور کمکی نیز از آب چاه استفاده می گردد. آب مورد نیاز کارگاه توسط لوله هایی که در سرتاسر جایگاه کشیده شده به حوضچه های پرورشی آورده می شود.

در طول دوره نمونه برداری، از پارامترهای مختلف آب موجود در حوضچه های محل نگهداری ماهیان در فواصل مشخص اندازه گیری به عمل آمد که در نتیجه در طول دوره میانگین دما  $23/1 \pm 3/45$  درجه سانتی گراد، pH  $7/42 \pm 0/83$  و اکسیژن  $7/2 \pm 0/68$  میلی گرم در لیتر ثبت شدند.

جهت نمونه برداری از تاس ماهیان روسی در طول هفته چند نوبت به محل پرورش مراجعه و سطح آب تا اندازه ای که ماهیان بخوبی دیده شده و در دسترس باشند پایین آورده شده و تک تک ماهیان از نظر وجود زخم، علائم خونریزی و ضایعه بر روی نواحی مختلف سطح بدن مورد بررسی قرار می گرفتند. ماهیانی که دارای ضایعات مشخص بودند جهت نمونه برداری باکتریایی توسط ظرف های مخصوص حمل ماهی به همراه آب محل پرورش به آزمایشگاه موسسه منتقل می شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه تا حد امکان بدون استفاده از مواد بیهوش کننده ابتدا مبادرت به زیست سنجی ماهیان و ثبت مشخصات پرورشی و مشاهده ای در فرم های مخصوصی که به همین منظور تنظیم شده بود می شد، سپس جهت نمونه گیری ابتدا محل ضایعه برای رفع فلور میکروبی سطح بدن با آب مقطر و سپس الکل ۷۰ درجه ضد عفونی و جهت برداشت نمونه با کمک آنس مستقیم وارد کردن آن به داخل محل ضایعه اقدام به نمونه گیری گردیده و سپس بلافاصله نمونه مورد نظر به محیط های باکتریایی کشت پایه مانند

(Tryptic Soy Agar) TSA و (Tryptic Soy Broth) TSB منتقل می شدند. محیط های مذکور جهت رشد عوامل باکتریایی احتمالی در گرم خانه با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت مورد نگهداری قرار می گرفتند. لازم به توضیح است که گاهی به دلیل رعایت موارد پرورشی و بهداشتی و عدم امکان انتقال نمونه های ماهی به آزمایشگاه نمونه برداری با رعایت اصول بهداشتی در محل پرورش انجام شده و نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل می شدند. پس از رشد نمونه ها در مرحله بعدی اقدام به خالص سازی باکتری ها جهت بدست آوردن پرگنه های تک در محیط ( Brain BHI(Heart Infusion Agar شده و پس از آن جهت شناسایی اولیه و نیز اطمینان از خالص بودن پرگنه ها اقدام به رنگ آمیزی گرم و سپس انتقال به محیط های یوشیمیایی مورد نیاز و انجام تست های رایج (جدول ۲ و ۳) توصیه شده توسط سلطانی، ۱۳۷۵؛ Holt and Baron، 1994؛ Austin and Austin، 2007؛ Krieg، 1990 and Finegold، 1990 و Collee، 1989 جهت شناسایی جدایه ها می شد. پس از جمع آوری داده ها جهت پردازش و آنالیز آماری از نرم افزار (Version SPSS(19 و آزمون مربع-کا (Chi-Square) و جهت رسم نمودار از نرم افزار Excel 2007 استفاده گردید.

