



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۳

صفحات ۵۱-۶۱

# بررسی نقش پارامترهای محیطی و فیزیکوشیمیایی موثر بر شیوع بیماری یرسینیوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) منطقه هراز استان مازندران

علیرضا باباعلیان<sup>۱\*</sup>، قباد آذری تاکامی<sup>۲</sup>، آرمین عابدیان امیری<sup>۳</sup>، امین خدادادی<sup>۴</sup>،

مجتبی کشاورز<sup>۵</sup>

۱. اداره بهداشت و مدیریت بیماری‌های آبزیان، اداره کل دامپزشکی استان مازندران

۲. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۳. مرکز تحقیقات اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات شیلات ایران

۴. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی،

ارومیه، ایران

۵. گروه کارشناسی ارشد شیلات، گروه آبزیان، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم

شهر، ایران

\* نویسنده مسئول: [alireza.babaalian@yahoo.com](mailto:alireza.babaalian@yahoo.com)

## چکیده

یرسینیوزیس یا بیماری دهان قرمز (ERM (Enteric Red Mouth disease یکی از بیماری‌های عفونی باکتریایی است که در صنعت آبی پروری ماهیان سردآبی عامل مرگ میر و خساراتهای اقتصادی جبران ناپذیر میباشد. در سال‌های اخیر بنا بر گزارش سازمان دامپزشکی این بیماری در اغلب استان‌های کشور گسترش پیدا کرده است و رد پای آن در اغلب مزارع گزارش گردیده است. استان مازندران از نظر میزان تولید ماهیان سردآبی در کشور رتبه دوم تولید را به خود اختصاص میدهد و منطقه هراز (شرق استان مازندران) بیشترین میزان تولید قزل آلا را در استان مازندران داشته که به جهت اهمیت بیماری و گستره تولید ماهی قزل آلا، عوامل مؤثر در بروز یرسینیوزیس در این منطقه مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی که به مدت یک سال (مرداد ۱۳۹۰ الی تیر ۱۳۹۱) به طول انجامید تعداد ۱۰ مرکز تکثیر و پرورش قزل آلا در منطقه هراز به صورت تصادفی انتخاب و همراه در چهار فصل، برخی از پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزارع شامل نیتريت، نیترات، یون آمونیوم، مواد جامد محلول، درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH اندازه‌گیری شد. جهت اطمینان از میزان شیوع بیماری یرسینیوزیس از بافت‌های کبد و کلیه ۱۲۰۰ عدد ماهی قزل آلا به تفکیک (پرورشی و بچه ماهی) همراه با علائم بیماری (۴۱۰ نمونه) و بدون علائم بیماری (۷۹۰ عدد) نیز مورد بررسی آزمایشگاهی (باکتریولوژی) قرار گرفت. نتایج نشان داد که فاکتورهای مؤثر در بروز بیماری یرسینیوزیس شامل متغیرهای درجه حرارت، افزایش pH فصل، اندازه ماهی بود. همچنین از ۴۱۰ عدد ماهی بیمار ۲۰ درصد و از ۷۹۰ عدد ماهی سالم ۱۰ درصد به باکتری یرسینیا راکری آلوده بودند.

واژه‌های کلیدی: یرسینیوزیس، قزل آلا ی رنگین کمان، بروز، منطقه هراز



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(1)51-61, 2014

## Investigate the role of environmental and physicochemical parameters affecting yersiniosis disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fish in the Haraz province

Babaaliyan, A.R.<sup>1</sup>, Azari Takami, G.<sup>2\*</sup> Abediyan Amiri, A.<sup>3</sup> Khodadadi, A.<sup>4</sup>

Keshavarz, M.<sup>5</sup>

*1- Aquaculture Disease Management Health Department, General Directorate of Veterinary province*

*2. Aquatic Animal Health, illness, School of Veterinary Medicine, Tehran University*

*3. Caspian Ecology Research Center, Fisheries Research Institute of Iran*

*4. Aquatic Animal Health, illness, School of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran*

*5. Department of Fisheries, Gaem shahr Branch, Islamic Azad University, Gaem shahr, Iran*

