

مطالعه فراوانی فصلی عفونت‌های باکتریایی، قارچی و انگلی در برخی مزارع پرورشی قزل‌آلای رنگین کمان در استان قزوین

سارا آهنی^{۱*}، بابا مخیر^۱، مزگان امتیازجو^۱ و الهه سلطانی^۲

۱) دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی، گروه شیلات، تهران، ایران. * رایانامه نویسنده مسئول: sara.ahani@yahoo.com
۲) گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۹/۲۰

چکیده

در این مطالعه فراوانی فصلی عفونت‌های باکتریایی، انگلی و قارچی سه مزرعه از مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین کمان استان قزوین واقع در منطقه الموت طی چهار فصل متوالی سال‌های ۹۲ - ۹۱ مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در هر فصل ۳ مرتبه تعدادی نمونه ماهی دارای علائم بالینی از جمله ضایعات کرکی پنبه‌ای، ضایعات پوستی شدید، شنای چرخشی، پوسیدگی باله، آگزوفتالمی، کاتاراکت، هموراژی زیر جلدی (اطراف دهان و قاعده باله‌ها، حذقه چشم، ماهیچه) مورد نمونه‌گیری قرار گرفت. نتایج مطالعات و آزمایش‌های باکتری‌شناسی، قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی نشان داد که تعداد ۶۹ نمونه از مجموع ۳۵۳ ماهی مورد آزمایش مبتلا به عفونت‌های یرسینیوزیس و لاکتوکوکوزیس بودند که گونه عامل آنها به استناد آزمایش PCR به ترتیب *Yersinia ruckeri* و *Lactococcus garvieae* شناخته شد. همچنین تعداد ۵۶ مورد مبتلا به ضایعات قارچی، از جنس‌های *Saprolegnia*، *Mucor*، *Rhizopus* و *Fusarium* و تعداد ۶۲ نمونه مبتلا به حداقل یک جنس انگل از نوع *Gyrodactylus*، *Chilodonella*، *Trichodina*، *Ichthyophthirius* و *Dactylogyrus* بودند. بعلاوه فراوانی نسبی کل مزارع مورد مطالعه به عفونت‌های باکتریایی مذکور ۱۹/۵۴ درصد بود که بیشترین فراوانی به *Yersinia ruckeri* با فراوانی ۲۱/۸۳ درصد در فصل بهار مربوط می‌شد. کل فراوانی نسبی عفونت‌های انگلی ۱۷/۵۶ درصد بود که جنس *Ichthyophthirius* (با ۱۱ درصد) در فصل تابستان بیشترین فراوانی انگلی را نشان داد. میزان کل فراوانی نسبی عفونت‌های قارچی نیز برابر ۱۵/۸۶ درصد بود که موکور با بیشترین فراوانی (۹/۷۵ درصد) در فصل تابستان جنس قارچی غالب را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان، یرسینیوزیس، لاکتوکوکوزیس، ایکتیوفتیریوزیس، ضایعات قارچی، PCR، قزوین.

مقدمه

استان قزوین با برخورداری از شرایط اقلیمی مناسب یکی از مناطق مستعد کشور برای پرورش ماهیان سردآبی نظیر قزل‌آلای رنگین کمان است. این استان با دارا بودن رودخانه‌ها و چشمه‌های متعدد به ویژه در مناطق کوهستانی خود و دمای مناسب، با تولید سالانه بیش از ۱۳۰۰ تن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نیازمند توجه ویژه در این زمینه است. لیکن مواجهه با بیماری‌های مختلف، عدم توجه کافی به ردیابی تلفات و استفاده نامناسب از داروها در زمان شیوع، این صنعت را با کاهش بازده تولید و خسارات

اقتصادي مواجهه کرده است.

انگل‌ها با ايجاد استرس باعث کاهش رشد شده و علاوه بر ايجاد مشکلات توليد مثلي، ضايعات جلدی، عدم بازارپسندی و گاهی تلفات قابل توجه، زمينه را برای بروز بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و قارچی فراهم می‌سازند (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱a). از طرفی با توجه به شیوع برخی بیماری‌های باکتریایی مانند استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس طی سال‌های اخیر در مزارع قزل‌آلای رنگین‌کمان، انجام اقدامات پیشگیرانه برای به حداقل رساندن خسارات احتمالی ناشی از بروز آنها ضروری است (Soltani et al., 2008). لازمه آبرزی‌پروری پایدار و تولید با بهره برداری مناسب، شناخت بیماری‌های تهدیدکننده این صنعت بوده و ارائه راه‌حل‌های جلوگیری و کنترلی آنها امری ضروری است (Soltani et al., 2005; 2008).

