Archive of SID

شناسایی فلور باکتریایی روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) در استخرهای خاکی مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی استان گیلان

مهدی علیزاده*[۱]، مسعود ستاری[۲]، علیرضا شناور ماسوله[۳]، حسین خارا[۴]، جلیل جلیل پور[۵]، سهیل بازاری مقدم[۶]، مهدی معصوم زاده[۷]

۱*و ۴- دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، صومعه سرا، ایران، صندوق پستی: ۱۱۴۴

۳، ۵، ۶و ۷- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

ana_alizadeh2003@yahoo.com

چکیده

هدف این مطالعه بررسی و شناسایی فلور باکتریایی روده بچه تاسماهیان می باشد که نتایج آن می تواند در بکارگیری روشهای مدیریت بهداشتی این گونه در طی پرورش در استخرهای خاکی مورد استفاده قرار گیرد و به لحاظ اقتصادی و حفظ نسل این ماهیان حائز اهمیت باشد. ثبات جمعیت باکتریایی روده ماهیان از آن جهت حائز اهمیت است که روده ماهیان جایگاه مهمی از نقطه نظر بروز عفونتهای میکروبی و بیماری ماهیان به شمار می آید بویژه در زمانیکه استفاده از عملیات واکسیناسیون وجود نداشته باشد. عملیات نمونه برداری از تعداد ۹۰ عدد بچه تاسماهیان ۵-۳ گرمی از استخرهای خاکی توسط تور ترال به صورت تصادفی صورت گرفت، پس از زیست سنجی اقدام به کشت روده و آب پرورشی بر روی محیط TSA گردید و تعداد باکتریها پس از ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد بر حسب CFU ارزیابی شد. سپس رنگ آمیزی گرم و آزمایشات تکمیلی انجام شد. همچنین اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب استخر در طول دوره انجام گرفت. جهت شناسایی باکتریها در حد گونه از تستهای مختلف بیو شیمیایی بر اساس روش Holt استفاده گردید. شرایط فیزیکوشیمیایی آب عبارت بود از متوسط دما (°c) ۰۵/۶±۲۵ ، اکسیژن (mg/l) ۱/۴۸± ۴/۷۶ ، pH=۸/۰۵±۰/۵ ، (No_2=۰/۰۶±۰/۰۱(mg/l)، (NH_4= ۰/۲۴±۰/۸۰ (mg/l) و (PO_4= ۰/۱۷ (mg/l). زیست سنجی شامل متوسط وزن (g) ۳/۸۱ ±۵/۵۹ و طول بچه ماهیان (cm) ۲/۹ ±۱۱/۴ بود. همچنین میانگین شمارش باکتری های هوازی و بی هوازی اختیاری در روده (Log CFU/g) ۰/۹۲ ±۵/۵۹ و در آب پرورشی (Log CFU/ml) ۰/۳۴ ± ۶/۶۷ ثبت گردید. باکتری های شناسایی شده در روده شامل Enterobacteriaceae، *Corynebacterium* sp.، *Aeromonas sobria* ،*Aeromonas hydrophila* و *Aeromonas* sp. با غالبیت *Aeromonas* sp. بود. باکتری های آب پرورشی شامل *Aeromonas* sp. و *Aeromonas sobria* با غالبیت *Aeromonas* sp بوده است.

کلمات کلیدی: استخرهای خاکی، تاسماهیان ایرانی، روده، فلور باکتریایی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در حال حاضر جنبه های کیفی محیط آبی و مسائل مرتبط با شرایط سلامت ماهیان، فاکتورهای محدود کننده توسعه بیشتر پرورش آبزیان و ماهیان آب شیرین است (۱) که در مراکز پرورش ماهیان خاویاری یکی از مهمترین مسائل درصد بالای تلفات در زمان پرورش بچه ماهی و لارو می باشد که بایستی مورد توجه بیشتری از نظر بهداشتی قرار گیرد.

ثبات جمعیت باکتریایی روده ماهیان از آن جهت حائز اهمیت است که روده ماهیان جایگاه مهمی از نقطه نظر بروز عفونتهای میکروبی و بیماری ماهیان به شمار می آید، بویژه زمانیکه استفاده از عملیات واکسیناسیون وجود نداشته باشد (۱۱).

تولید متراکم ماهی در دنیا احتمال سرایت بیماریهای عفونی را افزایش داده است (۲۰ و۲۹). یک بیماری زمانی می تواند رخ دهد که عامل بیماریزا از موانع اولیه نفوذ کند، سه راه عمده سرایت عفونت از میان پوست (۱۱)، آبشش و مجاری گوارشی می باشد (۳۰).

