بررسی فلور باکتریایی فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) قبل و پس از رهاسازی در قفس دریای خزر

جلیل جلیل‌پور[1*]
علی‌رضا شناور ماسوله[2]
مهدی علی‌زاده[3]
مهدی معصوم‌زاده[4]
سهیل بازاری مقدم[5]
محمدرضا مهرابی[6]

۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، رشت، ایران

***مسئول مکاتبات:**
tjalilpoor@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

با توجه به اهمیت پرورش ماهیان خاویاری در راستای تولید گوشت و خاویار بررسی وضعیت بهداشتی و شناسایی انواع عوامل بیماری‌زا و به خصوص عوامل باکتریایی در محیط‌های مختلف پرورشی به منظور کسب اطلاعات از وضعیت موجود و اتخاذ بهترین روش‌های پیشگیری و درمان ضروری می‌باشد. در این مطالعه، عوامل باکتریایی آب پرورشی، پوست و آبشش فیل ماهیان پرورشی قبل از انتقال در مرکز بازسازی ذخایر شادروان دکتر یوسف‌پور با میانگین وزنی ۲۷/۵±۱۰۳/۴۰ گرم و پس از انتقال به قفس در دریا از خرداد تا دی ماه سال ۱۳۹۰ تعیین گردید. در آزمایشگاه پس از انجام عملیات شستشوی سطحی با سرم فیزیولوژی در شرایط استریل، ۱ سانتی‌متر مربع از پوست و ۱ گرم از آبشش بچه‌ماهیان نمونه‌برداری گردید. جهت شمارش بر اساس واحد تشکیل کلونی CFU (تعداد کلنی در واحد) اقدام به تهیه محلول هموژن و تهیه رقت‌ها گردید. کشت اولیه بر روی محیط کشت باکتریایی TSA انجام شد. به منظور خالص‌سازی و شناسایی باکتری‌ها علاوه بر استفاده از روش‌های شناسایی استاندارد باکتری‌ها از کیت تشخیصی api 20E استفاده شد. بر اساس نتایج میزان لگاریتم شمارش باکتریایی آب پرورشی (آب شیرین رودخانه) قبل از انتقال ماهیان به قفس در حوضچه‌های بتنی ۵/۸۴ –۵/۸۰ در میلی‌لیتر، آبشش ماهیان ۳/۴۱– ۳/۲۸ در گرم و دامنه شمارش باکتریایی پوست ۵/۵۸– ۵/۳۶ در سانتی‌متر مربع بوده است. دامنه لگاریتم شمارش باکتریایی آب پرورشی در محیط دریا ۵/۹۲ – ۳/۹۷ در میلی‌لیتر، پوست ۵/۴۱ – ۳/۷۴ درسانتی‌متر مربع و آبشش ۳/۴۰–۲/۰۱ در گرم تعیین گردید. ایزوله‌های جداسازی شده از ماهی و آب پرورشی قبل و بعد از رهاسازی شامل Enterobacteriaceae، *Aeromonas* sp.، *Pseodomonas* sp.، *Acinetobacter* spp.، *Staphylococcus* sp.، *Halomunas* sp. و *Shewanella* sp. بودند. هدف از این بررسی شناسایی عوامل هاموژن باکتریایی و نیز بررسی میزان تاثیر احتمالی آن‌ها در بروز بیماری و تلفات پرورش ماهیان خاویاری در قفس بوده است.

واژگان کلیدی: فیل ماهی، دریا، شمارش کلی، فلور باکتریایی، پرورش.

مقدمه

با توجه به مزایای پرورش ماهی در قفس مانند سهولت کار نسبت به استخرهای خاکی و بتونی در احداث و در اجرا، کاهش هزینه و تولید بیش‌تر در واحد سطح، استفاده بهینه از منابع آب‌های طبیعی و نیمه طبیعی با توان تولید پایین، توجه دقیق به مدیریت بهداشتی به خصوص در امر پیشگیری و کنترل بیماری‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بر اساس نظر مالکوم و بوریچ (۱۳۸۰) علاوه بر انتخاب صحیح ماهیان عاری از بیماری و سالم با رعایت دقیق اصول قرنطینه و انتقال به محیط دریا شناسایی کامل عوامل میکروبی در محیط پرورشی (دریا) در امر پیشگیری و یا کنترل عوامل بیماری‌زای احتمالی بسیار حائز اهمیت می‌باشند. تاکنون مطالعاتی در خصوص بررسی بهداشتی ماهیان