**\* Corresponding author: [alireza.babaalian@yahoo.com](mailto:alireza.babaalian@yahoo.com)**

### Abstract

Yersiniosis or Enteric Red Mouth Disease (ERM) is an infectious bacterial disease that causes mortality and also economical loss in Salmonid aquaculture industries. In recent years, the yersiniosis has been expended in different part of Iran and there are reports about it in most of the Rainbow trout farms in Iran. Mazandaran Province has the second grade of Rainbow trout production in Iran and the most production of Mazandaran is in Haraz Zone (East of Mazandaran). There for, because of the importance of Yersiniosis and also high production of Rainbow trout in this part of Mazandaran, factors influencing on yersiniosis incidence was evaluated. Samplings were done from July 2011 to August 2012 and in 10 rainbow trout farms. Overall, liver and kidney of 1200 fish with clinical signs (410 samples) either without clinical signs (790 samples) were Cultured in TSA agar (Merck Co. Germany). Then Microbial cultures were transformed to laboratory (Ecology of Caspian Sea Institute, Health and Aquatic animal's Disease branch) and Bacteria were identified using gram staining and biochemical tests. In addition, the water of farms was sampled for calculating Bacterial total count and also measuring some of the physicochemical parameters (Temperature, DO, pH, Nitrate, Nitrite, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and TDS) of water. Result showed that decrease of temperature and increase of pH had the most effects on incidence of yersiniosis . Also, it was demonstrated that from 410 diseased fish and 790 fish without clinical signs, 20% and 10% suffered from yersiniosis respectively.

**Key words:** yersiniosis, Rainbow trout, prevalence, Haraz province

## مقدمه

دارد و مهمترینکه تمامی مزارع مستقر در این منطقه از منبع آبی مشترک استفاده می‌کنند، توسعه بیماری‌های باکتریائی اجتناب ناپذیر بوده و بروز آن در یک مزرعه می‌تواند تمامی مزارع پائین دسترا تحت تأثیر قراردهد. به همین جهت مطالعه ارزیابی عوامل مؤثر در توسعه این بیماری در منطقه هراز که تقریباً ۵۰ درصد تولید مازندران را به خود اختصاص می‌دهد، امری لازم به نظر می‌رسد. براین اساس این پروژه به گونه‌ای طراحی شده تا بتوان براساس آن سیمای بیماری را در منطقه هراز به تصویر کشیده و مهمترینکه برای کنترل آن، در زمینه مدیریت بهداشتی برنامه ریزی نموده و دستورالعمل اجرایی را تنظیم کرده و به بخش تولید، توصیه نمود.

## مواد و روش کار

بطور کلی در این مطالعه ۱۲۰۰ عدد ماهی قزل آلا و ۱۲۰ نمونه آب از ۱۰ مزرعه منتخب واقع در منطقه هراز آمل، از مرداد ماه ۱۳۹۰ تا تیر ماه ۱۳۹۱ مورد بررسی قرار گرفت. در هر ماه علاوه بر نمونه برداری از آب مزارع، از هر مزرعه ۱۰ عدد ماهی با دامنه وزنی ۵۰ - ۵۰۰ گرم و بچه ماهیان با دامنه وزنی ۱۰ - ۵۰ گرم، اعم از پروراری و بچه ماهی، دارای علائم بیماری (تیرگی پوست، بیرون زدگی و خونریزی چشم، بیحالی، بیرون زدگی مخرج و گاه قرمزی دهان) و فاقد علائم بیماری، زنده به صورت تصادفی انتخاب گردید و از قسمت قدامی کلیه و کبد آنها کشت میکروبی تهیه گردید. پلیت‌های کشت پایه مانند تریپتیکاز سوی آگار واجد مواد تلقیحی بافت‌های مختلف ماهی در شرایط استاندارد نمونه برداری (مجاور یخ) به آزمایشگاه میکروبی شناسی منتقل شده و در انکوباتور (گرمخانه ۲۰ - ۲۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۴۸ ساعت، قرار داده شد تا باکتری روی محیط کشت رشد نماید (۱۵). پس از رشد باکتری در محیط کشت و خالص سازی بر روی محیط کشتهای (Merck® Co., Germany) TSA و (Merck® Co., Germany) BHA، از باکتری خالص گسترش تهیه و به روش گرم رنگ آمیزی