با توجه به اینکه مزارع پرورش منطقه الموت، سهم به سزایی از تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان استان قزوین را به خود اختصاص داده است، رویایی این مزارع با برخی تلفات فصلی ریشه‌یابی نشده همزمان با شیوع بیماری‌های آبرزیان در ایران باعث شد تا این تحقیق با هدف مطالعه وضعیت بهداشتی و مواجهه فصلی با بیماری‌های باکتریایی، قارچی و انگلی در بعضی از مزارع حاشیه رودخانه در منطقه انجام شود.

مواد و روش‌ها

عملیات نمونه‌برداری طی یک دوره یک‌ساله طی چهار فصل متوالی در سال‌های ۹۱ و ۹۲ روی سه مزرعه قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در حاشیه اندرود واقع در منطقه الموت قزوین انجام گرفت که از آب رودخانه برای پرورش استفاده می‌کردند. برای نمونه‌گیری در بازدیدهای ماهیانه از هر سه مزرعه پرورشی با مشاهده علائم بالینی در ماهیان پروراری و

پیش‌پروراری شامل آگزوفتالمی، تیرگی بدن، زخم‌های پوستی، تورم شکم، رفتارهای غیرطبیعی، ریختگی فلس و التهاب پوست تعدادی ماهی به صورت زنده و تصادفی صید و به آزمایشگاه دامپزشکی استان قزوین منتقل شدند. همزمان فاکتورهای کیفی آب شامل دما، اکسیژن، pH و سختی نیز اندازه‌گیری شد.

برای مطالعات قارچ‌شناسی با آنس تلقیح، تکه‌ای از ناحیه ضایعات پوستی و آبششی در محیط عمومی سابورو دکستروز آگار تلقیح و پلیت‌های کشت در انکوباتور ۳۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند. پس از انجام کشت‌های ثانویه از روش کشت بر روی لام طبق پیشنهاد خسروی (۱۳۸۲) برای مشاهده عناصر جنسی و تشخیص دقیق‌تر استفاده شد. بخشی از هر کلنی رشد یافته روی لام برای این کار با ۱ قطره لاکتوفنل کاتن‌بلو زیر میکروسکوپ نوری مطالعه شده و با استفاده از کلید شناسایی توصیه شده توسط زینی و همکاران (۱۳۷۷) و Boerema و همکاران (۲۰۰۵) در حد جنس شناسایی شدند. مطالعه انگل‌های جلدی و آبششی با کمک روش لام مرطوب (جلالی، ۱۳۷۷) و با استفاده از میکروسکوپ نوری و کلید شناسایی مخیر (۱۳۸۹) انجام گرفت.

مطالعات باکتری‌شناسی نیز با ایجاد برش در ناحیه پشتی بدن با استفاده از چاقوی حرارت دیده شده و دسترسی به بافت کلیه و در ادامه کشت از این اندام روی محیط آگار خون‌دار انجام پذیرفت. پرگنه‌های رشد یافته پس از ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با روش‌های بیوشیمیایی توصیه شده توسط Austin و Austin (۲۰۰۷) و Bergys (۱۹۸۵) در حد جنس شناسایی شدند. سپس با توجه به نتایج این آزمایشات و شناسایی باکتری‌هایی از جنس *Streptococcus* و *Lactococcus*, *Yersinia* از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) به منظور تشخیص آنها در

سیکل ۳۰ ثانیه‌ای (بسته به گونه پاتوژن) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای *S. iniae* و دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد برای *L. garvieae* و *Y. Ruckeri*، مرحله بسط زنجیره شامل ۳۵ سیکل ۱ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله بسط نهایی شامل ۱ سیکل ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. محصول PCR در خاتمه توسط ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز و باندهای حاصله با مارکر ۱۱۰۰ bp مقایسه گردید. از نمونه‌های تعیین‌توالی شده *L. garvieae*، *S. iniae* و *Y. ruckeri* به عنوان کنترل مثبت و از آب به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