ماهیان خاویاری از قدیمی ترین مهره داران روی زمین هستند و دریای خزر یکی از مهمترین زیستگاه‌های این ماهیان می باشد که ۹۰٪ تولید خاویار جهان را به خود اختصاص داده است (۳و۷). از بین انواع ماهیان خاویاری تاسماهی ایرانی گونه مهم و بومی کشور ایران و سواحل جنوبی دریای خزر می باشد که عوامل متعددی باعث کاهش ذخایر آن گردیده است. با توجه به اهمیت تاسماهیان از لحاظ اقتصادی و ارزش بالای گوشت و خاویار، تکثیر و پرورش مصنوعی آنها ضروری بوده که در ایران نیز همانند بیشتر کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی اقدام به تکثیر و پرورش این ماهیان نمودند. این امر مستلزم داشتن اطلاعات کامل و جامعی از بهداشت و بیماری های این ماهیان می باشد که این اطلاعات می تواند باعث ارتقاء سطح کیفی و بهداشتی ماهیان خاویاری در مرحله پرورش بچه ماهیان در استخرهای خاکی جهت بازسازی ذخایر و پرورش گوشتی گردد.

در مطالعات صورت پذیرفته توسط Brun در سال ۱۹۹۱ بر روی *Acipenser baeri* باکتری‌های *Yersinia rukery*، *Vibrio anguilarum* و *Flexibacter columnaris* جدا گردید. همچنین در بررسی فلور باکتریایی ماهیان خاویاری در رودخانه ولگا توسط Lartseva در سال ۱۹۹۲ گونه‌های *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Alcaligenes*، *Citrobacter*، *Escherichia*، Enterobacteriaceae، *Flavobacterium*، *Moraxella*. ،*Klebsiella*، *Morganella*، *Micrococcus*،*Hafnia*. ،*Proteus*. ، *Providencia*، *Pseudomonas*، *Salmonella* و *Vibrio* شناسایی شدند، در آمریکا باکتری های *Aeromonas hydrophila*، *Aeromonas sobria*،*Pseudomonas*، *Edwardsiella Tarda*، *Yersinia rukery*، *Streptococcus* و *Flavobacterium columnaris* توسط Francis در سال ۲۰۰۰ از ماهیان خاویاری جداسازی گردید همچنین *Flavobacterium johnsonae* در ماهیان خاویاری جوان ۴-۳ گرمی توسط Bauer و همکاران در روسیه گزارش شد(۳۱). هدف از این تحقیق ابتدا بررسی و شناسایی فلور باکتریایی روده بچه تاسماهیان ایرانی در استخرهای خاکی و آب استخرها و در ادامه تعیین میزان شمارش کلی باکتری‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

در شرایط پرورشی می باشد تا با شناسایی فلور باکتریایی هوازی و بی هوازی اختیاری در روده بچه تاسماهیان ایرانی و آب پرورشی و شمارش کلی باکتری ها بتوان نتایج حاصل از این بررسی را در بکارگیری روشهای پیشگیری و مدیریت بهداشتی تاسماهیان در طی پرورش در استخرهای خاکی مورد استفاده قرار داد که از لحاظ اقتصادی و حفظ نسل این ماهیان بسیار حائز اهمیت می باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور شناسایی فلور باکتریایی روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) در استخرهای خاکی مجتمع تکثیر و باز سازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی استان گیلان و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان در سال ۸۸-۱۳۸۷ به اجرا در آمد، بدین منظور تعداد ۹۰ عدد بچه تاسماهی ایرانی ۵-۳ گرمی از سه استخر خاکی توسط تور ترال بصورت تصادفی نمونه برداری گردید. هم زمان با استفاده از ظروف استریل آزمایشگاهی آب پرورشی نیز مورد نمونه برداری قرار گرفت. بچه ماهیان ابتدا زیست سنجی شده و پس از ضد عفونی سطح شکمی با الکل ۷۰٪ اقدام به باز کردن شکم و جدا سازی روده گردید و پس از خالی نمودن محتویات آن توسط سرم فیزیولوژی سه بار مورد شستشو قرار گرفت و روده توزین گردید، پس از توزین در داخل ظروف شیشه ای استریل درب سمباده‌ای، سرم فیزیولوژی جهت تهیه رقت مورد نظر به آن اضافه شد. معمولاً رقت های تهیه شده از 10^{-1} تا 10^{-6} بود بدین منظور تعداد ۶ لوله آزمایش هر کدام حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل که از قبل آماده و شماره گذاری شده بود اقدام به تهیه رقت می‌کنیم بدین ترتیب مقدار ۱ میلی لیتر از محلول تهیه شده اولیه را به لوله اول اضافه نموده بخوبی تکان داده تا محتویات آن کاملا همگن شود که این لوله حاوی رقت 10^{-1} می باشد سپس یک میلی لیتر از لوله اول را به لوله دوم انتقال داده و پس از انجام مراحل ذکر شده برای تمامی لوله ها که لوله آخر(ششم) رقت 10^{-6} خواهد بود (۲۷). در ادامه رقت های مورد نظر آماده و بر روی محیط کشت TSA کشت داده شد و پس از نگهداری به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور (ممرت آلمان) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد تعداد باکتری ها بر حسب CFU (Colony-Forming Unit) ارزیابی شد. تمامی پلیت ها از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت و به منظور انجام شمارش و تهیه کشت خالص، کلنی ها بر اساس رنگ، شکل و اندازه مورد مطالعه قرار گرفتند (۱۴). پس از اطمینان از خلوص پرگنه ها رنگ آمیزی گرم و آزمایشات تکمیلی انجام شد که شامل اکسیداز، کاتالاز، تحرک، اکسیداسیون، تخمیر (OF)، آزمایشات هیدرولیز کننده و ... بود.کلیه موارد آزمایش برای آب پرورشی نیز تکرار شد. به منظور شناسایی باکتری‌ها تا حد گونه از تست های مختلف بیوشیمیایی بر اساس روش Holt (۱۹) استفاده گردید، همچنین اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب استخر شامل دما، اکسیژن محلول و pH روزی دو بار توسط دستگاه اکسیژن متر و pH متر صحرائی (WTW-Multi 340I)، هدایت الکتریکی هفته ای دوبار با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (EDT BA 300) در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد، مواد معلق با استفاده از روش گراویمتری هفته ای یک بار، پارامترهای نیتریت،