با توجه به افزایش روزافزون جمعیت و مصرف رو به رشد و محدود بودن منابع غذایی، پروتئین مورد نیاز سبد غذایی به سختی در دسترس افراد قرار می‌گیرد. ماهی و آبزیان به عنوان غنی ترین منابع پروتئینی در بین مواد غذایی مردم، اهمیت فوق العاده‌ای دارند و بسیاری از کشورهای پیشرفته دنیا بخش قابل توجهی از پروتئین مصرفی خود را از این مواد تامین می‌کنند (۳). امروزه ماهی قزل آلا رنگین کمان به عنوان ماهی پرورشی اصلی اکثر کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بیشتر نقاط جهان درآمده است. از ویژگیهای بارز و مهم این ماهی، سازش خوب با شرایط پرورش متراکم است. از طرف دیگر ماهی قزل آلا در انتخاب غذا سخت گیر نیست و از سرعت رشد خوبی نیز برخوردار می‌باشد (۱۷). منابع آبی مشترک، واردات تخم چشم زده از سایر کشورها و عدم اجرای مقررات بهداشتی در نقل و انتقال‌ها، مشترک بودن تعدادی از بیماری‌های عفونی بین ماهیان سردآبی و گرم آبی و هجوم پرندگان آبی، سبب شده که بیماری‌های عفونی باکتریائی یکی از مشکلات و چالش‌های پیش روی صنعت آبی پروری ماهیان سردآبی باشد. از جمله بیماری‌های عفونی باکتریائی که صنعت آبی پروری را تهدید می‌کند و باعث ایجاد خسارت‌های اقتصادی و گاه جبران ناپذیر می‌شود، یرسینیوزیس ((ERM) Enteric Red Mouth disease) یا بیماری دهان قرمز روده‌ای است. بیماری یرسینیوزیس یک بیماری عفونی سیستمیک است که در ماهی قزل آلا رنگین کمان، اولین بار در سال ۱۹۵۰ در ایالت (آیداهو) گزارش گردید اما پس از آن نیز گزارشاتی از این بیماری در نقاط مختلف دنیا ارائه گردید (۶). در حال حاضر یرسینیوزیس یکی از بیماری‌های رایج در صنعت آبی پروری ماهیان سردآبی کشور است. با این وصف، نظر به اینکه استان مازندران یکی از قطبهای صنعت آبی پروری ماهیان سردآبی است (رتبه دوم کشور براساس اداره آمارشیلالات ایران) و از طرفی عمده تولید ماهی قزل آلا در استان مازندران، به منطقه هراز تعلق

محیط TSA (Merck® Co., Germany) کشت به عمل آمد. پلیتها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری (گرمخانه کالبره شده با استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵) شدند. پس از این مدت شمارش کلی باکتریها به صورت CFU/ml، انجام گردید (۵).

### نتایج

در ماهیان مورد بررسی تنوعی از علایم غیر طبیعی مشاهده گردید که بعضاً این موارد بصورت مشترک در ماهیان بیمار دیده نشده است و این علائم عبارت بودند از: شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم، کدورت قرنیه، خون ریزی اطراف چشم ها، صفحه آبششی، پایه باله‌های شکمی و مخرجی، آب آوردگی شکم، اتساع محوطه بطنی، قرمزی دهان، بیرون زدگی مخرج و علائم داخلی همچون بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب، خونریزی در انتهای روده نیز مشاهده شد. نتایج کشتهای میکروبی و بیوشیمی نمونه باکتریهای جداسازی شده نشان داد که ۴۱ عدد از ۱۷۵ بچه ماهی (دارای علائم بیماری) با دامنه وزنی ۱۰ تا ۵۰ گرم ۳۹ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی (فاقد علائم بیماری) آلوده به یرسینیوزیس بودند (جدول و نمودار ۱).

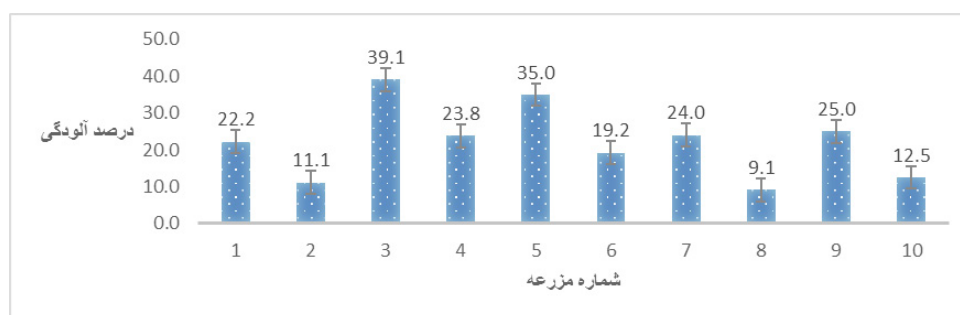
گردید (۹). پس از رنگ آمیزی و نوع رنگ پذیری برای تشخیص افتراقی باکتری از محیط‌های کشت بیوشیمیایی شامل: قندهای گلوکز، سوربیتول، مانیتول، مانوز، سالیسین، لاکتوز، اینوزیتول، گزیزولوز و ترهالوز و تست‌های اکسیداز، کاتالاز، KOH ۳٪، SIM، OF، (تولید سولفید هیدروژن، اندول و حرکت)، نیترات، اوره، سیمون سترات، VP، MR، رشد در مک کانگی اگر، تولید آرژنین دهیدرولاز، تولید لیزین و اورنیتین دکربوکسیلاز جهت تایید وجود باکتری و میزان فراوانی بیماری استفاده شد (۱۱و۵). در این بررسی ماهیانه از آب هر مزرعه یک نمونه در ظرف پلاستیکی به حجم ۲۵۰ سی سی اخذ و در کنار یخ به آزمایشگاه اداره دامپزشکی شهرستان ساری منتقل می‌گردید و پارامترهایی مثل نیتريت به روش برن شنايدر و رابینسون، نیترات به روش ستون کاهشی کادمیوم و آمونیوم به روش فنات اندازه گیری شد (۱۳و۱۰). مقدار pH ، TDS و دمای آب با استفاده از دستگاه HQC، مدل HACH اندازه گیری شد. اکسیژن محلول نیز طبق استاندارد متد D888-05، به شیوه لومینوسانس HACH اندازه‌گیری گردید (۱۳و۱۰). نمونه برداری از آب هر مزرعه با استفاده از ظرف پلاستیکی استریل درب دار با حجم ۷۰ میلی لیتر صورت گرفت و نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از تهیه رفتهای سریالی ( $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$ ،  $10^{-3}$ ) به روش پورپلیت در