حد گونه استفاده شد. پرایمرهای مربوط به ژن 16SrRNA سه گونه بیماری‌زا از این جنس‌ها برای انجام آزمایش PCR طراحی و DNA باکتری توسط Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction (BioFlux, China) استخراج شد. کیفیت DNA استخراج شده نیز به روش ژل الکتروفورز کنترل شد. دستورالعمل مورد استفاده برای آزمایش PCR شامل مرحله دناتوراسیون اولیه شامل یک سیکل ۳ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله دناتوراسیون ثانویه شامل ۳۵ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال شامل ۳۵

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده آزمایش PCR برای شناسایی گونه‌های باکتریایی

<i>Lactococcus garvieae</i>	G ₁ : GATAACAATGAGAATCGC
	G ₂ : GCACCCCTCGCGGGTTG
<i>Streptococcus iniae</i>	I ₁ : GTCGTAACAAGGTAAGCCGTATCG
	I ₂ : CTTACCTTAGCCCCAGTCTAACGAC
<i>Yersinia ruckeri</i>	Y ₁ : CAGCGGAAAGTAGCTTG
	Y ₂ : TGTTCAGTGCTATTAACACTTAA

نتایج

تعداد ۵۶ نمونه از ۳۵۳ نمونه مورد مطالعه آن از نظر قارچ‌شناسی آلوده بودند که از این تعداد ۲۹ نمونه آلوده به جنس *Mucor*، ۷ نمونه به جنس *Rhizopus* هر دو از رده *Zygomycetes*، ۱۸ نمونه به جنس *Saprolegnia* از خانواده *Saprolegniaceae*، ۲ نمونه به جنس *Fusarium* از خانواده *Nectriaceae* جداسازی شدند. جنس *Mucor* به عنوان ساپروفیت غالب قارچی و همچنین جنس *Saprolegnia* در هر چهار فصل بدون تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) در تمام مزارع تحقیقاتی حضور داشتند، هرچند که بیشترین فراوانی آنها در فصل پاییز گزارش شد. بیشترین فراوانی جنس *Rhizopus* نیز در فصل تابستان بود، در حالی که جنس *Fusarium* با کمترین فراوانی نسبت به سایر یاخته‌های قارچی تنها در مزرعه شماره ۱ طی

میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی و خروجی ایستگاه‌ها به طور میانگین در کل دوره شامل دما، pH، اکسیژن و سختی در منطقه به ترتیب برابر ۱۳/۶ درجه سانتی‌گراد، ۸/۵ قسمت در میلیون و ۱۰۱ میلی‌گرم در لیتر بود. علائمی از قبیل ضایعات پنبه‌ای، ریختگی فلس‌ها، عدم تعادل، پرش، تیرگی پوست، اگزوفتالمی، کاتاراکت، هموراژی در اطراف دهان و پایه باله‌ها، خونریزی در حدقه چشم، زخم‌های سطحی، خونریزی روده، پتی شی در عضلات، بی‌رنگی کبد و چربی‌ها و همچنین التهاب طحال و کلیه در نمونه‌های ماهی مشاهده شد. بررسی‌های قارچ‌شناسی وجود ضایعات لعابی و توده‌های کرکی پنبه‌ای به رنگ سفید تا خاکستری و التهاب‌های روی پوست و باله‌های ماهیان را نشان داد.

Chilodonella با بيشترين فراواني در پاييز (۱۰/۶۶ درصد) مشكل غالب انگلي مزارع را تشكيل مي‌دادند. همچنين انگل‌هاي *Dactylogyrus* با فراواني ۲/۷۵ درصد، *Gyrodactylus* با فراواني ۱/۸۳ درصد و *Ichthyobodo* با كمتر از ۱ درصد فراواني (تنها يك بار جداسازي) ساير جنس‌هاي انگلي را در تابستان تشكيل مي‌دادند. بيشترين فراواني انگلي در سه فصل اول سال مربوط به جنس *Ichthyophthirius* و در فصل زمستان مربوط به جنس *Chilodonella* بود (جدول ۳).

