

## مقایسه فلور میکروبی و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی در استخر پرورش کپور ماهیان کوددهی شده با شیرابه کود گاوی و کود شیمیایی

مریم قیاسی\*، رضا پور غلام<sup>۱</sup>، حسن نصراله زاده<sup>۱</sup>، آذین زاهدی<sup>۱</sup>، محمد بینایی<sup>۱</sup>

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، ساری، ایران، صندوق پستی: ۹۶۱

تاریخ دریافت: ۲۵ تیر ۱۳۹۲

تاریخ پذیرش: ۶ آبان ۱۳۹۲

### چکیده

در این مطالعه مقایسه بین اثرات استفاده شیرابه کود گاویو کود شیمیایی بر میزان بار میکروبی، باکتری‌های بیماری‌زا و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب با هدف جایگزینی کود آلی به جای کود شیمیایی در غنی سازی استخر پرورش ماهیان کپور انجام گردید. میانگین شمارش کلی باکتری‌ها و کلی کلیفرم شیرابه مورد استفاده به ترتیب  $1200 \pm 10^4 \times 4$  و  $10^2 \times 47$  کلنی در هر میلی لیتر بود. در ادامه نمونه‌برداری از آب دو استخر که در یکی تنها از شیرابه کود گاوی (استخر ۱) و در دیگری فقط از کود شیمیایی (استخر ۲) استفاده شده بود طی ماه‌های خرداد تا مهر انجام گردید. نتایج نشان داد میزان شمارش کلی باکتری در آب استخر ۱ به طور معنی داری از استخر ۲ بیشتر بوده است و میزان بار میکروبی استخر ۱ در مردادماه تفاوت معنی داری با سایر زمان‌های نمونه‌برداری داشتند حالیکه در استخر ۲ چنین نبود. همچنین آب استخر ۱ از تنوع میکروبی بیشتری برخوردار بوده و در تمام نمونه‌برداری‌ها باکتری‌های سودوموناس، کلبسیلا، اتروباکتر، اشیریشیا کولی ویرسینیا جداسازی گردید ولی از استخر ۲ تنها سودوموناس و اشیریشیا کولی جداسازی شد. میزان سختی کل، فسفر کل، مواد جامد محلول و هدایت الکتریکی در آب استخر ۱ به طور معنی داری بیشتر از آب استخر ۲ بود ولی میزان BOD، اکسیژن محلول و شفافیت آب استخر ۱ به طور معنی داری کمتر از استخر ۲ بود. ازت کل، قلیائیت و pH آب دو استخر تفاوت معنی داری نداشت. کشت میکروبی کبد و کلیه ماهیان استخر ۱ طی تیر تا مهرماه منفی بود.

**کلمات کلیدی:** فلور میکروبی، فاکتورهای فیزیکوشیمیایی، شیرابه کود گاوی.

## مقدمه

طی سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۹ میزان تولید کپور ماهیان در کشور تقریباً ۵ برابر شده و از ۲۷۵۰۰ تن به ۱۲۱۸۵۹ رسیده است. در این میان استان مازندران در سال ۸۹ با تولید ۳۸۳۹۱ تن انواع کپور ماهیان پرورشی ۳۱/۵ درصد از سهم تولید در کشور را به خود اختصاص داده و از این نظر رتبه اول تولید را داشته است. در بین کپور ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی رژیم غذایی همه چیزخواری داشته و از غذای دستی و غذای زنده جانوری موجود در کف بستر و ستون آب استخر تغذیه می‌کند. کپور علفخوار نیز از گیاهان آبرزی داخل استخر و سایر علوفه کشت شده به صورت غذای دستی تغذیه می‌کند، ولی دو گونه کپور نقره‌ای و سرگنده که فیل ترکننده آب هستند از موجودات میکروسکوپی شامل باکتری‌ها، فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها تغذیه می‌کنند، لذا در تغذیه آن‌ها غنی‌سازی آب استخر با تزریق انواع کودهای آلی و شیمیایی مورد نیاز است (El-Ebiary, 1998). به طور کلی کودها و یا حاصلخیزکننده‌ها را می‌توان به دو گروه اصلی معدنی و آلی تقسیم بندی نمود. کود آلی از مدفوع گاو، اسب، گوسفند، خوک و ماکیان تهیه می‌گردد و دارای مواد مغذی و غنی از نوترینت‌ها و عناصر کمیاب می‌باشد (Vijayaraghavan et al., 2006). مدت‌ها است که از کودهای حیوانی به عنوان منبع فسفر، نیتروژن و کربن محلول استفاده می‌شود تا رشد آلگ‌ها و غذای طبیعی در استخرهای پرورش ماهی به حداکثر ممکن برسد (Knud-Hansen, 1998; Abbas et al., 2004). کود گاوی و دیگر کودهای آلی به دلیل پایین بودن نسبت کربن به نیتروژن به سرعت باعث تغییرات پلانکتونی می‌گردند. این مواد به