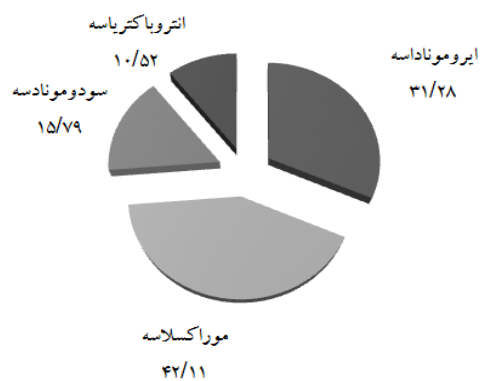
### نتایج

از بررسی که بر روی ۷۷۵ نمونه تاس ماهی روسی پرورشی به عمل آمد، تعداد ۲۷ مورد دارای ضایعات مشخصی در روی سطح خارجی بدن شامل نواحی پوست، پلاک و باله بودند. ضایعات شامل نواحی پتشی و همورژی های خفیف تا شدید و زخم های عمیق خونریزی دهنده قابل مشاهده بود که نمونه برداری از

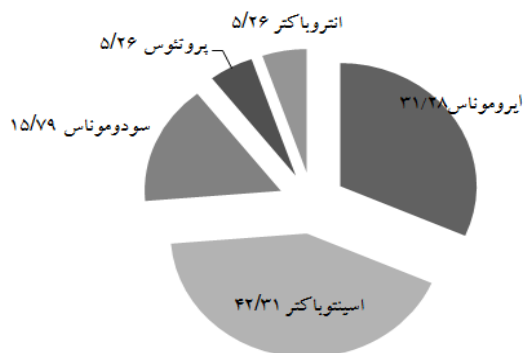
مختلف از ۵ جنس و ۴ خانواده باکتریایی مورد شناسایی قرار گرفتند (جدول‌های ۱ و ۲ و شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۱: وجود زخم در ناحیه جانبی و شکمی همراه با خونریزی در تاس ماهی روسی پرورشی



شکل ۲: مقایسه درصد فراوانی خانواده باکتریایی جداسازی شده از مجموع ضایعات پوستی



شکل ۳: مقایسه درصد فراوانی جنس‌های باکتریایی جداسازی شده از مجموع ضایعات پوستی

آن‌ها جهت تشخیص عوامل احتمالی باکتریایی صورت گرفت.

### نتایج بررسی مشاهده‌ای

از مجموع تاس ماهیان روسی که دارای علائم مشخص درگیری در سطح خارجی بدن بودند، تعداد ۲۲ نمونه دارای ضایعات در صفحات استخوانی بوده که با ۸۱/۴۸٪ بیش‌ترین فراوانی را در بین اندام‌های درگیر داشته و در رتبه‌های بعدی فراوانی، به ترتیب اندام پوست با ۳۷/۰۴٪ و اندام باله با ۷/۴٪ قرار داشتند. همچنین اختلاف بین فراوانی ضایعات مشاهده شده در اندام‌های مختلف یاد شده معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

در بررسی مقایسه‌ای از هر اندام، ۹۰٪ ضایعات موجود در اندام پوست در سطح شکمی (بین ردیف پلاک‌های شکمی) بوده و پوست ناحیه جانبی بدن (بین ردیف پلاک‌های شکمی و جانبی) ۱۰٪ فراوانی ضایعات این اندام را نشان می‌داد ( $P < 0.05$ ). در پوست ناحیه پشتی بدن (بین پلاک‌های جانبی و پشتی) نیز ضایعه‌ای موجود نبود.

از نظر ضایعات موجود در پلاک‌های سطح بدن، پلاک‌های ردیف شکمی با ۹۰/۹۱٪ به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین ناحیه فراوانی را تشکیل داده و پلاک‌های سطح جانبی ۹/۰۹٪ درگیری را داشتند ( $P < 0.05$ ). پلاک‌های سطح پشتی نیز عاری از ضایعه بودند. در اندام باله نیز تنها در باله ناحیه شکمی ضایعه مشاهده گردید.

### نتایج آزمایشات بیوشیمیایی

از آزمایشات بعمل آمده از نمونه‌های جدا شده از ضایعات، در مجموع ۳۸ جدایه مشتمل بر ۱۱ گونه