فصل زمستان جدا شد (جدول ۲). نتايج مطالعات انگل‌شناسي نشان داد كه تعداد ۶۲ نمونه از ۳۵۳ ماهي داراي آلودگي انگلي بوده و علائمي از قبيل خونريزي زير پوستي، ريزش فلس، پرش و پوسيدگي باله دمى را نشان دادند. انگل‌هاي شناسايي شده شامل ۲۸ نمونه *Ichthyophthirius* ۱۷ نمونه *Chilodonella*، ۱۰ نمونه *Trichodina*، ۵ نمونه *Dactylogyrus*، ۲ نمونه *Gyrodactylus* و ۱ نمونه *Ichthyobodo* در ماهيان بود. انگل *Ichthyophthirius* با بيشترين فراواني در تابستان (۱۱ درصد) و انگل

جدول ۲. درصد فراواني نسبي جنس‌هاي قارچي تشخيصي به تفكيك فصول در سه مزرعه استان قزوین

مزرعه	بهار			تابستان			پاييز			زمستان			مجموع
	M	R	S	M	R	S	M	S	M	S	F		
۱	۲	۱	۱	۳	۱	۲	۲	۲	۲	۲۰	۲	۱	۱۵/۴۵
۲	۳	۰	۱	۴	۱	۲	۳	۱	۱	۲۵	۰	۲	۱۶/۸۲
۳	۲	۲	۱	۳	۲	۲	۳	۲	۳	۳۰	۰	۱	۱۵/۴۴
درصد فراواني	۸/۰۴	۳/۴۵	۳/۴۵	۱۰/۹	۳/۶۷	۳/۶۷	۹/۱۷	۵/۵	۹/۷۵	۶/۱	۵/۳۳	۵/۳۳	۲/۶۶
فراواني فصلي	۱۴/۹۴			۱۸/۳۴			۱۵/۸۵			۱۳/۳۲			

* M براي *Mucor*، R برابر *Rhizopus*، S برابر *Saprolegnia* و F برابر *Fusarium* در جدول مي‌باشد.

۱-ب) گرديد. با اين وجود سويه *Streptococcus iniae* از نمونه‌هاي آزمايشي جدا نشد. بيشترين فراواني يرسينيوزيس بر اساس نتايج جدول ۵ به ترتيب با مقادير ۳۵/۵۸ و ۳۲/۳۵ مربوط به مزرعه ۱ در فصول بهار و تابستان بود. لاکتوکوکوزيس نيز كه به مزرعه ۳ محدود شده است، بيشترين فراواني را با ۲۰ درصد در فصل زمستان نشان داد (جدول ۵).

بررسی بيوشيميائي پرگنه‌هاي باكتريائي جدا شده در جدول ۴ آمده است. بر اساس اين نتايج تعداد ۶۹ ايزوله باكتريائي از ۳۵۳ نمونه ماهي مربوط به سه جنس *Yersinia*، *Lactococcus* و *Streptococcus* بود. مطالعات واكنش زنجيره‌اي پليمرز (PCR) منجر به تايد وجود ۱۵ ايزوله *Lactococcus garvieae* (شكل ۱-الف) و ۵۵ ايزوله *Yersinia ruckeri* (شكل

جدول ۳. درصد فراوانی نسبی جنس‌های انگلی به تفکیک فصل در سه مزرعه نمونه‌برداری شده از استان قزوین

مجموع	زمستان			پاییز			تابستان					بهار					مجموع فصلی	
	C	I	مجموع فصلی	C	I	مجموع فصلی	D	G	It	T	I	مجموع فصلی	D	C	T	I		
۱۲/۷۲	۲	۰	۲۰	۱	۲	۲۷	۱	۰	۰	۲	۲	۳۵	۰	۱	۱	۲	۲۹	مزرعه ۱
۲۳/۳۶	۳	۱	۲۵	۳	۲	۲۵	۱	۱	۱	۲	۵	۳۵	۰	۱	۲	۳	۲۳	مزرعه ۲
۱۶/۹۱	۳	۰	۳۰	۲	۳	۳۱	۱	۱	۰	۲	۵	۵۰	۱	۱	۱	۳	۳۵	مزرعه ۳
	۱۰/۶۶	۱/۳۳	۷۵	۷/۳۱	۸/۵	۸۲	۲/۷۵	۱/۸۳	۰/۹۱	۵/۵	۱۱	۱۰۹	۱/۱۵	۳/۵۵	۵/۵۹	۹/۱۹	۸۷	درصد فراوانی
	۱۱/۹۹			۱۵/۸۱			۲۱/۹۹					۱۸/۳۶					فراوانی فصلی	

I برابر *Ichthyophthirius*، T برابر *Trichodina*، C برابر *Chilodonella*، It برابر *Ichthyobodo*، G برابر *Gyrodactylus* و D برابر *Dactylogyrus* در جدول می‌باشند.