دلیل فراهم نمودن نیتروژن و فسفر محلول ابتدا شرایط را برای شکوفایی فیتوپلانکتون آماده می‌نماید و سپس زئوپلانکتون با تغذیه از آن‌ها تکثیر می‌یابد (Sabri Ali et al., 2007). از طرف دیگر استفاده از کودهای حیوانی موجب افزایش میزان باکتری در استخر و نیز تنوع فلور آن می‌شود. مطالعات نشان داده است که این باکتری‌ها نه تنها طی فرایند فیلتراسیون مورد تغذیه ماهیان قرار می‌گیرند بلکه طعمه مناسبی برای زئوپلانکتون‌ها بوده و موجب افزایش بیوماس آن‌ها می‌شوند (Kuznestov, 1977). همچنین Guo و همکاران (۱۹۸۸) نشان دادند که ارتباط بسیار نزدیکی بین فلور میکروبی آب و برخی فاکتورهای اکویولوژیکی در استخر پرورش شامل اکسیژن، BOD، مواد معلق، ذرات آلی، شفافیت، املاح خوراکی و پلانکتون‌ها وجود دارد. در مقابل مصرف کودهای شیمیایی در انواع مختلف اوره، نترات، پتاس، سولفات و فسفات آمونیوم آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال داشته و از نوع آلی نیز گران‌تر هستند (Swift, 1993)، لذا استفاده از مواد جایگزین مناسب خصوصاً کودهای آلی ضروری به نظر می‌رسد زیرا مصرف کودهای آلی نه تنها ارزان‌تر است بلکه فاقد عوارض زیست محیطی است (El-Ebiary, 1998). لیکن باید توجه داشت که استفاده از کودهای آلی و از جمله کود گاوی، ممکن است مسبب مشکلات بهداشتی هم از جنبه انسانی و هم از جنبه بروز بیماری در ماهیان تحت پرورش گردد. ماهیان به طور طبیعی در محیطی زندگی می‌کنند که محل مخفی شدن و پناهگاه باکتری‌های بیماری‌زا خانواده آنتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*) است (Pillay, 1990).

در کپور ماهیان به منظور ایجاد یک مدیریت مناسب بهداشتی چه از جنبه انسانی و چه از منظر بهداشت آبریان صورت گیرد تا در نهایت به تولید ماهی سالم برای مصرف انسانی و هم دستیابی به بهترین راندمان تولید آبریان نایل شد (Reilly and Kaferstein, 1999).

### مواد و روش‌ها

نمونه برداری از دو استخر در منطقه قائم شهر انجام گرفت. استخر شماره ۱ به مساحت تقریبی ۴ هکتار با شیرابه کود گاوی به میزان ۲/۵ تن در هکتار در اردیبهشت ماه کوددهی گردید. استخر شماره ۲ به مساحت تقریبی ۱۳ هکتار با دو نوع کود شیمیایی شامل اوره به میزان ۳۸۵ کیلو بر هکتار و فسفات به میزان ۱۹۳ کیلو بر هکتار از اردیبهشت تا مرداد و مجدداً اواخر شهریورماه کوددهی گردید. هر دو استخر تحت کشت چند گونه‌ای کپور ماهیان پرورشی بودند. نمونه برداری از شیرابه کود گاوی قبل از تزریق آن به استخر انجام گرفت. نمونه برداری از آب استخرها بعد از کوددهی یعنی از خرداد تا مهر ۱۳۹۰ در ماه‌های خرداد و تیر هر دو هفته یکبار و در ماه‌های مرداد تا مهر به صورت ماهانه انجام شد. نمونه ماهی فقط در سه ماه تیر، مرداد و شهریور و تنها از استخر غنی شده با شیرابه تهیه گردید. برداشت نمونه‌های آب جهت آزمایشات باکتری‌شناسی با استفاده از ظروف استریل انجام و نمونه‌های آب در فاصله ۲۰-۱۵ سانتیمتری از سطح آب اخذ گردید. بعد از برداشت آب بلافاصله درب ظروف بسته و در کنار یخ تا زمان انتقال به آزمایشگاه قرار گرفت. در هر مرحله نمونه‌برداری از ماهی تعداد ۱۲ عدد ماهی صید و به صورت زنده به آزمایشگاه انتقال داده شدند (Jha et al.,

Okoeme و Ogbondeminu ۱۹۸۹) گزارش کردند که ۵۰٪ از میکروارگانیسم‌های به دست آمده از آب و ماهیان پرورشی استخرهای خاکی غنی‌سازی شده با کود حیوانی از اعضا این خانواده بوده است. Jie-yi و همکاران (۱۹۸۸) نشان دادند که قطع کودهای آلی ۴۰-۵۰ روز قبل از عرضه ماهی پرورشی به بازار مصرف در دمای ۲۵-۱۸ درجه سانتی‌گراد، اغلب موجب ناپدید شدن باکتری‌های بیماری‌زا نظیر سالمونلا تیفی (*Salmonella typhi*)، سالمونلا پاراتیفی (*S. paratyphi*) و شیگلا دیسانتری (*Shigella dysenteriae*) می‌شود. از سوی دیگر اطلاعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد به طور معمول باکتری‌هایی مانند سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*)، آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*)، ادوارزیلا تاردا (*Edwardsiella tarda*) و گونه‌های ویبریو (*Vibrio sp.*) فلور طبیعی آب در بسیاری از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی هستند که می‌توانند در سطح بدن و یا در دستگاه گوارش ماهیان در شرایط عادی یافت شوند. لیکن با بروز استرس و تغییرات نامناسب محیطی این باکتری‌ها قادر به ایجاد بیماری و تلفات در ماهیان می‌باشند (Sugita et al., 1985). روند تغییرات میکروبی با توجه به شاخص‌های کیفی و باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و نیز ارتباط آنها با کیفیت آب طی مدت زمان پرورش بخشی است که کمتر به آن در مزارع پرورش کپور ماهیان توجه شده است. بنابراین در شرایط استفاده از کودهای آلی (نظیر کود گاوی)، ضروری است تا در تمام طول دوره پرورش بررسی در خصوص ترکیب جمعیتی فلور باکتریایی آب چه از نقطه نظر باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و چه از منظر باکتری‌های بیماری‌زا فرصت طلب