Archive of SID
www.SID.ir

خاویاری پرورشی در قفس در دریای خزر صورت نپذیرفته است. بر اساس گفته سلطانی (۱۳۷۹) مطالعات به عمل آمده طی دهه اخیر در خصوص پرورش این ماهیان تا مرحله انگشت‌قدی در مراکز پرورشی ایران و برخی کشورهای حاشیه دریای خزر و یا به صورت پرواری در سایر نقاط دنیا، حاکی از ابتلای این ماهیان به برخی عفونت‌های باکتریایی بوده است که از آن جمله می‌توان به عفونت‌های ناشی از فلکسی باکتریوزیس، ویبریوزیس، یرسینیوزیس، اپی‌تلیوسیستیس در برخی نواحی فرانسه و همچنین سپتی‌سمی ناشی از آئروموناس هیدروفیلا در ایران اشاره نمود. در ارتباط با شناسایی عوامل بیماری‌زای باکتریایی در تخم، لارو و بچه‌ماهیان خاویاری می‌توان به مواردی در این خصوص اشاره نمود. در مطالعات صورت انجام شده توسط Brun و همکاران (۱۹۹۱) باکتری‌های *یرسینیا راکری*، *ویبریو آنگوئیلاروم* و *فلکسی باکتر کولومناریس* و توسط Lartseva (۱۹۹۲) باکتری‌های آئروموناس ، انتروباکتریاسه‌ها وسودوموناس‌ها جداسازی گردید. مطابق مطالعات صورت پذیرفته توسط شناور وهمکاران (۱۳۸۰– ۱۳۷۹) و Shenavar و همکاران (۲۰۰۶) از بچه ماهیان خاویاری باکتری‌هایی چون موراکسلا، کلبسیلا، اسینه توباکتر، آئروموناس، یرسینیا، سودوموناس و قارچ‌هایی چون فوزاریوم، پنی سیلیوم، رایزوپوس و آسپرژیلوس جداسازی شد.

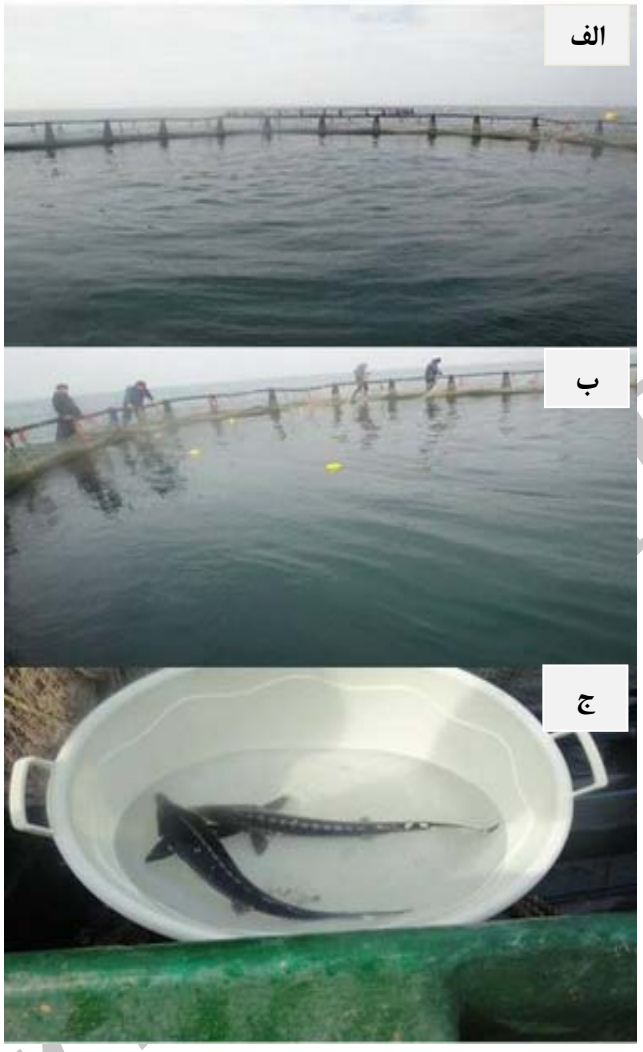
در مطالعه سفلائی (۱۳۷۸) از بچه‌ماهیان خاویاری باکتری‌هایی نظیر آئروموناس (Aeromonas)، سودوموناس (Pseudomonas)، کلبسیلا و یرسینیا را جدا نمود. هدف از این مطالعه بررسی کمی، جداسازی و شناسایی عوامل باکتریایی موجود و تشکیل بانک میکروبی در دو محیط پرورشی آب شیرین و آب دریای خزردرگونه فیل ماهی بوده است تادر آینده با انجام مطالعات تکمیلی درشرایط آزمایشگاهی میزان تاثیر احتمالی آن‌ها در بروز بیماری و تلفات در پرورش ماهیان خاویاری در قفس مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دو مرحله انجام شد: در مرحله اول و در خرداد ماه سال ۱۳۹۰ تعداد ۶۰ عدد فیل ماهی با میانگین وزنی ۲۷/۵±۱۰۳/۴۰ گرم و میانگین طول ۵/۰۶±۲۷/۶۴ سانتی‌متر که درحوضچه‌های بتنی با آب شیرین مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل نگه‌داری می‌شدند به صورت تصادفی نمونه‌برداری گردید. در مرحله دوم پس از انتقال فیل ماهیان پرورشی به قفس شناور دریایی (نوع SCD و از جنس پلی اتیلن به قطر ۲۰ متر و ارتفاع ۸ متر و در فاصله ۷۰۰۰ متری ساحل و در عمق ۵۰ متری دریا در منطقه جفرود شهرستان بندر انزلی) هر ماهه از شهریور سال ۱۳۹۰ به صورت تصادفی توسط تور پره ۳۰ تا ۴۰ عدد ماهی با میانگین وزن ۱۴/۵۱±۲۹۴و طول۰/۸۸±۴۱/۶۴ در شهریور و میانگین وزن ۱۴۱/۲۰±۹۳۰/۶۶ گرم و طول ۳/۳۲±۵۶/۴ سانتی‌متر در پایان مطالعه (دی ماه سال ۱۳۹۰) صید و پس از بررسی‌های ظاهری و زیست سنجی تعداد ۳ تا ۵ عدد ماهی توسط بسکت حاوی آب محیط پرورشی و مجهز به کپسول اکسیژن به آزمایشگاه منتقل می گردید (شکل ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