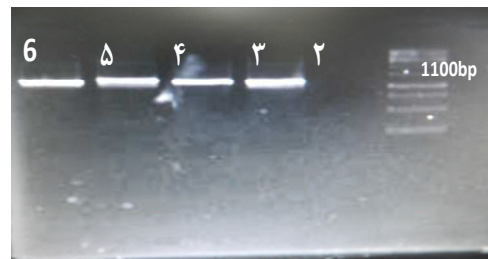
جدول ۴. نتیجه تست بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده از مزارع استان قزوین برای سویه‌های مشکوک به

Lactococcus garvieae و *Streptococcus iniae* و *Yersinia ruckeri*

<i>Lactococcus garvieae</i>		<i>Streptococcus iniae</i>		<i>Yersinia ruckeri</i>		
نمونه	رفرنس	نمونه	رفرنس	نمونه	رفرنس	
-	-	-	-	-	-	اندول
+	+	+	+	+	+	متیل رد
-	V	-	V	+/+	+/+	O/F
ac/ac	ac/ac	ac/ac	ac/ac	al/ac	al/ac	TSI
+	+	+	+	+	+	آسکولین
-	-	-	-	-	-	اوره
+	+	+	+	+	+	مانیتول
-	-	-	-	-	V	سوربیتول
+	+	+	+	+	+	مالتوز
-	-	-	+	+	+	تری هالوز
-	-	-	-	+	+	سیمون سیترات
-	-	-	-	-	-	تولید H2S
		+/β	+/β	-	-	همولیتیک



ب- *Yersinia ruckeri* (509 bp)



الف- *Lactococcus garvieae* (1100 bp)

شکل ۱. محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز که در آن نمونه‌های آزمایش شده باندی با طول‌های مشخص را نشان دادند. * اعداد در شکل عبارتند از: ۱- مارکر 1100bp، ۲- نمونه کنترل منفی بدون DNA باکتری، ۳- نمونه کنترل مثبت و ۴-۶ نمونه‌های آزمایشی.

جدول ۵. درصد فراواني نسبي گونه‌هاي باكتريايي به تفكيك فصل در سه مزرعه نمونه‌برداري استان قزوین

مزرعه	بهار		تابستان			پايز			زمستان		مجموع
	L	Y	L	Y	مجموع فصلی	L	Y	مجموع فصلی	L	Y	
۱	۰	۱۰	۰	۱۱	۳۵	۰	۳	۲۷	۰	۰	۲۱/۸۱
۲	۰	۵	۰	۵	۳۵	۰	۱	۲۵	۰	۰	۱۰/۲۸
۳	۵	۵	۲	۷	۵۰	۳	۵	۳۱	۶	۳	۲۵
درصد فراواني	۵/۵۹	۲۱/۸۳	۱/۸۳	۲۱/۱	۱۰۹	۳/۶۵	۱۰/۹۷	۸۲	۸	۵	۷/۵
فراواني فصلی	۲۶/۵۲		۲۲/۹۳			۱۵/۶۲			۱۲		

* علايم Y برابر *Yersinia ruckeri*، S برابر *Streptococcus iniae* و L برابر *Lactococcus garvieae* در جدول می‌باشند.

بحث و نتیجه‌گیری

انتقال آلودگی‌های ناشی از فاضلاب انسانی و دامی به آب ورودی آنها وجود دارد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱a).

نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری *Streptococcus iniae* عامل استرپتوکوکوزیس در هیچ یک از ایستگاه‌های نمونه‌برداری منطقه مشاهده نشد، ولی تایید مولکولی باکتری *Yersinia ruckeri* با بیشترین فراواني در مزرعه ۱ و طی فصل بهار و تابستان بیانگر مواجهه با یرسینیوزیس می‌باشد. وضعیت قرارگیری مزارع مورد مطالعه به دنبال یکدیگر و عدم رعایت فاصله استاندارد، امکان انتقال عامل بیماری را بین مزارع فراهم کرده و سایر مزارع نیز آلودگی به این عفونت را نشان دادند. لیکن اختلاف معنی‌داری در فراواني این بیماری بین مزارع مشاهده نشد ($p > 0.05$). *Lactococcus garvieae* عفونت باکتریایی دیگری بود که صرفاً از مزرعه ۳ جدا شده و بیشترین فراواني را در فصل زمستان داشت. علت بروز لاکتوکوکوزیس در این مزرعه می‌تواند به دلیل افزایش بار آلودگی ناشی از ورود پساب مزارع بالادست باشد. با توجه به اینکه جانوران خون‌گرم از مخازن متداول