ارزیابی درجه حرارت و pH به ترتیب با استفاده از دماسنج جیوه‌ای بر حسب سانتی‌گراد و pH متر پرتابل با الکتروود حساس مدل ۳۲۰- WTW در محل انجام گردید. برای اندازه‌گیری سایر فاکتورها، نمونه آب استخرها در ظروف پلاستیکی ۱ لیتری جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه فاکتورهایی چون اکسیژن محلول، BOD، شفافیت، ازت کل (نیتريت، نترات، آمونیاك)، فسفر کل، مواد جامد محلول، هدایت الکتریکی، سختی کل و قلیائیت کل صورت گرفت (Clesceri *et al.*, 2005).

در ارزیابی میکروبی شیرابه، رقت سریالی از نمونه با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تا  $10^{-4}$  تهیه و از رقت‌های  $10^{-3}$  و  $10^{-4}$  به روش پورپلیت (در سه تکرار) در محیط تریپتیک سوی آگار (Tryptic Soy Agar) (TSA) کشت به عمل آمد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $30-25$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از این مرحله شمارش کلی باکتری‌ها انجام گردید. همچنین از همین رقت برای شمارش کلیفرم‌ها (Coliforms) در محیط ECC کروم آگار (Chrom agar<sup>TM</sup> ECC) کشت داده و دو دمای  $37$  (جهت رشد سایر کلیفرم‌ها) و  $44$  (جهت رشد ایکولای *E. coli*) درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری و سپس شمارش پرگنه‌ها انجام شد. در ارزیابی میکروبی آب، بعد از تهیه رقت سریالی تا  $10^{-3}$ ، از رقت‌های  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  به روش پورپلیت در محیط TSA (در سه تکرار) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $30-25$  درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس شمارش کلی باکتری‌ها انجام گردید. جهت تشخیص جنس‌های مختلف باکتری از پلیت‌های فوق، ابتدا پرگنه‌های تیبیک نمونه برداری و به

روش خطی در محیط آگار خون‌دار (Blood Agar) (BA) کشت داده شده و نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای  $30-25$  درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و پس از آن از کلنی‌های تک به دست آمده رنگ آمیزی گرم انجام گردید. برای جداسازی کلیفرم‌های مدفوعی تمام کلنی‌ها تک در محیط ECC کروم آگار کشت داده شده و در دو دمای  $37$  و  $44$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری و بر اساس رنگ ایجاد شده در محیط شناسایی گردیدند. پس از این مرحله با تفریق نمونه‌های ایکولای و کلیفرم‌ها از دیگر باکتری‌های گرم منفی، برای تمام نمونه‌ها تست‌های تشخیصی شامل اکسیداز، کاتالاز، OF، اندل، سترات، نترات، MR و VP گذاشته شد. شناسایی نهایی نمونه‌ها بر اساس جداول تشخیصی مرجع انجام گردید. برای ارزیابی عوامل میکروبی در ماهیان نیز پس از ارزیابی خصوصیات ظاهری و نیز اندام‌های درونی از کبد و کلیه آن‌ها در محیط آگار خون‌دار (BA) کشت به عمل آمد (Buller, 2004).

در نهایت مقایسه میزان بار میکروبی در هر استخر طی زمان‌های مختلف نمونه‌برداری، مقایسه میزان بار میکروبی و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی بین دو استخر با استفاده نرم افزار SPSS و انجام تست One-Sample T test در سطح ۵٪ انجام گردید (Zar, 1994).

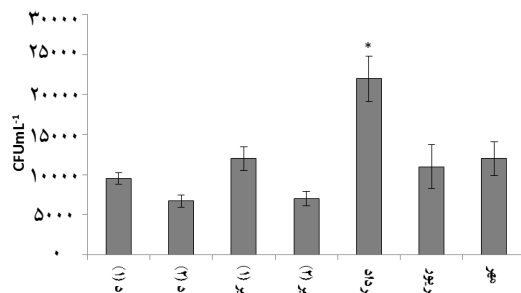
### نتایج

میانگین شمارش کلی باکتری‌ها (اعم از هوازی و بی‌هوازی) و شمارش کلی کلیفرم در نمونه شیرابه کود گاوی به ترتیب  $1200 \pm 10^6 \times 4$  و  $4700$  کلنی در هر میلی لیتر شیرابه بود. نتایج شمارش کلی باکتری در دو استخر در جدول ۱ آمده است.