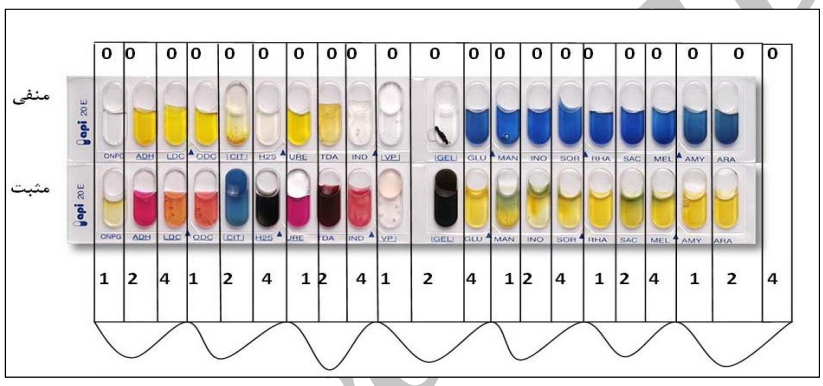


شکل۱: محل استقرار قفس های مدور پلی اتیلنی در دریا (الف) نحوه صید (ب) و ماهیان پرورشی (ج).

در آزمایشگاه وجهت تعیین شمارش باکتریایی بر اساس CFU (تعداد کلنی در واحد)، پس از شست‌وشوی سطحی ماهیان با سرم فیزیولوژی در شرایط استریل ۱ سانتی متر مربع از پوست و ۱ گرم از آبشش بچه‌ماهیان طبق روش کار Okoro و همکاران (۲۰۱۰)، Slaby (۱۹۸۱) به وسیله اسکالپل و قیچی استریل نمونه‌برداری انجام گردید. نمونه‌های پوست و آبشش با سرم فیزیولوژی استریل (۰/۹ درصد) شست‌وشو داده و سپس در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل محلول هموژن تهیه گردید. جهت کشت آب ۵۰ میلی‌لیتر از آب پرورشی به وسیله روتنر از عمق ۱۰ متر (عمق زیست ماهیان پرورشی) در سه تکرار منطقه‌ای در اطراف قفس نمونه‌برداری گردید. طبق روش Baron (۱۹۹۰) و Finegold (۱۹۹۰) رقت‌های تهیه شده از 10^{-1} تا 10^{-7} سلول در واحد (میلی‌لیتر یا سانتی‌متر مربع) بود. بدین منظور در ۷ لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اقدام به تهیه رقت گردید. پس از تهیه رقت‌های لازم (10^{-1} تا 10^{-7}) ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌ها به وسیله سمپلر بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) برای محیط آب شیرین و تریپتیک سوی آگارحاوی نمک ۶ درصد برای محیط دریا با ۳ تکرار به روش کشت سطحی تلقیح انجام داده و پلیت‌ها در دمای ۲۵- ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵-۳ روز در انکوباتور مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از انجام کشت اولیه و انکوباسیون، در محیط‌هایی که پرگنه‌های باکتری رشد نمودند اقدام به کشت ایزولاسیون