صنعت آبی‌پروری ایران در سال‌های اخیر از رشد قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده هرچند به موازات این توسعه با مشکلاتی نیز مواجه شده است. بروز همه‌گیری بیماری‌های عفونی به خصوص در مناطق پرتولید کشور باعث خسارات فراواني در صنعت قزل‌آلای کشور شده (Soltani & Tarahomi, 2009)، به طوری که تا کنون بیماری‌هایی نظیر نکروز عفونی بافتهای خون‌ساز، استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، یرسینیوزیس و سپتی‌سمی‌های ناشی از آئروموناس‌های متحرک در برخی از مزارع قزل‌آلای کشور شناسایی و تایید شده است (Soltani et al., 2005, 2008). استان قزوین نیز به عنوان یکی از مناطق با پتانسیل کشور محسوب می‌شود که البته مطالعات اندکی پیرامون وضعیت بهداشتی و بیماری‌های مزارع آن صورت گرفته است.

نتایج مطالعات باکتری‌شناسی این تحقیق نشان داد که مزارع مورد مطالعه با برخی بیماری‌های باکتریایی نظیر لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس مواجه می‌باشد. شیوع این عفونت‌ها در مزارعی افزایش می‌یابد که از آب رودخانه استفاده کرده یا احتمال

سایروفیتی این جنس‌ها، جداسازی در تمام فصول می‌تواند امری متداول باشد. به هر حال اختلافات بوم‌شناختی در مکان‌های جغرافیایی مختلف نقش مهمی را در توسعه تنوع قارچ‌ها روی سطوح ماهی ایفا می‌کند (Willoughby, 1986؛ Pickering, 1994).

جداسازی *Fusarium* به تعداد یک بار از مزرعه ۱ آن هم در فصل زمستان می‌تواند ناشی از حضور *Saprolegnia* در این منابع آبی باشد که نقش آنتاگونیستی در برابر *Fusarium* در یک محیط آبی دارد. *Saprolegnia* طبق نتایج گزارشات Mueller و Whisler (۱۹۹۵) و Shahbazian و همکاران (۲۰۱۰) در محیط‌های آلوده به *Fusarium* رشد کمتری دارد.

نتایج مطالعات انگل‌شناسی نشان داد که جنس *Ichthyophthirius* بیشترین فراوانی را به عنوان عفونت غالب انگلی در فصل تابستان داشت. بروز این عامل بیماری‌زا در تمام فصول و مزارع مطالعاتی بیانگر عدم رعایت موازین بهداشتی در این مزارع بوده که زمینه را با افزایش دما برای رشد و تکثیر آنها فراهم نموده است. به استثنای جنس *Chilodonella* با بیشترین مقدار در فصل پاییز، جداسازی انگل‌های *Gyrodactylus*، *Dactylogyrus*، *Ichthyobodo* و *Trichodina* با بیشترین فراوانی در تابستان و بهار می‌تواند به دلیل افزایش دما، تراکم و بار آلی در این فصول باشد. بیشترین مشکل انگلی در سه فصل اول سال مربوط به *Ichthyophthirius* و در فصل زمستان مربوط به *Chilodonella* است.

مقایسه فراوانی نسبی جنس‌های قارچی و انگلی در ایستگاه ۲ که دارای فراوانی انگلی بیشتری نسبت به دو مزرعه دیگر بود، نشان داد که یک رابطه مستقیم بین شیوع عفونت‌های انگلی و قارچی وجود داشته به طوری که جراحات پوستی ایجاد شده ناشی از انگل‌ها در میزبان، زمینه را برای بروز عفونت‌های قارچی فراهم کرده است.