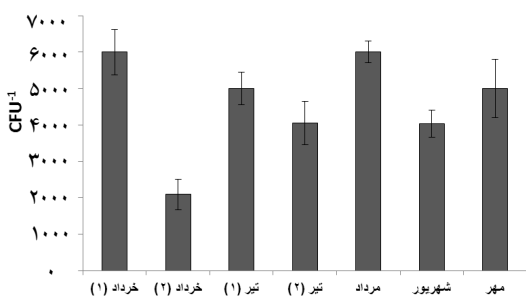
جدول ۱: میانگین شمارش کلی باکتری (CFU/mL) در آب استخرهای غنی شده با شیرابه کود گاوی (استخر ۱) و کود شیمیایی (استخر ۲)

| زمان                    | ۹۰/۷/۱۷    | ۹۰/۶/۱۳    | ۹۰/۵/۹     | ۹۰/۴/۲۷  | ۹۰/۴/۷     | ۹۰/۳/۲۲  | ۹۰/۳/۴   |
|-------------------------|------------|------------|------------|----------|------------|----------|----------|
| میانگین باکتری (CFU/mL) | ۱۲۰۰۰±۲۱۱۰ | ۱۱۰۰۰±۲۷۰۰ | ۲۲۰۰۰±۲۸۳۰ | ۷۰۰۰±۹۳۰ | ۱۲۰۰۰±۱۵۱۰ | ۶۷۰۰±۸۰۰ | ۹۵۰۰±۷۲۰ |
| استخر ۱                 |            |            |            |          |            |          |          |
| استخر ۲                 | ۵۰۰۰±۸۰۰   | ۴۳۰۰±۳۷۰   | ۶۰۰۰±۳۰۰   | ۴۵۰۰±۶۰۰ | ۵۰۰۰±۴۵۰   | ۲۹۰۰±۴۱۰ | ۶۰۰۰±۶۲۰ |

سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، اشریشیا کولی ویرسینیا جداسازی گردید.



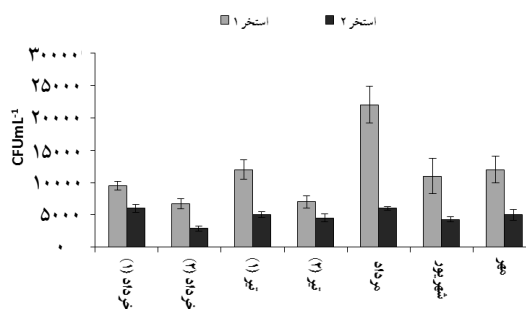
شکل ۲: مقایسه میانگین شمارش کلی باکتری در استخر غنی شده با شیرابه کود گاوی در زمان‌های مختلف



شکل ۳: مقایسه میانگین شمارش کلی باکتری در استخر غنی شده با کود شیمیایی در زمان‌های مختلف

لیکن در آب استخر ۲ در درجه اول سودوموناس و بعد اشریشیا کولی جداسازی گردید. نتایج آزمایشات تفریقی و تشخیصی در جدول ۲ آمده است. در طول زمان نمونه برداری در ماهیان هیچ گونه علائم غیرطبیعی

بر اساس داده‌های به دست آمده مشخص گردید که میزان شمارش کلی باکتری در آب استخر ۱ به طور معنی داری از میزان شمارش کلی باکتری در استخر ۲ بیشتر بوده است ( $P \leq 0/05$ ) (شکل ۱). همچنین مقایسه میزان بار میکروبی در هر استخر طی زمان‌های مختلف نمونه برداری نشان داد که میزان بار میکروبی در استخر ۱ در مرداد ماه تفاوت معنی دار با سایر زمان‌های نمونه برداری داشته است ( $P \leq 0/05$ ) (شکل ۲)، در حالی که در استخر ۲ تفاوت معنی داری در میزان بار میکروبی طی زمان‌های مختلف مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ) (شکل ۳).



شکل ۱: مقایسه میانگین میزان شمارش کلی باکتری در استخرهای غنی شده با شیرابه کود گاوی و کود شیمیایی

در خصوص عوامل باکتریایی بیماری‌زای جداسازی شده نتایج تنوع بیشتری را در آب استخر ۱ نشان داد. بطوریکه در تمام نمونه برداری‌ها باکتری‌های

خونریزی در کبد، کلیه و احشا مشاهده نگردید. همچنین رشد باکتری در کشت تهیه شده از اندام‌های داخلی (کبد و کلیه) تمام ماهیان منفی بود.

شامل تغییر رنگ، خونریزی در سطح بدن و یا قاعده باله‌ها، بروز پرخونی یا خونریزی در ناحیه مخرج و یا آبشش‌ها مشاهده نگردید. پس از کالبد گشایی نیز هیچ گونه تجمع مایع در محوطه بطنی (آسیت)، پرخونی یا

جدول ۲: نتایج حاصل از انجام تست‌های تفریقی جهت شناسایی جنس‌های باکتری جدا شده از آب استخرهای

غنی شده با شیرابه کود گاوی و کود شیمیایی

| تست باکتری | رنگ آمیزی گرم | اکسیداز | کاتالاز | OF | اندل | سیترات | MR | VP | نیترات |
|------------|---------------|---------|---------|----|------|--------|----|----|--------|
| یرسینیا    | گرم منفی      | -       | +       | F  | +    | +      | +  | -  | +      |
| سودوموناس  | گرم منفی      | +       | +       | O  | -    | +      | V  | V  | +      |
| کلبسیلا    | گرم منفی      | -       | +       | F  | -    | +      | V  | V  | +      |
| انتروباکتر | گرم منفی      | -       | +       | F  | -    | +      | -  | -  | +      |
| اشرشیا     | گرم منفی      | -       | +       | F  | +    | -      | +  | +  | +      |