جدول ۱: نتایج آزمایش های بیوشیمیایی جنس های باکتریایی *سودوموناس*، *انتروباکتر* و *پروتئوس* جدا شده از ضایعات پوستی (در تاس ماهی روسی پرورشی)

| جدایه |     |                |                |                |                |                |                |                |                | آزمایش                         |
|-------|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------------|
| Pr    | E   | P <sub>3</sub> | P <sub>2</sub> | P <sub>1</sub> | A <sub>5</sub> | A <sub>4</sub> | A <sub>3</sub> | A <sub>2</sub> | A <sub>1</sub> |                                |
| -     | -   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | واکنش گرم                      |
| -     | -   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | آزمایش اکسیداز                 |
| +     | +   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | آزمایش کاتالاز                 |
| +     | -   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | تولید H <sub>2</sub> S         |
| -     | -   | -              | -              | -              | +              | +              | +              | +              | +              | تولید آندول                    |
| +     | +   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | حرکت در محیط کشت               |
| +     | -   | -              | -              | -              | +              | +              | -              | -              | -              | واکنش متیل رد                  |
| ±     | +   | -              | -              | -              | -              | -              | +              | ±              | -              | واکنش وژپروسکو                 |
| F     | F   | O              | O              | O              | F              | F              | F              | F              | F              | واکنش O/F                      |
| +     | -   | +              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | تولید اوره آز                  |
| -     | -   | -              | -              | -              | -              | -              | +              | +              | +              | لیزین دکربوکسیلاز              |
| -     | ±   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | آرژنین دهیدرولاز               |
| +     | +   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | اورنیتین دکربوکسیلاز           |
| +     | -   | -              | +              | -              | -              | +              | +              | -              | +              | هیدرولیز ژلاتین                |
| -     | +   | -              | -              | -              | +              | +              | -              | -              | -              | هیدرولیز اسکولین               |
| A/A   | A/A | K/K            | K/K            | K/K            | A/A            | A/A            | A/A            | A/A            | A/A            | واکنش در محیط TSI              |
| ±     | +   | -              | -              | -              | +              | +              | -              | -              | -              | آزمایش سیمون سیترات            |
| ND    | ND  | -              | -              | -              | ND             | ND             | ND             | ND             | ND             | هیدرولیز نشاسته                |
| +     | +   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | -              | مصرف گلوکز                     |
| -     | +   | -              | -              | -              | +              | +              | -              | -              | -              | آزمایش ONPG                    |
| +     | +   | -              | ±              | -              | +              | +              | +              | +              | +              | رشد در محیط مک کانکی           |
| ND    | ND  | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | رشد در محیط آگار TCBS          |
| +     | +   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | رشد در محیط پپتون براث حاوی ۰٪ |
| +     | +   | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | +              | کلرید سدیم: ۳٪                 |
| -     | -   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | ۶٪                             |
| -     | -   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | ۸٪                             |

ND: تعیین نشد      K: قلیایی      A: اسید      بدون تغییر: NC  
 Pr: *Proteus*      E: *Enterobacter*      A: *Aeromonas*      P: *Pseudomonas*

جدول ۲: نتایج آزمایش‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی نمونه‌های باکتریایی/سینتروباکتر جدا شده از ضایعات پوستی (درتاس ماهی روسی)

| جدایه                    |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | آزمایش                   |
|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------|
| Ac <sub>8</sub>          | Ac <sub>7</sub> | Ac <sub>6</sub> | Ac <sub>5</sub> | Ac <sub>4</sub> | Ac <sub>3</sub> | Ac <sub>2</sub> | Ac <sub>1</sub> |                          |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | واکنش گرم                |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | آزمایش اکسیداز           |
| +                        | +               | +               | +               | +               | +               | +               | +               | آزمایش کاتالاز           |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | تولید H <sub>2</sub> S   |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | تولید آندول              |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | حرکت در محیط کشت         |
| -                        | ±               | -               | -               | -               | ±               | -               | -               | واکنش متیل رد            |
| -                        | -               | -               | -               | -               | ±               | -               | -               | واکنش ورپروسکو           |
| -                        | O               | -               | O               | O               | -               | O               | O               | واکنش O/F                |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | +               | -               | تولید اوره آز            |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | لیزین دکربوکسیلاز        |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | آرژنین دهیدرولاز         |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | اورنیتین دکربوکسیلاز     |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | هیدرولیز ژلاتین          |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | هیدرولیز اسکولین         |
| K/K                      | K/K             | NC/NC           | K/K             | K/NC            | K/NC            | K/K             | K/K             | واکنش در محیط TSI        |
| +                        | +               | +               | +               | +               | -               | -               | -               | آزمایش سیمون سیترات      |
| ND                       | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | هیدرولیز نشاسته          |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | مصرف گلوکز               |
| ND                       | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | آزمایش ONPG              |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | رشد در محیط مک کانکی     |
| ND                       | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | ND              | رشد در محیط آگار TCBS    |
| +                        | +               | +               | +               | +               | +               | +               | +               | رشد در محیط پتون براث ۰٪ |
| +                        | +               | +               | +               | +               | +               | +               | +               | حاوی کلرید سدیم: ۳٪      |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | ۶٪                       |
| -                        | -               | -               | -               | -               | -               | -               | -               | ۸٪                       |
| AC: <i>Acinetobacter</i> |                 |                 |                 | NC: بدون تغییر  |                 | A: اسید         |                 | K: قلیایی                |
|                          |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | ND: تعیین نشد            |