www.SID.ir

Archive of SID

آمونیم و ارتوفسفات هفته ای یک بار با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شد.

به منظور تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از شمارش، شناسایی باکتری ها و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه One Way (ANOVA) و Tukey HSD با استفاده از نرم افزارهای SPSS و Excel استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری و ثبت فاکتور های فیزیکوشیمیایی آب استخرها در طول دوره پرورش نشان می دهد که متوسط دما ۲۵/۶±۰۵/ (درجه سانتی گراد)، اکسیژن (mg/l) ۴/۷۶ ±۱/۴۸، pH=۸/۰۵±۰/۵، NO_2=۰/۰۶±۰/۰۱(mg/l)، NH_4=۰/۲۴ ±۰/۸۰ (mg/l)، PO_4=۰/۱۷ (mg/l) و شفافیت برابر با (cm) ۶۶± ۷/۵ بود (جدول ۱).

نتایج زیست سنجی شامل متوسط وزن و طول بچه ماهیان در این بررسی برابر با (g) ۳/۸۱ ±۵/۵۹ و (cm) ۲/۹ ±۱۱/ ۴ بود.

بر اساس آنالیز های آماری و آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) از نظر فاکتورهای ذکر شده در استخرهای خاکی، هیچ گونه اختلاف معنی دارآماری وجود نداشت و شرایط فیزیکوشیمیایی و اکولوژیکی در سه استخر با هم برابر بود ($P\geq 0/05$).

جدول ۱: فاکتورهای فیزیکو شیمیایی آب استخرهای خاکی پرورش بچه ماهیان خاویاری

شرایط آب / شماره استخر	دما T(°C)	اکسیژن mg/l	pH	عمق cm	شفافیت cm	NO_2 mg/l	NH_4 mg/l	PO_4 mg/l	TSS mg/l	EC Ms/cm
۲۳	۲۵/۶	۳/۱	۷/۶۱	۱۹۵	۵۷/۵	۰/۰۶	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۰۳	۱۲۵۰
۲۴	۲۵/۶	۵/۲۲	۷/۹۵	۲۰۲/۵	۷۲	۰/۰۵	۰/۳۱	۰/۱۷	۰/۰۳	۱۳۰۵
۳۱	۲۵/۷	۵/۹۵	۸/۶	۲۰۶/۷	۶۸/۳	۰/۰۷	۰/۲۵	۰/۱۷	۰/۰۳	۱۲۸۸
میانگین	۲۵/۶۳	۴/۷۶	۸/۰۵	۲۰۱/۴	۶۶	۰/۰۶	۰/۲۴	۰/۱۷	۰/۰۳	۱۲۸۱
انحراف معیار	۰/۰۵	۱/۴۸	۰/۵	۵/۹۲	۷/۵	۰/۰۱	۰/۰۸	۰	۰	۲۸/۱
خطای استاندارد	۰/۰۳	۰/۸۵	۰/۲۹	۳/۴۲	۴/۳۴	۰/۰۰۵	۰/۰۴	۰	۰	۱۶/۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