هوای - بیهوای: F، هوای مطلق: O، متغیر: V

جدول ۳: نتایج حاصل از آنالیز فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب

استخرهای غنی شده با شیرابه کود گاوی و کود شیمیایی

| فاکتور                             | شیرابه کود گاوی | کود شیمیایی  |
|------------------------------------|-----------------|--------------|
| شفافیت (SD)(cm)                    | ۲۵/۷ ± ۷/۴      | ۳۳/۳ ± ۵/۸   |
| اکسیژن محلول (mgL <sup>-1</sup> )  | ۶/۱ ± ۱         | ۷/۸ ± ۰/۹    |
| BOD (mgL <sup>-1</sup> )           | ۰/۵ ± ۰/۵       | ۳/۴ ± ۱/۳    |
| pH                                 | ۷/۹ ± ۰/۳       | ۸/۱ ± ۰/۳    |
| قلیائیت کل (mgL <sup>-1</sup> )    | ۴۵/۹ ± ۱۳/۱     | ۳۴/۶ ± ۸/۴   |
| هدایت الکتریکی (us/cm)             | ۱ ± ۰/۱         | ۰/۷ ± ۰/۰۵   |
| مواد جامد محلول (g <sup>-1</sup> ) | ۰/۵ ± ۰/۰۶      | ۰/۴ ± ۰/۰۲   |
| سختی کل (mgL <sup>-1</sup> )       | ۳۷۶/۱ ± ۵۵/۷    | ۲۶۴/۵ ± ۴۶/۱ |
| ازت کل (mgL <sup>-1</sup> )        | ۶/۶ ± ۰/۹       | ۶/۶ ± ۱/۸    |
| فسفر کل (mgL <sup>-1</sup> )       | ۰/۵ ± ۰/۱       | ۰/۳ ± ۰/۱    |

### بحث

در این بررسی مشخص گردید که میزان بار میکروبی آب استخر ۱ به طور معنی‌داری بیشتر آب استخر ۲ است. Ding و همکاران (۱۹۸۷) اثرات استفاده

نتایج ثبت حرارت آب نشان داد که کمترین دمای آب در طول دوره نمونه‌برداری در استخرها ۲۰ و بیش‌ترین ۳۱ درجه سانتی‌گراد بوده است. میانگین دمای آب در طول دوره نمونه‌برداری نیز ۲۸ درجه سانتی‌گراد بود. دامنه نوسان دمای آب در طول دوره در استخرهای مورد مطالعه در حدود ۵/۵ درجه سانتی‌گراد بوده است. همچنین میزان سختی کل، فسفر کل، مواد جامد محلول و هدایت الکتریکی در آب استخر ۱ به طور معنی‌داری بیشتر از استخر ۲ بود ( $P \leq 0/05$ ). از سوی دیگر میزان BOD، اکسیژن محلول و شفافیت آب به طور معنی‌داری در استخر ۱ کمتر از استخر ۲ بود ( $P \leq 0/05$ ). لیکن نتایج به‌دست آمده از میزان ازت کل، قلیائیت و pH آب تفاوت معنی‌داری را بین استخر ۱ و ۲ نشان نداد ( $P \geq 0/05$ ). نتایج حاصل از آنالیز فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب در جدول ۳ آورده شده است.

بوده است. باکتری‌های شناسایی شده در آب استخر ۱ شامل باکتری‌هایی از جنس سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، یرسینیا و اشیریشیا کولی بودند در حالیکه در استخر ۲ تنها جنس سودوموناس و اشیریشیا کولی جداسازی گردید. به عبارت دیگر اولاً عمده گروه‌های باکتریایی جدا شده از باکتری‌های هتروتروف و آنتروباکتریاسه‌ها هستند و ثانياً تنوع عوامل باکتریایی در استخر ۱ بیشتر از استخر ۲ بوده است. مشابه این نتایج را Ogbondeminu و Adeniji (۱۹۸۷) در مطالعه تاثیر کود دامی بر تنوع میکروبی آب استخر کپور ماهیان پرورشی به دست آوردند و متوجه شدند باکتری‌های هتروتروفیک و آنتروباکتریاسه باکتری‌های اصلی فلور میکروبی آب هستند. البته باید در نظر داشت ترکیب چند گونه‌ای پرورش ماهیان گرمابی نیز خود عامل موثر دیگری بر میزان و تنوع میکروبی آب استخر در کنار استفاده از کودهای دامی است (Uddin and Al-Harbi, 2012). نتایج این بررسی نشان سودوموناس باکتری غالب در هردو استخر بوده است. بر اساس داده‌های به دست آمده سودوموناس و آثروموناس دو جنس عمده از باکتری‌های موجود در فلور باکتریایی آب استخر پرورش ماهیان گرمابی‌اند، زیرا این دو جنس از مهم‌ترین باکتری‌های موجود در فلور روده‌ای ماهیان آب شیرین هستند (Joanna et al., 2005)، به عبارت دیگر نوع کود مصرفی در میزان حضور این باکتری‌ها کمتر نقش دارد لیکن فراوانی آن‌ها در آب استخرهای غنی شده با کود حیوانی بسیار بیشتر از استخرهای غنی شده با کود دامی است (Ding et al., 1990). همچنین یرسینیا و آنتروباکتر نیز که در این بررسی از آب استخر ۱ جداسازی شد در ماهیان گرمابی از جمله گربه‌ماهی زرد جنس غالب فلور روده‌ای

از انواع کود دامی (مرغی، گاوی، اردک و خوک) را بر میزان بیوماس باکتری در آب استخر و موکوس سطح بدن کپور سیاه، کپور علفخوار، کپور نقره‌ای و کپور سرگنده مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند بیوماس باکتری آب و موکوس سطحی بدن ماهیان در استخر غنی شده با کود حیوانی بیشتر از استخر غنی شده با کود شیمیایی است.