جنس *Aeromonas* با فراوانی ۴۲/۸۶٪ و کم‌ترین میزان فراوانی متعلق به جنس *Proteus* با ۷/۱۴٪ مشاهده

بر این اساس، به تفکیک اندام‌های تحت بررسی، در اندام پوست بیش‌ترین فراوانی باکتریایی از

توسط محققین که بر روی تاس‌ماهیان انجام گرفته وضعیت مشابه‌ای دیده شده است به‌طوری که در بررسی دیگری که توسط Hedrick و همکاران (۲۰۰۱) بر روی تاس‌ماهی سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*) انجام شد، قرمزی ناشی از هموراژی تنها در سطح شکمی و به‌دلیل درگیری باکتریایی قابل تشخیص بود.

در مطالعه‌ای که توسط Angelica و همکاران (۲۰۰۸) بر روی باکتری‌های بیماری‌زای فیل‌ماهی پرورشی در سیستم مدار بسته صورت گرفت اولین علائم ظاهری وجود هموراژی در قاعده باله‌ها و بخش شکمی بدن گزارش شده و پرخونی و پرولاپس مخرج از دیگر علائم گزارش شده بود. نتیجه بررسی بر روی تاس‌ماهی روسی که عمده حضور ضایعات را در سطح شکمی بیان می‌داشت نیز مشابه نتایج بالا بود. از مهم‌ترین دلایل این امر می‌توان به نحوه تغذیه تاس‌ماهیان اشاره نمود، حفره دهانی این ماهیان نیز همچون دیگر اعضای خانواده تاس‌ماهیان در قسمت پایین سر قرار داشته و در زیر پوزه واجد سیلک‌هایی جهت جستجوی غذا می‌باشند این وضعیت شرایط را برای بدست آوردن غذا از بستر مهیا می‌کند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸).

تاس‌ماهیان در شرایط پرورشی با سیستم‌های مختلفی پرورش می‌یابند از جمله پرورش در مخازن تانک، سیستم‌های مدار بسته و استخرهای خاکی (Doroshov, 2000). در ایران نیز پرورش تاس‌ماهی روسی و دیگر تاس‌ماهیان در حوضچه‌های فایبرگلاس و بتنی و همچنین استخرهای خاکی صورت می‌گیرد (کیوان، ۱۳۸۱).

گردید. در ضایعات موجود در صفحات استخوانی نیز جنس *Acintobacter* با ۳۸/۱٪ و جنس *Proteus* با ۴/۷۶٪ به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین فراوانی را داشتند. در اندام باله نیز تنها جنس *baumanni Acinetobacter* یافت گردید.

همچنین درصد فراوانی جنس‌های باکتریایی جدا شده از مجموع ضایعات پوستی (پوست، صفحات استخوانی و باله) در کل بیش‌ترین درصد متعلق به جنس *Acintobacter* با فراوانی ۴۲/۳۱٪ و کم‌ترین متعلق به جنس‌های *Proteus* و *Enterobacter* هر یک با ۵/۲۶٪ فراوانی بودند (شکل ۳).