www.SID.ir

و خالص‌سازی پرگنه‌ها بر اساس رنگ، اندازه و خصوصیات مورفولوژی گردید. جهت شناسایی از کیت تشخیصی api 20E با آرم تجاری BIOMERIEUX ساخت کشور فرانسه استفاده شد (شکل ۲). این کیت حاوی ۱۰۰ عدد استریپ که از ۲۰ لوله کوچک (micro tubes) محتوی سوبسترای دی‌هیدراته و معرف‌های ویژه می‌باشد. جهت کشت پس از تهیه یک سوسپانسیون هموژن باکتریایی از کلونی ایزوله شده با استفاده از سمپلر اقدام به پرکردن چاهک‌های (Tubes) روی استریپ گردید. سپس استریپ‌های کشت داده شده درانکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸تا۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از این مرحله با خارج کردن جعبه انکوباسیون درپوش آن را برداشته وابتدا نتیجه آزمایش‌های خود به خودی مانند قندها و سپس تست‌هایی که نیاز به معرف دارند را انجام داده (شکل ۳) و نتایج در برگه گزارش ثبت شد. پس از انجام تست مطابق دستورالعمل ارائه شده با استفاده از شاهد رنگی مثبت و منفی اقدام به خواندن و ثبت امتیازهای عددی می‌شد که نتیجه آن یک کد هفت رقمی ، و با ورود این کد در برنامه نصب شده کیت، پس از اتصال به اینترنت و به صورت آنلاین نام باکتری مشخص شد.



شکل ۲: استریپ‌های منفی و مثبت کیت api 20E.

همچنین آزمایش‌های تکمیلی بیوشیمیایی شامل اکسیداز، کاتالاز، تحرک، اکسیداسیون و احیاء، اندول، آزمایش‌های دکربوکسیله کننده شامل آرژنین، لیزین، اورنتین و آزمایش‌های هیدرولیز کننده طبق روش‌های سلطانی (۱۳۷۵)، Holt و Krieg (۱۹۹۴) و Austin (۱۹۹۳) انجام شد (شکل ۳).

شکل ۳: نتایج کشت‌های تشخیصی

www.SID.ir

کلیه داده‌های به دست آمده توسط نرم افزارهای آماری Excel نسخه ۲۰۰۷ و Spss نسخه ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. جهت مقایسه میزان میانگین شمارش کلی باکتری‌ها در فاز قبل و پس از انتقال به قفس و همچنین مقایسه میزان شمارش کلی باکتری‌ها در پوست، آبشش و آب بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد.

نتایج

میزان لگاریتم شمارش باکتریایی آب پرورشی در حوضچه‌های بتنی مرکز دکتر یوسف پور ۵/۸۲±۰/۰۷۸ در میلی‌لیتر تعیین گردید. همچنین میانگین لگاریتم شمارش باکتریایی آبشش ماهیان مورد بررسی ۰/۲۲± ۳/۳۵ در گرم و میانگین لگاریتم شمارش باکتریایی پوست ماهیان مورد بررسی ۰/۱۶ ±۵/۴۶ در سانتی‌متر مربع تعیین گردید. طبق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه به منظور مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی درآب، آبشش و پوست بچه‌ماهیان در حوضچه‌های بتنی با آب شیرین مرکز شادروان یوسف پور سیاهکل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما میزان شمارش باکتریایی آبشش به طور معنی‌داری کم‌تر از میزان شمارش باکتریایی پوست و آب پرورشی بوده است (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱: مقاسیه میانگین لگاریتم شمارش باکتری‌ها در پوست (سانتی‌متر مربع)**، آبشش** (گرم) **و آب پرورشی** (میلی‌لیتر) **قبل از معرفی بچه ماهیان به قفس.**

مکان / نمونه	حوضچه ۱	حوضچه ۲	حوضچه ۳
پوست (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر سانتی‌متر)	۵/۳۶±۰/۰۹۷$^{a\ B}$	۵/۵۸±۰/۱۵$^{a\ B}$	۵/۴۴±۰/۱۹$^{a\ B}$
آبشش (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر گرم)	۳/۴۱±۰/۳۶$^{a\ A}$	۳/۲۸±۰/۱۱$^{a\ A}$	۳/۳۶±۰/۲۱$^{a\ A}$
آب (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر میلی‌لیتر)	۵/۸۰± ۰/۱۳$^{a\ B}$	۵/۸۳± ۰/۰۵۴$^{a\ B}$	۵/۸۴±۰/۰۵۶$^{a\ B}$

*حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد.

*حروف غیر همنام لاتین بزرگ در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد.