همچنین یافته‌های Al-Harbi و Uddin (۲۰۰۳) نشان داد میزان توتال کانت باکتری آب استخر پرورش تیلایپای نیل غنی شده با کود گاوی به طور معنی‌داری از میزان شمارش کلی باکتری استخر غنی نشده با این کود بیشتر است. بررسی‌ها نشان داده مصرف کود گاوی موجب افزایش میزان رشد و نیز افزایش میزان محصول برداشتی در واحد سطح می‌گردد که این مسئله را می‌توان به افزایش بیوماس پلانکتونی خصوصاً افزایش بیوماس زئوپلانکتون‌ها نسبت داد (Javed et al., 1992; Hassan, 1989). منبع غذا بودن باکتری‌ها برای زئوپلانکتون‌ها و ماهیان پلانکتون‌خوار در مطالعات متعددی تایید شده است (Kuznestove, 1977; Moav et al., 1977; Zhu et al., 1990). عوامل باکتریایی منبعی قابل توجه از کربن، اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌ها را در اختیار ماهیان و زئوپلانکتون‌ها قرار می‌دهند. وجود این عوامل خصوصاً در زمانی که نور وجود ندارد (در شب) می‌تواند به عنوان منبع غذایی مهمی برای زئوپلانکتون‌ها به کار آید. مطالعات نشان داده است که افزایش بار میکروبی تاثیر معنی‌داری در جمعیت زئوپلانکتونی استخر دارد. Ogbondeminu و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند در استخرهای غنی شده با کود مرغی، میزان باکتری در دستگاه گوارش هر زئوپلانکتون  $10^6$  CFU

است (Wu *et al.*, 2010). بنابراین منبع این باکتری‌ها همانند سودوموناس و آئروموناس می‌تواند فضولات دفعی ماهیان باشد ولی در عین حال این باکتری‌ها به عنوان عوامل بیماری‌زا ماهیان آب شیرین نیز شناخته شده‌اند. از سوی دیگر در این بررسی بروز بیماری و یا جداسازی عوامل بیماری‌زا از ماهیان مشاهده نگردید. لذا به نظر می‌رسد استفاده از کودهای دامی هرچند موجب افزایش بار میکروبی آب می‌گردد لیکن به دلیل تنوع میکروبی که ایجاد می‌کنند و نیز و حضور باکتری‌های تخمیر کننده، از یک سو تاثیر مفیدی بر جمعیت پلانکتونی استخر می‌گذارد و از سوی دیگر به دلیل اثرات آنتاگونیستی باکتری‌ها بر هم شانس بروز بیماری را کاهش می‌دهد (Abo-Shosha, 2007). از سوی دیگر به نظر می‌رسد بالا بودن بار میکروبی خود عاملی در جهت تحریک ایمنی ماهیان پرورشی در استخرهای غنی شده با کود حیوانی و ممانعت از بروز بیماری است. Iger و همکاران (۱۹۸۸) پاسخ‌های سلولی پوست ماهیان کپور نگهداری شده در استخر غنی شده با کود دامی را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها متوجه شدند که ضخامت اپیدرم در این ماهیان ۱۴۰ تا ۱۸۰ میلی میکرومتر نسبت به ماهیان نگهداری شده در استخر غنی شده با کود شیمیایی بیشتر بوده و نسبت به آن‌ها رنگ تیره‌تری دارند. نتایج نشان داد که میزان بار میکروبی در مردادماه که دمای آب ۳۱ درجه سانتی‌گراد بود در استخر ۱ در مقایسه با سایر زمان‌های نمونه‌برداری که دمای کم‌تری ثبت شده، از افزایش معنی‌داری برخوردار است. مطالعات مختلفی نشان داده است که دما فاکتور بسیار اثر گذاری در میزان شمارش کلی باکتری و نیز شمارش کلی باکتری‌های کلیفرمی آب مزارع است. این تغییرات هم در استخرهای غنی