در مقایسه بین اندام‌های درگیر و خانواده‌های باکتریایی در مجموع بیش‌ترین درصد فراوانی متعلق به خانواده *Moraxellaceae* با ۴۲/۱۱٪ و کم‌ترین فراوانی مربوط به *Enterobacteriaceae* با ۱۰/۵۲٪ مشاهده گردید (شکل ۲).

## بحث

نتایج مشاهده‌ای حاصل از بررسی سطح بدن تاس‌ماهی روسی نشان‌دهنده آن است که بخش‌های زیرین بدن ماهی تمایل بیش‌تری در ایجاد زخم و بروز ضایعه دارد به‌طوری که در درگیری بافت پلاک در قسمت‌های مختلف، بیش‌ترین میزان مربوط به پلاک‌های شکمی با ۸۳/۳٪ بود. در اندام پوست نیز اختلاف چشمگیری در این زمینه وجود داشت به‌طوری که بیش‌ترین میزان زخم در پوست ناحیه شکمی (۷۷/۸٪) مشاهده گردید.

در بررسی اندام باله دو نمونه از ماهیان دچار ضایعه بوده که هر دو مورد نیز مربوط به باله شکمی بود. در گزارش‌های موجود حاصل از بررسی‌های بعمل آمده

گونه مورد بررسی در این تحقیق نیز در حوضچه‌های فایبرگلاس پرورش می‌یافتند در این شرایط ماهیان در اندازه‌ها و تراکم مختلف نگهداری شده و تغذیه آن‌ها تماماً بصورت دستی و به شکل غذای پلت صورت می‌گیرد گرچه هنگام غذادهی مقداری از آن در ستون آب توسط ماهیان خورده می‌شوند ولی میزان زیادی از آن نیز در کف حوضچه ته نشین می‌گردند، این امر موجب آن می‌گردد که ماهیان در کف حوضچه در جستجوی غذا بوده و در نتیجه پوست ناحیه شکمی و بخصوص پلاک‌های آن ناحیه که بصورت برآمدگی‌هایی در زیر شکم قرار دارند به‌طور مداوم در تماس با کف حوضچه باشند که این امر خود شرایط را جهت حساس شدن آن ناحیه و آزرده‌گی بافتی فراهم می‌کند (Hedrick, 2001 and Angelica, 2008). همچنین در شرایط پرورشی که غالباً تراکم ماهیان بیش از میزان مناسب است، برخورد ماهیان هنگام شنا در مجاور یکدیگر افزایش یافته و دیگر قسمت‌های بدن مانند سطح جانبی نیز دچار آزرده‌گی می‌گردند، چنان‌که در این تحقیق میزان درگیری پوست و پلاک‌های سطح جانبی بدن به‌طور بارزی بیش از پوست و پلاک‌های سطح پشتی دیده شد (مراجعه به نتایج بررسی مشاهده‌ای).

در صورت حساس شدن پوست بدن، انواع میکروارگانیسم‌ها از جمله عوامل باکتریایی می‌توانند یا به‌طور اولیه ایجاد ضایعه نموده و یا پس از بروز آزرده‌گی بافتی به‌طور ثانویه موجب آلودگی گردند.

مطالعات دیگری نیز برای شناسایی عوامل باکتریایی در تاس‌ماهیان پرورشی انجام پذیرفته که در برخی از این گزارش‌های موجود باکتری‌های شناسایی شده بعنوان دلیل قطعی مرگ و میر در تاس‌ماهیان گزارش شده‌اند

(Klinger et al., 2000) در بررسی که بر روی تاس- ماهیان پرورشی بیمار در خلیج مکزیک انجام گرفت گونه‌های باکتریایی *آئروموناس هیدروفیلا*، *آئروموناس سوبریا*، گونه‌هایی از جنس *سودوموناس*، *ادواردزیلا تاردا*، *یرسینیا راکری*، گونه‌هایی از جنس *استرپتوکوکوس* و در یک نمونه از ماهی گونه *فلووباکتریوم کلومنا* از سطح خارجی بدن جدا شده که در این میان *آئروموناس هیدروفیلا*، *آئروموناس سوبریا* و گونه‌های جنس *سودوموناس* به عنوان باکتری‌هایی نام برده شدند که به‌طور معمول از ماهیان بیمار جدا می‌شدند این باکتری‌ها به‌طور عمده به عنوان عوامل فرصت‌طلب در نظر گرفته شده که فاکتورهای استرس‌زا به عنوان کلید شیوع آن‌ها می‌باشد (Francis et al., 2000).