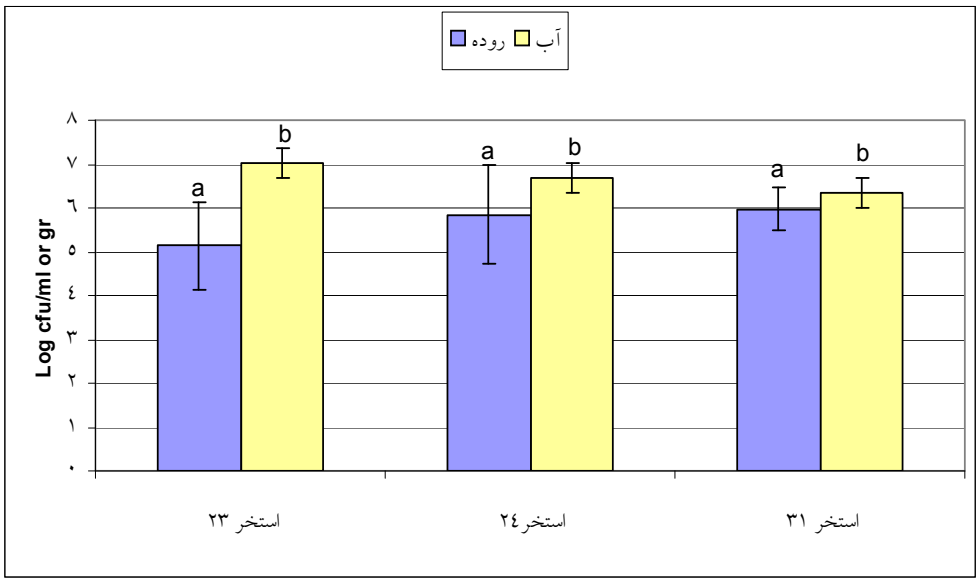
نتایج حاصل از شمارش باکتریها در روده بچه تاسماهیان ایرانی و آب پرورشی حاکیست که از نظر تنوع باکتری در روده ماهی در هر استخر با دو باکتری و آب پرورشی با سه باکتری و تعداد باکتریها بر اساس لگاریتم در دامنه (CFU/g) ۵/۹۷-۵/۱۳ در روده و ۷/۰۱-۶/۳۳ (CFU/ml) در آب پرورشی بود که بطور میانگین شمارش باکتری های هوازی و بی هوازی اختیاری در بچه تاسماهیان ایرانی (CFU/g) ۰/۹۲±۵/۵۹ و در آب پرورشی (Log CFU/ml) ۰/۳۴±۶/۶۷ بود (جدول ۲). نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) نشان داد که از نظر تنوع و تعداد باکتری ها در استخرهای خاکی هیچ گونه اختلاف معنی دارآماری وجود نداشت ($P\geq0/05$) (شکل ۱).

جدول ۲: تنوع و تعداد باکتری‌های شمارش شده در استخرهای خاکی

نتیجه / شماره استخر	تنوع باکتری در روده ماهی (گونه)	شمارش کلی باکتری در روده (Log CFU /g)	تنوع باکتری در آب استخر (گونه)	شمارش کلی باکتری درآب (Log CFU / ml)
۲۳	۲	۵/۱۳	۳	۷/۰۱
۲۴	۲	۵/۹۳	۳	۶/۶۷
۳۱	۲	۵/۹۷	۳	۶/۳۳
میانگین	۲	۵/۵۹	۳	۶/۶۷
انحراف معیار	۰	۰/۹۲	۰	۰/۳۴

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: شمارش کلی باکتریایی روده و آب استخرهای خاکی

نتایج حاصل از شناسایی باکتری ها در استخرهای پرورشی نشان می دهد باکتری های موجود در روده بچه تاسماهیان ایرانی Enterobacteriaceae، *Corynebacterium* sp.، *Aeromonas* sp.، باکتری های شبیه به *Aeromonas sobria* و *Aeromonas hydrophila* می باشد و باکتری *Aeromonas* sp. به صورت غالب (با ۴۷/۷٪) از روده جدا سازی گردید، باکتری های موجود در آب پرورشی شامل *Aeromonas* sp.، *Aeromonas sobria* بود که باکتری *Aeromonas* sp. (با۸۷/۵٪) از غالبیت بیشتری نیز برخوردار بود، همچنین از نظر درصد فراوانی کل (باکتری های روده و آب) در دامنه بین ۵۲/۲-۲/۲ قرار داشتند که کمترین آن متعلق به باکتری شبیه به *Aeromonas hydrophila* و بیشترین فراوانی متعلق به *Aeromonas* sp. بود (جدول۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳: درصد فراوانی باکتری‌های شناسایی شده در آب و روده بچه ماهیان استخرهای پرورشی

فراوانی / باکتری	درصد فراوانی در روده	درصد فراوانی در آب	درصد فراوانی کل
Aeromonas sobria	۲۶/۳	۱۳/۵	۲۳/۹
Aeromonas sp.	۴۴/۷	۸۷/۵	۵۲/۲
Aeromonas hydrophila	۲/۶	–	۲/۲
Corynebacterium sp.	۱۳/۲	–	۱۰/۹
Enterobacteriaceae	۱۳/۲	–	۱۰/۹

بحث

شرایط بررسی از لحاظ فاکتورهای فیزیکوشیمیایی در استخرهای پرورشی مورد مطالعه تقریباً مشابه بوده و اختلاف معنی داری بین آنها وجود نداشت که از مهمترین فاکتورهای ذکر شده دما، اکسیژن و pH می‌باشد. پاسخ های ایمنی متاثر از دما در ماهیان قابل توجه می باشد (۱۶). وقتی که واکنش های ایمنی بوسیله کاهش دما متوقف شد، ماهی نمی تواند دفاع ایمنی در برابر مکانیزم های بیماریزای باکتری ها در محیط زندگی خود را داشته باشد (۱۳). باکتری ها برای زنده ماندن و عبور از مجاری گوارشی باید قادر به مقاومت در برابر pH پایین، هضم آنزیم ها، اثرات لیزوزیم و ایمنوگلوبین ها در روده باشند (۱۳). همانند مهره داران عالی تر میکروفلور روده ای ماهی می‌بایستی به شرایط متفاوتی از قبیل ترکیبات غذایی، pH، شرایط بی هوازی، غلظت نمک های صفراوی و آنزیم‌های گوارشی سیستم ایمنی میزبان و تاثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده سازگار شوند(۱۸).