همچنین میانگین لگاریتم شمارش باکتریایی در آب، پوست و آبشش بچه‌ماهیان پس از معرفی به قفس دریا در ماه‌های شهریور تا دی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در این ارتباط و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن، میانگین شمارش کل باکتریایی در ماه‌های مورد بررسی روند کاهشی داشته است و در دی ماه در آب، پوست و آبشش از کم‌ترین مقدار برخوردار بوده و اختلاف معنی‌داری با میانگین شمارش باکتریایی ماه‌های شهریور، مهر و آبان مشاهده شده است (P<۰/۰۵) (جدول ۲). همچنین در مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی درآب دریا با پوست و آبشش بچه‌ماهیان پس از معرفی به قفس دریا نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد و میزان آن در کلیه ماه‌ها به ترتیب در آب و پوست بیش از آبشش بوده (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲: مقاسیه میانگین لگاریتم شمارش باکتری‌ها در پوست (سانتی‌متر مربع)**، آبشش** (گرم) **و آب پرورشی** (میلی‌لیتر) **در ماه‌های مختلف در قفس دریا.**

زمان / نمونه	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی
پوست (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر سانتی‌متر)	۵/۹۲±۰/۰۹۰$^{c\ C}$	۵/۶۶±۰/۱۷$^{b\ B}$	۵/۴۱±۰/۱۰$^{b\ B}$	۴/۱۹±۰/۱۳$^{a\ B}$	۳/۹۷±۰/۰۶۹$^{a\ B}$
آبشش (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر گرم)	abc B ۴/۷۰±۰/۵۸	bc B ۵/۱۶±۰/۲۰	c B ۵/۴۱±۰/۴۱	ab B ۴/۲۷±۰/۲۸	۳/۷۴±۰/۱۱$^{a\ B}$
آب (لگاریتم واحد تشکیل کولنی بر میلی‌لیتر)	۳/۰۲±۰/۳۷^{bA}	۳/۴۰±۰/۳۶$^{b\ A}$	۳/۱۵±۰/۱۶$^{b\ A}$	۳/۱۶±۰/۲۲$^{b\ A}$	۲/۰۱±۱/۷۴$^{a\ A}$

*حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد.

*حروف غیر همنام لاتین بزرگ در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد.

از نظر درصد فراوانی باکتری‌ها درحوضچه‌های بتنی مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل و قبل از معرفی به قفس در محیط دریا از ۵ ایزوله جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی بیشترین فراوانی مربوط به جنس Enterobacteriaceae با ۳۷/۵ درصد و کمترین فراوانی مربوط به *Aeromonas* sp.، *Acinetobacter* sp و *Staphylococcus* با ۱۲/۵ درصد بود. همچنین در آب پرورشی از ۶ ایزوله بیشترین فراوانی مربوط به مربوط به جنس Enterobacteriaceae با ۵۰ درصد و کمترین آن مربوط به . *Aeromonas* sp و *Pseodomonas* sp با ۷/۱۴ درصد بوده است. در این ارتباط و بر اساس نتایج حاصل از تعیین فراوانی باکتری های جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی در قفس دریا از ۶ ایزوله جداسازی شده *Pseodomonas luteola* و *Acinetobacter baumanni* با ۲۳/۵۳ درصد دارای بیشترین فراوانی و *Acinetobacter caloacetiicus* با ۵/۸۸ درصد از کمترین فراوانی برخوردار بود.

همچنین در آب پرورشی محیط دریا از ۸ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراوانی مربوط به مربوط به جنس .*Halomunas sp* با ۳۱/۸۱ درصد و کمترین آن مربوط به Enterobacteriaceae و *Pseodomonas luteola* با ۴/۵۵ درصد بوده است (جدول ۳).

جدول ۳: فلور باکتریایی جداسازی شده آب پرورشی و ماهی قبل و پس از معرفی به قفس.