این باکتری محسوب می‌شوند (Soltani et al., 2008)، ورود پساب جانوران خون‌گرم از روستای بالادست می‌تواند علت شیوع بیماری در زمستان باشد. مطالعه این بیماری در استان چهارمحال و بختیاری نیز نقش شاخص‌های کیفی آب و همچنین احتمال انتقال باکتری از پساب مزارع بالادست به پایین دست را در شیوع آن تایید کرده است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱b). *Lactococcus garvieae* در شرایط بهداشتی ضعیف همزمان با افزایش دمای آب از قدرت رشد و تکثیر بیشتری برخوردار بوده و بیماری‌زایی خود را نشان می‌دهد (Soltani et al., 2005). لاکتوکوکوزیس گرچه در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری را بین فصول مختلف در مزرعه ۳ نشان نداد ($p > 0.05$)، شیوع این بیماری با توجه به تاثیر دما در فصل زمستان به علت استفاده همزمان از آب چشمه و رودخانه و در نتیجه جلوگیری از کاهش دمای آب دور از انتظار نمی‌باشد.

نتایج مطالعات قارچ‌شناسی در این تحقیق نشان‌دهنده حضور چهار نوع قارچ متعلق به جنس‌های *Mucor* و *Rhizopus* (خانواده زایگومیسیت)، *Saprolegnia* (خانواده سایپروولگنیاسه) و *Fusarium* (خانواده نکتریاسه) بود. شایع‌ترین جنس قارچی در ماهیان دارای ضایعه این تحقیق متعلق به جنس *Mucor* با بیشترین فراوانی در تابستان و پاییز بود. این در حالی است که بر اساس مطالعات Shahbazian و همکاران (۲۰۱۰) قارچ‌های متعلق به جنس *Saprolegnia* شایع‌ترین عفونت قارچی ماهیان را تشکیل می‌دهند. لذا علت غالبیت جنس *Mucor* نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد. قارچ *Saprolegnia* با بیشترین فراوانی در پاییز و جنس *Rhizopus* با بیشترین فراوانی در تابستان از دیگر جدایه‌های قارچی بودند که علی‌رغم حضور در همه مزارع، شیوع کمتری را نسبت به *Mucor* داشتند. با توجه به تغذیه

زینی، ف.، سید علی مهید، ا. و امامی، م. (۱۳۷۷) قارچ شناسی پزشکی جامع. انتشارات دانشگاه تهران. تهران، ۲۵۰ صفحه.

سلطانی، م.، حاضری، م.، شریف پور، ع.، میرزرگر، س. و شهره، پ. (۱۳۹۱ا) مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در استان مازندران. مجله میکروبیولوژی دامپزشکی، ۲۵(۸): ۱-۱۲.

سلطانی، م.، رئیسی، م.، گودرزی، م.، ر.، ممتازف ح. و مومنیف م. (۱۳۹۱ب) تعیین فراوانی *Lactococcus garvieae* عامل بیماری لاکتوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استان چهارمحال و بختیاری و تعیین توالی ژن 16S rRNA جدایه‌های حاصله. مجله دامپزشکی ایران. تهران، ۸(۱): ۶۱-۶۷. مخیر، ب. (۱۳۸۹) بیماری‌های ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران. تهران، ۶۳۸ صفحه.

Austin, B. and Austin, D. (2007) Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish. Springer. London, 580 p.

Bergys, D.H. (1985) Manual of Systematic Bacteriology. Academic press. London, 2630 p.

Boerema, G.H., Gruyter, J., Noordeloos, M.E. and Hamers, M.E.C. (2005) Phoma Identification Manual. CABI Press. Wallingford, 570 p.

Mueller, G.J. and Whisler, H.C. (1995) Fungal parasites of salmon from the Columbia River watershed. Salmon Saprolegniasis. Edited by G.J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon, 875 pages.

Pickering, A.D. (1994) Factors influencing the susceptibility of salmonid fish to Saprolegniasis. In: Mueller G.J. (ed.) Salmon saprolegniasis. US Department of Energy, Portland, pp. 67-84.

Shahbazian, N., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Soltani M., Khosravi A.R., Mirzargar, S. and Sharifpour, I. (2010) Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(1):151-160.

Soltani M., Jamshidi S. and Sharifpour I. (2005) Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*O. mykiss*) in