فلور میکروبی موجود در دستگاه گوارش موجودات خشکی و انسان‌ها تقریباً ثابت می باشد (۲۴). این در حالی است که در آبزیان به علت خونسرد بودن و تبعیت دمای بدن از دمای آب محیط اطراف، فلور میکروبی دائماً در حال تغییر می باشد (۲۳). بر اساس مطالعات انجام شده، مقدار مناسب اکسیژن محلول در آب، دما و pH برای پرورش بچه تاسماهیان به ترتیب برابر با ۵ میلی گرم در لیتر، ۲۴-۱۹ درجه سانتی گراد و ۸-۷ می باشد (۵) که در بررسی حاضر فاکتورهای ذکر شده نیز در محدوده دمایی فوق قرار داشت.

در تحقیقی دیگر بالغ بر 10^8 باکتری هتروتروف به ازای هر گرم از روده ماهیان جداسازی شده است (۴). شواهدی نیز وجود دارد که نشان دهنده تغییرات فصلی در این مقادیر است به طوریکه حداکثر و حداقل تعداد فلور باکتریایی به ترتیب در فصول تابستان و زمستان گزارش شده است. تفاوت در تعداد باکتری ها علاوه بر شرایط فیزیکوشیمیایی، فصل و نوع تغذیه می‌تواند به روش نمونه برداری، دستگاه گوارش تازه یا منجمد، روش های کشت، هموژنیزه کردن محتویات روده و ... بستگی داشته باشد (۴).

در این بررسی نتایج حاصل از شمارش باکتریایی در روده بچه تاسماهیان ایرانی در استخرها و آب

www.SID.ir

Archive of SID

پرورشی هیچ گونه اختلاف معنی دارآماری نشان نداد ($P\geq0/05$) که یکی از دلایل آن می‌تواند مشابه بودن شرایط فیزیکوشیمیایی در استخرها باشد. بر این اساس دامنه باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی اختیاری در روده بین (CFU/g) ۵/۹۷-۵/۱۳ یا ($۱۰^۶$- $۱۰^۵$) و در آب پرورشی(CFU/ml) ۷/۰۱-۶/۳۳ یا تقریباً ($۱۰^۷$- $۱۰^۶$) بود. باکتری‌های شمارش شده در روده فیل ماهیان پرورشی CFU/g $۱/۴\times۱۰^۲$ در تاسماهی روسی CFU/g $۱/۵\times۱۰^۶$ و در ازون برون (CFU/g) $۲/۹\times۱۰^۶$ ذکر گردید در حالی‌که دامنه آن در استرلیاد وحشی بین (CFU /g) $۴/۹۳\times۱۰^۵ - ۲/۷۵\times۱۰^۴$ ثبت گردید همچنین تعداد باکتری‌ها برای آب استخرهای پرورشی (CFU/ml) $۹/۷۵\times۱۰^۵$ بود (۲۲).

در تحقیق انجام شده توسط موذن زاده بر روی بچه فیل ماهیان پرورشی دامنه شمارش باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی اختیاری در روده بین ۷/۱۱-۶/۰۷ (logCFU/gr) ذکر گردید، این مقادیر نسبت به مطالعه حاضر در استخر خاکی بیشتر می‌باشد. همچنین طبق تحقیقات موذن زاده در آب پرورشی (logCFU/ml) ۴/۸۷±۱/۵۴ ثبت شد(۸) که نسبت به مطالعه حاضر کمتر بوده است این موضوع احتمال دارد به علت تفاوت در فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب، نوع جیره غذایی، تفاوت در فلور باکتریایی غذای زنده و منبع آب مورد استفاده باشد (۲۹).

میزان حضور باکتری‌ها در روده ماهی بازتابی از محل زندگی ماهی و نوع غذای مصرفی آن می‌باشد (۱۳). بطور عمده در روده ماهیان $۱۰^۹$-$۱۰^۳$ عدد باکتری در هر گرم آن مشاهده می‌گردد (۲). مطالعه حاضر نشان داد که در روده بچه ماهیان استخرهای خاکی شمارش باکتری‌ها در این محدوده بوده است.