شده با کود دامی و هم در استخرهای غنی شده با کود شیمیایی مشاهده شده است (El-Gamal, 2000; Al-Harbi and Uddin, 2003). مهم‌ترین تاثیر حرارت، تاثیر بر جمعیت باکتری‌های تخمیر کننده است. وقتی کود گاوی به میزان ۲/۲۸ کیلوگرم به ازای هر ۲۰ مترمکعب استفاده شود با افزایش درجه حرارت جمعیت میکروبی تا ۱۰۰ برابر افزایش می‌یابد (Ogbondeminu *et al.*, 1990). به جز حرارت اندازه‌گیری سایر پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب نشان از تفاوت معنی‌دار در برخی از این فاکتورها در بین دو استخر داشت. میزان BOD، اکسیژن محلول و شفافیت آب به طور معنی‌داری در استخر غنی شده با شیرابه کود گاوی کمتر از استخر غنی شده با کود شیمیایی بوده است ( $P \leq 0/05$ ). مطالعات نشان داده است که استفاده از کودهای دامی منجر به کاهش اکسیژن محلول، BOD و COD می‌شوند (Boyd, 1982; Kang'ombe *et al.*, 2006; Jha *et al.*, 2008; Surendraraj *et al.*, 2009) که بخشی از این امر را می‌توان به افزایش بار میکروبی و نیز فرایند رشد، تکثیر و فعالیت‌های تخمیری آن‌ها نسبت داد (Ogbondeminu *et al.*, 1990). کاهش شفافیت در استخرهای غنی شده با کود دامی به افزایش بیوماس پلانکتونی نسبت داده شده که آن نیز تابعی از افزایش بار میکروبی است (Ogbondeminu *et al.*, 2009; Surendraraj *et al.*, 1990). بر اساس این مطالعه فاکتورهایی چون میزان سختی کل، فسفر کل، مواد جامد محلول و هدایت الکتریکی در استخر غنی شده با شیرابه کود گاوی به طور معنی‌داری بیشتر از آب استخر غنی شده با کود شیمیایی بوده است ( $P \leq 0/05$ ). چنین نتایجی در استفاده از کود دامی در

- hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. Aureus*) cultured in earth pond in Saudi Arabic. *Aquaculture*, 229, pp. 37 – 44
4. Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publishers, Boston, 700 p.
  5. Buller, N.B., 2004. Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. CABI Publishing, Wallingford, UK, 329 p.
  6. Clesceri, L. T., Greenbery, A. E., Eaton, A. D., 2005. Standard Methods for the examination of water and waste water. 21th edition, American Public Health Association, Portcity Press, Baltimor, Maryland, USA, p. 2800.
  7. Ding, J.G., Xian, Z., Liu, M., 1987. Preliminary studies on the effect of animal manure on bacterial disease of fish. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC197E/AC197E00.htm>.
  8. Ding, J.G., Xian, Z., Liu, M., 1990. Effects of animal manure application in fish pond on the bacterial disease of fish and food hygiene. Science press, Beijing (China), pp. 35 – 43.
  9. El-Ebiary, E.S.H., 1998. The use of organic manures in polyculture system for Tilapia, Mullet and Carp. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 2(3), pp.133-147.
  10. El-Gammal, A.M.I., 2000. Microbiological studies on soil, water and fish in fish ponds. MSc. Thesis, Botany Dept., Faculty of Science, Menoufiya University, Egypt, 127 p.
  11. Guo, X., Fang, Y., Wang, J., Pang, X., 1988. Preliminary studies on the analysis of bacterial types in the fish ponds applied with four kinds of animals manure and effects of manuring on the ecosystem and yield. <http://www.fao.org/docrep/field/009/ag149e/ag149e00.htm>
  12. Hassan, M., 1989. Effect of cow-dong manure fertilization of fish pond on the growth performance of three major Carp, *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala*, PhD Thesis (Zoology and Fisheries), University. of Agriculture, Faisalabad (Pakistan), 91 p.
  13. Iger, Y., Ibrahim, M., Dotan, A., Fatal, B., Rahmim, E., 1998. Cellular responses in the skin of carp maintained in organically fertilized water. *Journal of Fish Biology*, 35(5), pp. 711 – 720.
  14. Javed, M., Hassan, M., Sial, M. B., 1992. Fish pond fertilization. IV. Effect of cow-dung on the growth performance of major Carp. *Pakistanian Journal of Agriculture Science*, 29 (2), pp. 111 – 115.
  15. Jha P., Barat S., Nayak C.R., 2008. Fish production, water quality and bacteriological parameters of Koi carp ponds under live-food and manure based management regimes. *Zoological research*, 29(2), pp.165-173.

سایر مطالعات نیز به دست آمده است که البته میزان تغییرات آن در کودهای مختلف دامی (کود مرغی و گاوی) بایکدیگر متفاوت بوده است (Kang'ombe *et al.*, 2006; Jha *et al.*, 2008; Surendraraj *et al.*, 2009). نکته این است که با توجه به تنوع کودهای آلی مصرفی (گاوی، مرغی، اردک و خوک) در غنی‌سازی آب استخرهای پرورش ماهیان گرمابی در دنیا، بر اساس مقایسه شمارش کلی باکتری و قارچ، به نظر می‌رسد کود گاوی در مقایسه با سایر کودهای آلی بسیار مناسب‌تر است (Abo-Shosha, 2007). همچنین استفاده از کود دامی خصوصاً کود گاوی در غنی‌سازی استخرهای پرورش کپور ماهیان پرورشی چنانچه در غالب یک مدیریت صحیح بهداشتی و نیز یک برنامه پایش میکروبی و فاکتورهای فیزیکی‌شیمیایی آب در طول دوره پرورش خصوصاً در فصول گرم اعمال گردد نه تنها راندمان تولید بهتری را به دنبال خواهد داشت، بلکه می‌تواند مشکلات بهداشتی کمتری را از جنبه بهداشت آبزیان و انسان به دنبال داشته باشد.

### سپاسگزاری

در اینجا لازم از است از جناب آقای حاج بابایی مدیر محترم مجتمع گودوشا و همکارانشان که صمیمانه ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر و تشکر بنماییم.