در مجموع شناسایی بیماری‌های لاکتوکوزیس و یرسینیوزیس در مزارع تحت مطالعه بیانگر آلودگی منابع آبی به باکتری‌های عامل این بیماری‌ها بوده و از آنجا که منابع این باکتری‌ها متنوع و شامل جانوران خون‌گرم، پرندگان، خزندگان و حتی انسان می‌باشد، به نظر می‌رسد که مزارع مذکور از وضعیت بهداشتی ایده‌آلی برخوردار نیستند. فاکتورهایی نظیر تراکم بالا، کمبود اکسیژن، بار مواد آلی جامد و محلول در آب و همچنین ورود فاضلاب جانوران خون‌گرم از عوامل مستعدکننده بروز این بیماری‌ها به ویژه لاکتوکوزیس می‌باشد. لذا انجام اقدامات بهداشتی و پیشگیرانه با بروز بیماری‌های مذکور در مزارع تحت مطالعه و به ویژه مایه‌کوبی ماهیان مزارع مذکور قابل توصیه است. عوامل بیماری‌زای شناسایی شده همچنین می‌تواند موجب کاهش رشد و تولید شود. لذا توجه به ارتقای بهداشت مزارع ضروری و در توجیه اقتصادی این صنعت ضروری خواهد بود.

سپاسگزاری و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از مساعدت‌های بی‌شائبه دکتر سمیرا محمدیان، دکتر وحید دیانت‌پور، مهندس هادی باقری، دکتر شهین عشقی، دکتر سامان آهنی و همینطور همکاری اداره شیلات و دامپزشکی استان و صاحبان مزارع تشکر و قدردانی نمایند. این مقاله همچنین به روح چهره ماندگار شیلات ایران جناب آقای دکتر بابا مخیر تقدیم می‌گردد.

منابع

جلالی جعفری، ب. (۱۳۷۷) بیماری‌های انگلی ماهیان آب شیرین. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان-اداره کل آموزش و ترویج. تهران، ۵۶۵ صفحه.
خسروی، ع. (۱۳۸۲) قارچ‌شناسی پزشکی (روش‌های علمی). انتشارات جهاد دانشگاهی. دانشگاه تهران. تهران، ۵۰۰ صفحه.

- Iran; biophysical characteristics and pathogenesis. Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 25:95-107.
- Soltani, M., Mousavi, M., Nikbakht, Gh. and Ahmadzadeh, E.A.H. (2008) Epizootic outbreak of Lactococcosis caused by *Lactococcus garviea* in farmed rainbow trout in Iran. Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 28:12-207.
- Soltani, M. and Tarahomi, M. (2009) Study of streptococcosis/lactococcosis in some farmed rainbow trout in Fars province, Iran 1st International Congress on Aquatic Animal Health Management and Diseases. Tehran, January: 2-31.
- Willoughby, L.G. (1986) An ecological study of water at the medium for growth and reproduction of the Saprolegnia from salmonid fish. Transaction of the British Mycological Society. Cumbria, 87(5):593-502.

Seasonal survey on bacterial, fungal and parasitic infections in rainbow trout culture farms of Qazvin province

Sara Ahani^{1*}, Baba Mokhayer¹, Mozghan Emtiazjou¹ and Ellahe Soltani²

1) Department of Fisheries, College of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran. *Corresponding Author Email Address: sara.ahani@yahoo.com

2) Department of Microbiology, School of Biology, Science Campus, University of Tehran, Tehran, Iran.

Date of Submission: 2013/02/12 Date of Acceptance: 2013/12/11

Abstract

A seasonal survey was undertaken on bacterial, fungal and parasitic infections in some rainbow trout culturing farms in Alamout region, Qazvin province during 2012-2013. Affected fish (totally 353 samples) showing clinical signs such as cotton wool, severe skin damage, flashing, eroded fins, exophthalmia, cataract and subcutaneous hemorrhage around mouth, fins, lens and muscles were samples three times a season. The phenotypic results showed that 69 samples were positive for *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garviea* the causes of yersiniosis and lactococcosis. Fifty six fish samples were also affected by fungal disease with cause of *Mucor*, *Rhizopus*, *Saprolegnia* and *Fusarium*. Also, a number of 62 fish samples were affected by at least one parasitic genus including *Ichthyophthirius*, *Trichodina*, *Chilodonella*, *Gyrodactylus*, *Dactylogyrus* and *Ichthyobodo*. Furthermore, the total abundance of the bacterial infections were 19-55%, with the most prevalent occurred for *Yersinia ruckeri* at the spring season (21.83%). Also the total abundance of parasitic infections was 17.56% with the most prevalent seen for *Ichthyophthirius* (11%) in summer time. The relative abundance of fungal infections was 15.86% with the most prevalent observed in case of *Mucor* (9.75%) in summer season.

Keywords: rainbow trout, yersiniosis, lactococcosis, ichtyophthiriosis, fungal disease, PCR, Qazvin.