	ماهی		آب پرورشی		ماهی		آب دریا	
گونه های باکتریایی	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Enterobacteriaceae	۳	۳۷/۵	۷	۵۰	۲	۱۱/۷۶	۱	۴/۵۵
Aeromonas	۱	۱۲/۵	۱	۷/۱۴	-	-	-	-
Pseodomonas sp.	۲	۲۵	۱	۷/۱۴	۳	۱۷/۶۵	۲	۹/۰۹
Pseodomonas luteola	-	–	-	–	۴	۲۳/۵۳	۱	۴/۵۵
Pseodomonas fluorecenns	-	–	-	–	۳	۱۷/۶۵	۲	۹/۰۹
Acinetobacter	۱	۱۲/۵	۲	۱۴/۲۹	-	-	-	-
Acinetobacter baumanni	-	–	-	–	۴	۲۳/۵۳	۱	۴/۵۵
Acinetobacter caloaceticus	-	–	-	–	۱	۵/۸۸	۲	۹/۰۹
Staphylococcus	۱	۱۲/۵	۳	۲۱/۴۳	-	-	-	-
Halomonas sp.	-	-	-	-	-	-	۷	۳۱/۸۱
Shewanella sp.	-	-	-	-	-	-	۶	۲۷/۲۷
جمع کل	۸	۱۰۰	۱۴	۱۰۰	۱۷	۱۰۰	۲۲	۱۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات قبلی در خصوص میزان لگاریتم شمارش باکتریایی گونه بچه تاس‌ماهی ایرانی در مرکز بازسازی ذخایر شهید بهشتی استان گیلان و آب پرورشی توسط مشتاقی و همکاران (۱۳۸۹) و فتح‌اللهی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که مقادیر آن (۵ واحد در میلی‌لیتر) با تحقیق حاضر مطابقت دارد ولی در مطالعه سهیل‌نقشی و همکاران (۱۳۸۸) و موذن‌زاده و همکاران (۱۳۸۷) میزان لگاریتم شمارش باکتری‌ها در آب پرورشی (۴/۸۷– ۴/۶۳ در میلی‌لیتر) کم‌تر بوده است. در بررسی‌های انجام شده توسط فتح‌اللهی و همکاران (۱۳۸۸) و مشتاقی و همکاران (۱۳۸۹) مشخص گردیدکه لگاریتم شمارش باکتری‌ها در آبشش در محدوده ۳/۸۹– ۳/۳۴ در گرم بوده است که این مقادیر با تحقیق حاضر مطابقت دارد. ولی در بررسی سهیل‌نقشی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی گونه تاس‌ماهی ایرانی، Okoro و همکاران(۲۰۱۰) و Hakkimane و Rathod (۲۰۱۱) در آبزیان لگاریتم شمارش باکتریایی بیشتر بوده (۵/۲۳–۴/۲۶ در گرم) و در گزارش مروری Cahill (۱۹۹۰) در آبزیان لگاریتم شمارش باکتریایی آبشش دردامنه ۵/۱۵– ۲ در گرم بیان شده است. در تحقیق حاضر نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های پوست در مشخص گردید که میزان لگاریتم شمارش فلور باکتریایی پوست با مطالعات سهیل‌نقشی و همکاران (۱۳۸۸) و موذن‌زاده و همکاران (۱۳۸۷) ۵/۸۱–۵/۵۳ سانتی‌متر مربع مطابقت دارد، ولی در گزارش Cahill (۱۹۹۰) میزان کم‌تری از لگاریتم شمارش باکتریایی پوست در ماهیان (۴/۵۴ – ۱/۶۹ در سانتی‌متر مربع) اشاره شده است. نتایج حاصل از میانگین شمارش باکتری‌ها در آب، پوست و آبشش بچه‌ماهیان درقفس طی شهریور تا دی بطور معنی‌داری ($P<0/05$) روند کاهشی داشته است که احتمالاً با کاهش دمای آب و بالطبع تغییر شرایط تکثیر باکتری‌ها همراه بوده است. ایزوله‌های جداسازی شده از ماهی و آب پرورشی قبل از رهاسازی شامل Enterobacteriaceae، *Aeromonas sp*، *Pseodomonas* sp، *Acinetobacter sp* و *Staphylococcus* بودند و ترکیب فلور باکتریایی موجود در پوست با آب پرورشی مطابقت دارد و این موضوع مشخص می‌کند که فلور سطحی ماهی انعکاسی از میکروفلور محیطی آن‌ها است (Cahill, 1990).

بر اساس گزارش ابوالقاسمی (۱۳۸۹) از پوست ماهیان پرورشی خاویاری در آب شیرین و لب‌شور باکتری‌هایی از جنس *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Pseudomonas*، *Staphylococcus* و Enterobacteriaceae جداسازی گردید که با باکتری‌های جداسازی شده در این بررسی مطابقت دارد. در مطالعه سهیل‌نقشی و همکاران (۱۳۸۸)، فلور باکتریایی از جنس *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Psuedomonas*، *Staphylococcus* و Moraxella از پوست و آبشش بچه‌ماهیان خاویاری مورد جداسازی و شناسایی قرار گرفت که به جز باکتری Moraxella در سایر باکتری‌ها مشابهت دارد. برخی مطالعات انجام گرفته در سایر نقاط دنیا نیز نشان داد که باکتری‌های *Aeromonas*، *Pseudomonas*، *Enterobacteriaceae*، *Vibrio*، *Streptococcus* و *Flavobacterium columnaria* بطور معمول از تاس‌ماهیان مورد جداسازی قرار گرفته‌اند (Brun *et al*., 1991, Floyd *et al*., 2000). در سایر گونه‌ها نظیر کفال‌ماهی (*Liza falcipinnis*) و گیش‌ماهیان کاذب (*Lactarius lactarius*) نیز باکتری‌های *Pseudomonas*، *Acinetobacter*، *Lactobacillus*، *Corynebacterium*، *Micrococcus*، *Flavobacterium*، *Bacillus*، *Streptococcus*، *Artherobacter*، *Aeromonas*، *Vibrio* و *Alcaligens* از پوست و آبشش گزارش گردید (Okoro *et al*., 2010; Hakkimane and Rathod, 2011).