ماهیان پرورشی در شرایط متراکم در یونان انجام شد باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *آئروموناس کلویا* و گونه‌هایی از میکسوباکتری از پوست و اندام- های داخلی تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) جدا شدند در همین بررسی از ضایعات پوستی عوامل قارچی *ساپروولگنیا* و تک‌یاخته *تریکودینا* نیز جزو عوامل آلوده کننده معرفی شدند (Athanassopoulou et al., 2004).

در تحقیق حاضر نیز با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی مقدماتی و تکمیلی گونه‌های مختلف جنس *آئروموناس* که همگی از نوع *آئروموناس* های متحرک می‌باشند از بافت‌های پوست و پلاک نیز جدا شده که مشابه بررسی یاد شده می‌باشد.

در بررسی که توسط Hedrick و همکاران (۲۰۰۱) از پوست تاس‌ماهی سفید پرورشی انجام شد گونه‌هایی از جنس *آئروموناس* گزارش گردید. همچنین طی تحقیقی که توسط Angelica و همکاران (۲۰۰۸) انجام

شد، گونه *آئروموناس هیدروفیلا* از پوست فیل ماهی پرورشی جدا گردید. نظر به اهمیت سپتی سمی های باکتریایی ناشی از *آئروموناس* های متحرک بخصوص *آئروموناس هیدروفیلا* مطالعاتی نیز جهت ایمن سازی باکتریایی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) انجام گرفت (Kalbassi et al., 2000; Soltani et al., 2001)، تحقیقاتی که بر روی تاس ماهیان پرورشی کشور انجام گرفته عمدتاً بر روی فلور طبیعی پوست و آبشش ماهیان می باشد که از آن جمله می توان به بررسی سفلائی (۱۳۷۸) بر روی فلور باکتریایی پوست تاس ماهی شپ پرورشی اشاره نمود که در نتیجه آن گونه هایی از جنس *یرسینیا* شناسایی شد.

در همین راستا طی بررسی که بر روی فلور طبیعی پوست و آبشش تاس ماهی شپ انجام پذیرفت گونه هایی از جنس *سودوموناس*، *ویبریو* و *سراتیا* گزارش شدند (شناور، ۱۳۸۲).

در تحقیق دیگری که بر روی فلور طبیعی سطح خارجی گونه های مختلف تاس ماهیان پرورشی انجام شد نیز باکتری های *اسیتوباکتر*، *موراکسلا*، *آئروموناس*، *ادواردزیلا*، *استافیلوکوکوس*، *پروتئوس*، *یرسینیا* و *ویبریو* شناسایی گردیدند (Shenavar et al., 2006).

از مجموع تحقیقات و گزارشات یاد شده و مقایسه آن ها با نتایج بدست آمده در این تحقیق می توان بین نوع آلودگی باکتریایی موجود در ضایعات و نوع فلور محیط پرورشی ارتباط برقرار نمود. بخصوص بین باکتری های موجود در ضایعات با آنچه از فلور سطح بدن در بررسی های مختلف جدا شده تشابهی قابل تشخیص است. با توجه به اینکه باکتری های فلور سطح بدن ماهیان به طور عمده می توانند از فلور آب منشأ