Trustو همکاران فلور باکتریایی بی‌هوازی اجباری روده کپور علفخوار و ماهی طلایی را (CFU/g) $۱/۶\times۱۰^۹$-$۶/۶\times۱۰^۴$ بدست آوردند که بیشترین میزان در قسمت خلفی روده کپور علفخوار دیده شد و شامل *Pasteurella*، *Proteus*، *Salmonella arizonae*، *Streptococcus*، *Yersinia*، *Enterocolitica* بوده است (۱۳). محدوده تعداد باکتری‌ها در کل دستگاه گوارش لارو با کیسه زرده و لارو پیشرفته از صفر تا $۱۰^۴$ عدد در گرم می باشد، در حالی که در انگشت قدها از $۱۰^۳$ تا $۱۰^۷$ باکتری در گرم است (۱۳). تعداد نرمال جمعیت باکتری در روده ماهیان $۱۰^۸$ باکتری هتروتروفیک هوازی در گرم و تقریباً $۱۰^۵$ باکتری غیر هوازی در گرم می باشد (۳۰).

در این تحقیق تعداد باکتری ها در آب پرورشی و روده بچه تاسماهیان ایرانی در محدوده های ذکر شده سایر محققین بود.

باکتری های شناسایی شده در روده بچه تاس ماهیان ایرانی شامل Enterobacteriaceae، *Corynebacterium*، *Aeromonas* sp. باکتری‌های شبیه به *Aeromonas sobria* و *Aeromonas hydrophyla* می باشد که غالبیت با باکتری *Aeromonas* sp. بود و آب پرورشی شامل *Aeromonas* sp.، *Aeromonas sobria* بود که *Aeromonas* sp. غالبیت داشت. این در حالی است که در تحقیق انجام شده در سال ۲۰۰۰ توسط Francis-Floyd بر روی تاسماهیان پرورشی فلوریدا، باکتری های *Aeromonas hydrophila*، *Aeromonas sobria*، *Pseudomonas* گونه‌های *Edwardsiella tarda*، *Yersinia*

www.SID.ir

Archive of SID

ruckeri، گونه های *Streptococcus* و *Flavobacterium columnaria* جدا گردید. Brun و همکاران در سال ۱۹۹۱ از تاسماهی سیبری (A.*baeri*) باکتری های *Yersinia ruckeri*، *Vibrio anguillarum* و *Flexibacter* columnaris را شناسایی نمودند. باکتری های شناسایی شده توسط Lartseva در رودخانه ولگا از ماهیان خاویاری شامل گونه های *Aeromonas*، Enterobacteriaceae و *Pseudomonas* بود. در نهایت در مطالعه ای توسط Baure و همکاران در سال (۲۰۰۲) *Flavobacterium johnsonae* از تاسماهیان جوان ۵-۳ گرمی جدا سازی گردید (۳۲).

در مقایسه با آنچه که برای ماهیان آب شور گزارش شده است، میکرو فلور روده ای در گونه های ماهیان آب شیرین گرایش به غالب شدن توسط اعضایی از جنس *Aeromonas*، *Plesiomonas*، باکتری هایی از خانواده Enterobacteriaceae، *Bacteriodes* و *Fusobacterium* دارد (۱۸). در مطالعات باکتریایی انجام شده بر روی لارو تاسماهیان، باکتری های *Aeromonas* sp.، *Vibrio* sp.، *Moraxella* sp.، *Pseodomonas* sp.، *Acinetobacter*، *Enterobacteriaceae*، از گونه های شیپ (*Acipenser nudiventris*)، تاسماهی ایرانی (A.*persicus*) و ازون برون (A.*stellatus*) جدا سازی شد (۶).

باکتری ها پس از ورود به دستگاه گوارش (همراه آب و مواد غذایی) یا در مجاری گوارشی استقرار یافته و به عنوان بخشی از فلور طبیعی روده در آمده و یا توسط عوامل ضد میکروبی، ترشحات گوارشی و شرایط نامناسب دستگاه گوارش از بین می روند و یا همراه مدفوع مستقیماً دفع می شوند. همچنین باکتری ها پس از استقرار در سطوح خارجی و مجاری گوارشی به عنوان پاتوژن اولیه عمل کرده و موجب بروز بیماری می شوند (۹). سوابق منتشر شده توسط Austin&Austin در سال ۱۹۹۳ بیانگر وجود تنوع وسیعی از جنس های آئروموناسهای متحرک و سودوموناس ها در استخرهای پرورشی ماهیان است.

در ماهیان آب شیرین انترو باکتر، آئرو موناس و آسینتو باکتر گونه های غالب هستند. در مقایسه با آن ها در مجاری گوارشی ماهیان آب شور ویبریو، سودوموناس، آکروموباکتر، کورینه باکتریوم، فلاو باکتر و میکروکوکوس غالب هستند (۱۵و۲۵). بررسی حاضر نیز بیانگر وجود برخی از این باکتری ها در بچه ماهیان و آب پرورشی استخرهای خاکی بوده است.

همچنین در یک تحقیق در تیلاپیای آب شیرین باکتری آئروموناس غالب بود. میکروارگانیزم های موجود در آب بر مجموعه فلور باکتریایی همراه ماهی می تواند تأثیر کند. سهم باکتری های وارد شده از ماهی به آب نیز قابل توجه است، همانند مکان های پرورش ماهی که تراکم جمعیت ماهی ثابت است (۱۳).