ایزوله‌های جداسازی شده از فیل ماهیان و آب پرورشی در قفس دریا شامل Enterobacteriaceae و باکتری‌هایی از جنس *Pseodomonas*، *Acinetobacter*، *Halomunas* و *Shewanella* بوده است. با توجه به سوابق بیماری‌زایی برخی از سوش‌های باکتری‌های *Acinetobacter* و *Pseudomonas* در آب شور (Toranzo *et al*., 2005; Pandey *et al*., 2011) و جداسازی این باکتری‌ها در بررسی حاضر در محیط‌های آب شیرین و دریایی، مطالعات تکمیلی در خصوص بیماری‌زایی آن‌ها در شرایط دریایی ضروری است. در مطالعه حاضر مشخص گردید که برخی از عوامل بیماری‌زای فرصت طلب عفونی باکتریایی در هر دو محیط مورد مطالعه می‌توانند قابلیت ایجاد شرایط باکتریمی عفونی داشته باشند که از اندام‌های داخلی و خارجی مورد جداسازی قرار گرفته‌اند که این عوامل در شرایط استرس‌زا می توانند ایجاد بیماری و تلفات نمایند (Toranzo *et al*.,2005). با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و ماهیت بیماری‌زایی

Archive of SID
www.SID.ir

برخی از باکتری‌های جداسازی شده و تشکیل بانک میکروبی پیشنهاد می‌گردد که مطالعات گسترده‌تری در زمینه شناسایی سویه‌های جدید با روش تشخیص مولکولی و همچنین بررسی عفونت‌های تجربی آنها صورت پذیرد تا آمادگی لازم جهت پیشگیری، و اتخاذ روش‌های درمانی مناسب و کنترل بیماری‌های احتمالی در شرایط پرورش در قفس حاصل شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی ریاست محترم وقت و جناب آقای دکتر محمود بهمنی ریاست محترم موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، جناب آقای دکتر مهدی‌نژاد مجری محترم طرح به منظور پیگیری و مساعدت در انجام این تحقیق قدردانی و تشکر بعمل می‌آید. از جناب آقایان دکترعیسی شریف پور، دکتر سید جلیل ذریه زهرا، دکتر ابوالفضل سپهداری و دکتر نظام آبادی از بخش بهداشت و بیماری‌های موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و از مدیریت محترم مرکز بازسازی ذخایر دکتر یوسف‌پور جناب آقای مهندس عفت پناه و مهندس اسحق رسولی جهت همکاری در نمونه‌برداری تشکر بعمل می‌آید. از آقای حجت سعیدی ریاست محترم و مهندس بیگتن معاونت محترم اداره کل شیلات استان گیلان و همکاران محترم آن اداره کل جناب آقای مهندس محمد حسن طلوعی و مهندس فلاح شمالی که از نظرات ارزشمندشان در مراحل مختلف نمونه‌برداری بهره گرفته شده است، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

ابوالقاسمی، س. ج.، سلطانی، م.، پور کاظمی، م.، شریف پور، ع.، جلالی جعفری، ب. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۸. شناسایی وجدا سازی باکتری‌های موجود در ضایعات خارجی ماهی پرورشی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی. مجله علمی- پژوهشی شیلات، واحد آزاد شهر. صفحات ۹۸-۸۹.

سلطانی، م.، ۱۳۷۵. بیماری‌های باکتریایی ماهی (ترجمه). انتشارات سازمان دامپزشکی کشور با همکاری موسسه نشر جهاد، ۴۵۴ ص.

سهیل‌نقشی، س.، زمینی، ع. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۸. بررسی مقایسه‌ای اثرات داروهای 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، ۹۲ ص.

سفلایی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی‌باکتری‌های گرم منفی غالب در تاس ماهیان سد سنگر. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۴ ص.

سلطانی، م.، ۱۳۷۹. ایمن‌سازی ماهی قره‌برون بر علیه باکتری آئروموناس هیدرفیلا. گزارش نهایی پروژه، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۹ص .