### منابع

1. Abbas, S., Ahmed, I., Akhtar, P., 2004. Effect of different levels of poultry droppings on the growth performance of major Carps. *Pakistan Veterinary Journal*, 24(3), pp. 139-143.
2. Abo-Shosha, E.H.A., 2007. Studies on seasonal fluctuation quality and quantity of microbial flora in cultured tilapia nilotica under different nutritional programs. PhD, Thesis, Bacteriology, Mycology and Immunology Dep., Zaziga University., Egypt, 128pp
3. Al-Harbi, A.H., Uddin, N., 2003. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of

- bacterial flora associated with zooplankton culture in tanks fertilized with chicken manure, Annual Report National Institute fresh water fish Research (Nigeria), pp. 106 - 120.
26. Pillay, T.V.R., 1990. Fish and Public Health and Disease. In: Aquaculture, Principal and Practices. Fishing News Book, Farham, Uk, pp. 174 – 215.
  27. Reilly, A., Kaferstein, F., 1999. Food safety and products from aquaculture. Journal of Applied Microbiology Symposium, 85, pp. 249S-257S.
  28. Sabir Ali, S.K., Sasmal, S., Chair, M.S., Das, S., 2007. Effect of cattle urine on the population growth of Rotifer (*Brachionus calyciforus*). Journal of Agriculture, 12, pp. 64-68.
  29. Sugita, H., Tokuyama, K., Deguchi, Y., 1985. The intestinal microflora of Carp, *Cyprinus carpio*, Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella* and Tilapia, *Sarotheradon niloticus*. Bulletin of the Japan Society of Scientific Fisheries, 51, pp. 1325-1329
  30. Surendraraj, A., Sabeena Farvin, K.H., Yathavamoorthi, R., Thampuram, N., 2009. Enteric bacteria associated with farmed freshwater fish and its culture in Kerala, India, Research Journal of Microbiology, 3, pp. 334 - 344.
  31. Swift, D.R., 1993. Aquaculture Training Manual, 2<sup>nd</sup> edn. Fishing News Books, GardenWalk Farnham, Surrey, UK, 158 p.
  32. Uddin, N., Al-Harbi, A.H., 2012. Bacterial flora of polycultured Common Carp (*Cyprinus carpio*) and African Catfish (*Clarias gariepinus*). International Aquatic Research, 4, pp. 10 – 18.
  33. Vijayaraghavan, K., Ahmad, D., Bin Ibrahim M.K., Binti Herman, H.N., 2006. Isolation of hydrogen generating microflora from Cow dung for seeding anaerobic digester, International Journal of Hydrogen Energy, 31(6), pp. 708-720.
  34. Wu, S., Gao, T., Zheng, Y., Wang, W., Cheng, Y., Wang, G., 2010. Microbial density of intestine contents and mucus in Yellow Catfish (*Pelteobogrus fulvidraco*). Aquacultur, 303, pp. 1 – 7
  35. Zar, J.H., 1994. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, 662 p.
  36. Zhu, Y., Yang, Y., Wan, J., Hua, D., Mathias, J. A., 1990. The effect of manure application rate and frequency on fish yield in integrated fish farm ponds. Aquaculture, 91, pp. 233 – 251.
  16. Jie-yi, D., Xianzhen, G., Xiu-zhen, F., Meizhen, L., Wen-you, Z., 1988. Preliminary studies on the effect of livestock manure application on bacterial fish disease and human hygiene, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC271E/AC271E00.htm>.
  17. Joanna, K., Iozabella, Z., Iwona, G., 2005. Potentially pathogenic bacteria in water and Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri*) × Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) hybrids in a closed water cycle, Bulletin of Sea Fisheries Institute. 3(206).
  18. Kang'ombe, J., Brown, J.A., Halfyard, L.C., 2006. Effect of using different types of organic animal manure on plankton abundance, and on growth and survival of *Tilapia rendalli* (Boulenger) in ponds. Aquaculture Research, 37, pp. 1360-1371.
  19. Knud-Hansen, C.F., 1998. Pond Fertilization: Ecological Approach and Practical Application. Pond Dynamics/Aquaculture Collaborative Research Support Program. Oregon State University, Corvallis, OR, USA, 125 p.
  20. Kuznestov, Y.A., 1977. Consumption of bacteria by the Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), Journal of Ichthyology, 17, pp. 398 – 403.
  21. Moav, R., Wohlfarth, G., Schroeder, G.L., Hulata, G., Barash, H., 1977. Intensive polyculture of fish in freshwater ponds, 1. Substitution of expensive feeds by liquid Cow manure. Aquaculture, 10: 25 – 43
  22. Ogbondeminu, F.S., Adeniji, H. A., 1987. Microbial ecology of aquaculture system: 1: Changes in populations of bacterial communities in a fertilized fish pound in Kainji Lake area. Annual conference and general meeting of the ecological society of Nigeria, New Busa, pp. 17 – 20.
  23. Ogbondeminu, F.S., Okaeme, A.N., 1989. Comparative analysis of bacterial flora associated with water and fish manured pond. Bioscience Research Community, 1, pp. 103 – 108.
  24. Ogbondeminu, F.S., Ovies, S.I., Adeniji, H.A., 1990. Development of heterotrophic bacterial community in outdoor ponds treated with fermented animal waste for natural fish food production. Annual Report National Institute Fresh water fish Research, Nigeria, pp. 30 – 62.
  25. Ogbondeminu, F.S., 1994. Microbiological studies of aquaculture tanks treated with organic manure in Kainji Lake area. 3. Quantitative and qualitative analyses of