رابطه بین میکروفلور نرمال و پاتوژنهای فرصت طلب واضح نیست جنس های سودوموناس، آئروموناس، ویبریو و سایتوفاگاها شامل چنین پاتوژن‌هایی هستند و بطور معمولی از ماهیان نرمال سالم جدا شدند، اما فقط نژاد یا واریته اصلی این باکتری ها دارای فاکتورهای سمی لازم برای القاء بیماری هستند (۱۳).

نوع باکتری های جدا شده از روده ماهی با تغییر شوری، آنتی بیوتیکها، اکسید کرومیک، غذا و ترکیبات جیره غذایی تغییر می کند و

www.SID.ir

Archive of SID

افت و خیزهای روزانه را نشان می دهد. گونه های اسینتوباکتر، اینتروباکتر و سودو موناس در ارتباط با هم بوده، چنانچه در گونه ماهی آزاد (دریایی) بومی هستند، در حالیکه در ماهی آزاد چار (*Salvelinus alpinus*) گونه های آئروموناس، فلاو باکتریوم، سودوموناس و لاکتو باسیلوس جزء میکرو فلور می‌باشند (۳۰). میکروفلور روده ماهیان آب شیرین و شور میکرو ارگانیزم های مختلف را حفظ می کنند. فلور باکتریایی ماهیان آزاد آب شیرین اساساً ترکیبی است از جنس باکتری آئروموناس که نماینده خانواده انتروباکتریاسه، فلاو باکتریوم و سودوموناس می باشد. در روده ماهیان آب شور ویبریو جنس غالب است، اما سودوموناس نیز در تعداد زیادی جدا شده است، همچنین جیره غذایی در میکرو فلور روده ماهیان آب شیرین و شور پرورشی تأثیر دارد (۲۹). تحقیق حاضر نیز نشان داد که آئروموناسها دارای بیشترین فراوانی در روده و آب پرورشی هستند و انتروباکتریاسه ها نیز از موارد جداسازی شده بوده اند ولی گونه های *Edwardsiella tarda*، *Pseudomonas Yersinia ruckeri*، گونه های *Streptococcu*، *Flavobacterium columnaria*، *Vibrio anguillarum*، *Flexibacter columnaris* و *Flavobacterium* johnsonae در این بررسی جداسازی نگردید. علی رغم عدم مشاهده علائمی از بروز یا ابتلاء به بیماری در بچه ماهیان مورد بررسی و با توجه به شناسایی باکتریهایی همچون انتروباکتریاسه، کورینه باکتریوم و آئروموناس ها در این بررسی که همگی از انواع باکتری های بیماریزا در ماهیان بوده لزوم رعایت اصول بهداشتی و جلوگیری از بروز استرس (که از مهمترین عوامل مستعد کننده در ابتلا به بیماری و اختلال در سیستم ایمنی آبزیان می باشد) در زمان پرورش، بارگیری، حمل و نقل و رهاسازی به رودخانه های مناسب ضروری می باشد.

سپاسگزاری

از کلیه همکاران مجتمع تکثیر و باز سازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری خصوصاً بخش بهداشت و بیماریها و اکولوژی سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱. اسوبودووا، ز. و ویکوسوا، ب.، ۱۹۹۵. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری ها و مسمومیت های ماهی. ترجمه شریف روحانی ۱۳۷۴، انتشارات معاونت تکثیروپرورش آبزیان شیلات ایران، ۲۵۶ص.

۲. پورصفرطبالوندانی، م.، ۱۳۸۸. بررسی آلودگی باکتریایی محصولات شیلاتی. پایان نامه کارشناسی مرکز آموزش عالی علمی-کاربردی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت. ۶۹ص.

۳. پورکاظمی، م.، ۱۳۷۶. نگرشی بر وضعیت تاسماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳- سال ششم، ص ۲۲-۱۳.

۴. سفلایی، ن.، ۱۳۷۸. بررسی باکتری های گرم منفی غالب در تاسماهیان کارگاه شهید بهشتی سد سنگر. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم دریایی نور، ۸۵ ص.

www.SID.ir

Archive of SID

۵. شفچنکو، آ.آ. و پوپو، آ.، ۱۹۹۸. پرورش تاسماهان در حوضچه ها. مسکو ترجمه عادلی، ی. (متن اصلی به زبان روسی)، ۷۴ صفحه.

۶. شناور ماسوله، ع، ر.؛ علیزاده، م.؛ پژند، ذ.؛ فدائی، ب.؛ جلیل پور، ج.؛ معصوم زاده، م.؛ صادقی، م.؛ چوبیان، ف.؛ بهروز خوشقلب، م.؛ جوشیده، ه و توکلی، م.، ۱۳۸۲. پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری از مرحله تکثیر تا رهاکرد. موُسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۷۰ص.