شناور ماسوله، ع، سلطانی، م.، معصومیان، م.، ابراهیم زاده موسوی، ح.، جلیل‌پور، ج. و سیف‌زاده، م.، ۱۳۷۹. گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه‌ماهیان خاویاری (بخش کنترل کیفی)، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۶۵ ص.

شناور ماسوله، ع.، سلطانی، م.، معصومیان، م.، ابراهیم زاده موسوی، ح. و جلیل‌پور، ج.، ۱۳۸۰. گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه‌ماهیان خاویاری (بخش کنترل کیفی). موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۶۸ ص.

فتح الهی، ر.، خارا، ح.، پژند، ذ. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۹. تعیین حد کشندگی متیلن بلو و کلرید سدیم و تاثیر آنها بر وضعیت میکروبی پوست و آبشش و بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت آبشش و کبد بچه تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد. مهندسی منابع طبیعی-شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۸۷ ص.

مشتاقی، ب.، نظامی، ب.، پژند، ذ. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۹. تعیین حد کشندگی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم و تاثیر آن‌ها بر وضعیت میکروبی پوست و آبشش و هیستوپاتولوژیکی بافت آبشش بچه تاسماهیان ایرانی(*Acipenser persicus Borodin,1897*). پایان نامه کارشناسی ارشد. شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۹۸ ص.

مالکوم، سی.، ام. و بوریج، ام.، ۱۳۸۰. پرورش آبزیان در قفس، ترجمه غلامرضا شیرازی، اداره کل آموزش و ترویج، ۳۸۴ ص.

موذن زاده، ک.، زمینی، ع.، وهاب زاده رودسری، ح. و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۷. ارزیابی کارآیی داروی هیدروکردر ضد عفونی بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) به منظور کاهش بارمیکروبی وبررسی تاثیر آن برکیفیت آب. پایان نامه کارشناسی ارشد. شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۸۶ ص.

Archive of SID
www.SID.ir

Austin, B. and Austin, D. A., 1993. Bacterial Fish pathogens: Disease in Farmed and Wild fish. 2nd Edition, Ellis Horwood Ltd press. Chichester, 376 p.

Baron, E. J. and Finegold, S. M., 1990. Diagnostic microbiology. 8th Edition, Mosby Comp press, 861 p.

Brun, R., Nougayrede, P., Chene, P., Vuillaume, A. and Crespeau, F., 1991. Bilan sanitaire de 2 ans d'elevage d'*Acipenser baeri* en piscicultures intensives. In: Acipenser: Actes Du Premier Colloque International Sur l'Esturgeon (ed. by P. Williot), pp. 429-437.

Bruno, D. W. and Poppe, T., 1996. A colour Atlas of Salmonid Diseases. Academic press, 211 pp.

Cahill M. M., 1990. Bacterial flora of fishes: a review. Microbial Ecology, 19:21-41.

Collee, J. G., Duguid, J. P., Fraser, A. G. and Marmion, B. P., 1989. Practical Medical Microbiology. 13th Edition, Vol.2, produced by Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd press, 910 p.

Floyd, R. F., 2000. Disease History of Cultured Sturgeon in Florida, 1990-1999.Florida sturgeon culture risk assessment workshop. pp. 33-37.

Hakkimane, S. S. and Rathod, J. L., 2011. Isolation and enumeration of bacterial flora in false trevally, *Lactarius lactarius* of karwar, cnteral west coast of India. Indian jurnal of geo marine Science, Vol. 40 (4), 583-586.

Holt, J. and Krieg, N., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition, The Williams comp press, 787 p.

Lartseva, L. V., 1992. Microbiological monitoring of sturgeon (acipenseridae in the Volga delta). Joyrnal of applied ichthyology, 15: 291-292.

Manual of Diagnostic tests for Aquatic Animal, Diseases of fish, 2003. Office International Epizootics (O. I. E). 12, rue de Prony, 75017 Paris, FRANCE.ISBN 92-9044-563-7. 224 p.

Okoro, C. C., Aboaba, O. O. and Babajide, O. J., 2010. Quality Assessment of a Nigerian Marine Fish, Mullet (*Liza falcipinnis*) under different Storage Conditions. New York Science Journal, 3(8). 29-36.

Shenavar, M. A., Sharifpour, I. and Shojaei, A. A., 2006. The aerobic Bacterial flora of hatchery reared Caspian sea Sturgeon fingerlings. Journal of Ichthyology, 22, 261-264.

Slaby, B. M., Martin, R. E. and Ramsdell, G. E., 1981. Reproducibility of Microbiological counts on frozen Cod: A collaborative study. Journal of Food Science, 46(3):716-719.

Toranzo, A. E., Magarinos, B. and Romalde, J. L., 2005. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. Aquaculture, 24, 37– 61.

Archive of SID

www.SID.ir