گرفته و بازتابی از فلور باکتریایی آب پیرامون خود باشند، می توان ارتباطی بین بروز و میزان ضایعات پوستی با میزان بار میکروبی و نوع آن قائل شد. از آنجایی که منبع عمده تأمین آب مجتمع تکثیر و پرورش از رودخانه تأمین می گردد و رودخانه ها نیز غالباً محل ورود انواع پساب ها بوده و دارای بار میکروبی غالباً بالایی می باشند بنابر این لزوم تصحیح آب ورودی به گارگاه با نصب صافی های مناسب و در صورت امکان استفاده از اشعه UV می تواند تا حد زیادی موجب کاهش بار میکروبی از جمله بار باکتریایی آب ورودی گردد، همچنین کاهش تراکم ماهیان در حوضچه های پرورش ماهی تا حد مناسب می تواند موجب بهبود وضعیت بهداشتی شود. از طرفی از دیگر راه های مقابله با افزایش بار میکروبی، کاهش بار آلی حوضچه ها می باشد از آنجایی که کف و دیواره تانک های مذکور در مقابل نور طبیعی و شرایط موجود سرعت دچار رشد سریع جلبک می گردند و همچنین رسوب مازاد مواد غذایی و مواد دفعی ماهیان و عدم خروج کامل آن ها موجب افزایش بار آلی و در نتیجه بار میکروبی بیش از حد طبیعی خواهد شد بنابراین شستشوی مرتب این حوضچه ها و ضد عفونی کردن آن ها با فواصل زمانی مناسب و با رعایت به حداقل رساندن دستکاری ماهیان پرورشی، تا حد زیادی می توان موجب کاهش شرایط نامطلوب و افزایش طبیعی مقاومت ماهیان در برابر عوامل استرس زای محیطی شد، زیرا بروز این گونه ضایعات جلدی و پوستی منجر به بروز عدم تعادل اسمزی شده که عمل پلی هیدراتاسیون را بدن بال داشته و در نتیجه خود می تواند عامل نهایی داخلی مرگ و میر ماهیان دچار ضایعات جلدی و پوستی باشد.

## سپاسگزاری

از زحمات بیدریغ کارشناسان محترم موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و نیز کارشناسان و کارکنان محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت که در این تحقیق همکاری نمودند کمال سپاسگزاری را دارد.

## منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). موسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۴۰۱ صفحه.
۲. اسماعیلی، ف.، ۱۳۷۷. بررسی ضایعات باکتریایی در ماهیان پرورشی استان خوزستان. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۸۴ صفحه.
۳. ستاری، م.، شاهسونی، د.، شفیعی، ش.، ۱۳۸۲. ماهی‌شناسی سیستماتیک. نشر حق‌شناس. جلد دوم، ۵۰۲ صفحه.
۴. سفلیایی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی باکتری‌های گرم منفی غالب در تاس‌ماهیان سد سنگر. پایان‌نامه دانشجویی. دانشگاه تربیت مدرس، ۸۳ صفحه.
۵. سلطانی، م.، ۱۳۷۵. بیماری‌های باکتریایی ماهی (ترجمه). انتشارات سازمان دامپزشکی کشور با همکاری موسسه نشر جهاد، ۴۵۴ صفحه.
۶. سلطانی، م.، ابراهیم‌زاده موسوی، ح.، ۱۳۷۹. جداسازی *آئروموناس ورونی* (*Aeromonas veronii*) و *آئروموناس هیدروفیل* (*Aeromonas hydrophila*) از تلفات آمور ماهیان پرورشی در دو کارگاه پرورش ماهی واقع در استان‌های گیلان و تهران. مجله علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز. ۳(۴)، ۲۴-۲۹.
۷. شریعتی، آ.، ۱۳۸۳. ماهیان دریای خزر. انتشارات نقش مهر، ۲۰۵ صفحه.
۸. شناور، ع.، ۱۳۸۲. بررسی فلور باکتریایی مراحل تخم، لارو، انگشت قد و فون انگلی بچه‌ماهیان خاویاری در کارگاه تکثیر و پرورش شهید بهشتی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۳۷ صفحه.
۹. عباسی، ک.، ولی‌پور، ع.، طالبی حقیقی، د.، سرپناه، ع.، نظامی بلوچی، ش.، ۱۳۷۸. اطلس ماهیان ایران آب‌های داخلی گیلان. انتشارات مرکز تحقیقات شیلاتی گیلان، ۱۱۳ صفحه.
۱۰. کیوان، آ.، ۱۳۸۱. مقدمه ای بر بیوتکنولوژی پرورش ماهیان خاویاری. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۷۰ صفحه.
۱۱. کیوان، آ.، ۱۳۸۲. ماهیان خاویاری ایران. انتشارات نقش مهر، ۴۰۰ صفحه.
۱۲. گلچین منشادی، ع.، ۱۳۸۵. مطالعه باکتریایی و آسیب‌شناسی پوسیدگی باله دمی مولدین ماهی آزاد دریای خزر در مرکز تکثیر و پرورش شهید باهنر کلاردشت. رساله دانشجویی. دانشگاه تربیت مدرس، ۸۳ صفحه.
13. Altinok, I., Kayis, S., Capkin, E., 2006. *Pseudomonas putida* infection in Rainbow trout. Journal of Aquaculture, 261(3), 850-855.
14. Angelica, D., 2008. Studies regarding the presence of the phathogens bacteria into a recirculating system of BELUGA Sturgeon intensive rearing. Lucari stiintifice zootehnnie si Biotehoologii, 41(2), 41-45.
15. Athanassopoulou, F., Billinis, C., Prapas, Th., 2004. Important disease condition of newly cultured species in intensive fresh water farms in Greece: First incidence of Nodavirus infection in *Acipenser* sp. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 60(7), 247-252.
16. Austin, B., Austin, D.A., 2007. Bacterial Fish pathogens: Disease in Farmed and Wild fish. Fourth Edition, Springer, Ellis Horwood Ltd. Chichester, 545 P.
17. Baron, E.J., Finegold, S.M., 1990. Diagnostic microbiology. 8<sup>th</sup> Edition, Mosby Comp., 861 P.
18. Bauer, O.N., Pugachev, O.N., Voronin, V.N., 2002. Study of parasites and Disease of Sturgeons in Russia. a review. Journal of Applied Ichthyology, 18(11), 420-429.