۷. مقیم، م.، ۱۳۷۱. پروژه ارزیابی ذخایر ماهیان خاویاری سال ۱۳۷۰. مرکز تحقیقات شیلات استان مازندران، ۱۲۲ص.

۸. موذن زاده، ک.، ۱۳۸۷. ارزیابی کارایی داروی هیدروکر در ضد عفونی بچه فیل ماهیان پرورشی (Huso huso) به منظور کاهش بار میکروبی و بررسی تأثیر آن بر کیفیت آب. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۲۵ص.

9. Austin, B. and Austin, D.A., 1993. Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish 2nd Ed. Ellis Horwood Ltd., Chichester.376pp.
10. Bauer,O.N.; Pugachev,O.N. and Voronin,V.N., 2002. Study of parasites and disease of sturgeon in Russia :a review.J.Appl.Ichthyol. 18, 420-429.
11. Birkbeck, T.H. and Ringo, E., 2005. Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel, W.; Naughton, P (Eds.): Microbial Ecology in Growing Animals. Elsevier, Edinburgh, UK, pp.208-234.
12. Brun, R.; Nougayrede, P.; Chene, P.; Vuillaume, A. and Crespeau, F., 1991. Bilan sanitaire de 2 ons delevage d` Acipenser Baeri enpisicultures intensives. pp. 429-434 in Acipenser , williot, P.(ed). Cemagref publishing, Bordeau, France.
13. Cahill, M.M.,1990. Bacterial flora of fishes: A review. Microb Ecology Springer-verlag. New york inc. 19:21-41.
14. Cappucino, J.G. and Sherman, N., 1998. Microbiology: A laboratory manual. Welsay Longman, INC. New York. 477p.
15. Colwell, R.R., 1962. The bacterial flora of Puget Sound fishes. J Appl bacterial 25:147-158.
16. Ellis, A.E., 1982. Differences between the immune mechanisms of fish and higher vertebrates.In Roberts RJ (ed) Microbial diseases of fish.Academic Oress, New York, London, pp. 1-29.
17. Francis-Floyd, R., 2000. Diseases history of cultured sturgeon in Florida, 1990-1999, Proceedings of the Floridasturgeons culture risk assessment workshop. pp. 33-37.
18. Hansen, G.H. and Olafsen, J.A., 1999. Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish, microbial ecology 38(1) :pp. 1-26.
19. Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Staley, J.T. and Willams, S.T.,1994 . Bergey,s manual of determinative bacteriology (9. Edition). Willams and Wilkins Puble.787pp.
20. Karunasagar, I. and Karunasagar, I., 1999. Diagnosis, treatment and prevention of microbial diseases of fish and shellfish. Curr. Sci. 76, pp 387–399.
21. Lartseva, L.V., 1992. Microbiological characteristics of sturgeon in the Volga delta. Caspian fisheries research institute puble. p.61.
22. Lartseva, L.V. and Bormotova, M., 1998. Sanitary-Microbiological examination of yung sturgeon in the Volga delta, Bull. Eur. Fish Pathol.18 (3), 102.
23. Lesel, R., 1990. Thermal effect on bacterial flora in the gut of rinbow trut and african catfish. In: Lesel, R. (Ed.) Microbiology in Poecilotherms. Elsevier, Amsterdam, pp. 33-38.
24. Moriarty, D.J.W., 1990. Interactions of microorganisms and aquatic animals, particularly the nutritional rol of the gut flora.in: Microbiology in poecilotherms. Elsevier, Amsterdam. pp.217-222.

www.SID.ir

Archive of SID

25. Newman, J.T.Jr.; Cosenza, B.J. and Buck, J.D., 1972. Aerobic microflora of the bluefish (Pomatomussaltarix) intestine. J Fisheries ResBoard of Canada 29: pp333-336.
26. Niemi, M.; Taipalinen, I., 1982. Faecal indicator bacteria at fish farms. Hydrobiologia 86: pp171-175.
27. Pollock, R.A.; Finlay, L.; Mondschein, W. and Modesto, R. R., 2002. Laboratory exercises in Microbiology. John wiley & sons, INC.232p.
28. Press, C.M. and Lillehaug, A., 1995. Vaccination in European salmonid aquaculture: a review of practices and prospects. Br. Vet. J. 151, pp. 45–69.
29. Ringo, E. and Strom, E., 1994. Intestinal microflora of Arcticcharr. (*Salvelinus alpinus*) (L.I.).The gastrointestinal microflora of free-living fish, and theeffect of diet and salinity on Intestinal microflora. Aquaculture and Fisheries Management 25, pp 623-629.
30. Ringo, E.; Strom, E. and Tabachek, J.A., 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. Aquacult. Res.26,pp773-789.
31. Ringo, E.; Myklebust, R.; Mayhew, T.M. and Olsen, R.E., 2007. Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. Aquaculture 268, pp 251-264.
32. Shenavar Masouleh, A.R.; Sharifpour, I. and Shojaei Arani, A., 2006. The bacterial flora of hatchery reared Caspian Sea sturgeon fingerlines. Appl. Ichthyology 22.pp261-264.

www.SID.ir