- Association for aquatic Animal Medicin, Joint conference, 515 P.
27. Lartseva, L. V., 1999. Microbiological monitoring of Sturgeon (ACIPENSERIDAE) in the Volga delta. Journal of Applied Ichthyology, 15(32), 281-292.
  28. Nieto, T.P., 2006. Isolation of *Serratia plymuthica* as an apportunistic pathogen in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Diseases, 13(2), 175-177.
  29. Noga, E.J., 2010. Fish Disease, Diagnosis and Treatment. Wiley Blackwell. Iowa State university press. Iowa, USA, pp. 497.
  30. Sharifpour, I., 1997. Histology of the inflammatory response of carp (*Cyprinus carpio*) to various stimuli. Thesis submitted to the University of Stirling. Stirling Scotland, 377 P.
  31. Shenavar M, A., Sharifpour, I., Shojaei, A.A., 2006. The aerobic Bacterial flora of hatchery reared Caspian Sea Sturgeon fingerlings. Journal of Ichthyology, 22(7), 261-264.
  32. Soltani, M., Kalbasi, M.R., 2001. Protection of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerling against *Aeromonas hydrophila* Septicemia Using three different antigens. Bulletin- European Association of Fish Pathologists, 21(6), 235-240.
  19. Collee, J.G., 1989. Practical Medical Microbiology. 13<sup>th</sup> Edition, produced by Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd., 910 P.
  20. Doroshov, S.I., 2000. The scape of cultured Sturgeon and the Interbreeding with wild stock. In proceedings of the Florida Sturgeon culture Risk Assessment Workshop. April 6-7, Sarasota, FL.
  21. Francis-Floyd, R., 2000. Proceeding of the Florida Sturgeon culture. Risk Assessment Work shop, pp. 33-34.
  22. Hedrick, R.P., 2001. Workshop on Sturgeon diseases. 4<sup>th</sup> Symposium on Sturgeon. Oshkosh, Wisconsin, USA. pp. 21.
  23. Holcik, J., 1989. The fresh water Fishes of Europe. Aula – Veriag Weisbaden publication, 1(2), 206-433.
  24. Holt, J., Krieg, N., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> Edition, The Williams comp., 787 P.
  25. Kalbasi, M.R., 2000. Humoral Immune Cultured Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) to Four Different *Aeromonas hydrophila* Antigens. Archives of Razi Institute, 75-83.
  26. Klinger, R., Francis, F., Riggs, R., 2000. A ten year history Sturgeon diagnostic cases. Proceedings of the American Association of zoo veterinarians and the international