جدول ۱- درصد آلودگی نمونه‌های بچه ماهی قزل آلا به باکتری یرسینیا راکریدر مزارع منتخب

بچه ماهی مزرعه	بیمار		سالم		درصد آلودگی به B <sup>+</sup> (بیمار)	درصد آلودگی به B <sup>+</sup> (سالم)
	B <sup>+</sup>	B <sup>-</sup>	B <sup>+</sup>	B <sup>-</sup>		
1	4	14	13	33	22.2	28.3
2	2	16	0	38	11.1	0.0
3	9	14	5	26	39.1	16.1
4	5	16	5	17	23.8	22.7
5	7	13	11	20	35.0	35.5
6	5	21	2	12	19.2	14.3
7	6	19	1	27	24.0	3.6
8	1	10	2	34	9.1	5.6
9	1	3	0	31	25.0	0.0
10	1	7	0	30	12.5	0.0
جمع کل	41	133	39	268		

B<sup>+</sup> بچه ماهی آلوده به یرسینیا راکری B<sup>-</sup> بچه ماهی سالم

بررسی نقش پارامترهای محیطی و فیزیوشیمیایی موثر بر شیوع بیماری یرسینیوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل...



نمودار ۱- درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار به یرسینیا راکری

پروراری (دارای علائم بیماری) و ۴۲ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پروراری (فاقد علائم بیماری)، آلوده به یرسینیوزیس بودند (جدول ۲ و نمودار ۲).

نتایج نمونه برداری از کلیه قدامی ۲۳۵ ماهی پیش پروراری و پروراری (با دامنه وزنی ۵۰ تا ۵۰۰ وزن گرم) دارای علائم بیماری و ۴۸۳ ماهی پروراری فاقد علائم بیماری (مجموعاً ۷۱۸ نمونه ماهی پروراری) نشان داد که ۴۸ عدد از ۲۳۵ ماهی

جدول ۲- تعداد نمونه بچه ماهیان آلوده به یرسینیا راکری و فاقد آلودگی در ۱۰ مزرعه مورد بررسی طی یک سال

مزرعه	بچه ماهی		بیمار		سالم	
	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>
1	8	7	5	35	53.3	12.5
2	1	9	2	52	10.0	3.7
3	4	16	4	42	20.0	8.7
4	9	24	14	30	27.3	31.8
5	8	25	7	29	24.2	19.4
6	5	24	1	50	17.2	2.0
7	7	24	1	35	22.6	2.8
8	5	21	6	41	19.2	12.8
9	0	17	1	67	0.0	1.5
10	1	20	1	60	4.8	1.6
جمع	۴۸	۱۷۸	۴۲	۴۴۱		

P<sup>+</sup> ماهی پروراری آلوده به یرسینیا راکری - P<sup>-</sup> ماهی پروراری سالم

بیماری (۳۰۷ بچه ماهی و ۴۸۳ پروراری)، بودند و به ظاهر سالم به نظر می‌رسیدند اما ۱۰٪ این ماهیان نیز آلوده به یرسینیا راکری بودند.

بطور کلی تعداد ماهیان دارای علائم بیماری (۱۷۵ بچه ماهی و ۲۳۵ پروراری)، ۴۱۰ عدد بود که ۲۰٪ آنها مبتلا به یرسینیوزیس بودند. ۷۹۰ عدد از نمونه‌ها نیز فاقد علائم

جدول ۳- نتایج رنگ آمیزی و تست‌های بیوشیمیایی در باکتری یرسینیا راکری جداسازی شده در این تحقیق

<i>Yersinia ruckeri</i>	تست
مستقیم تا کوکوباسیلی	شکل سلول و مرفولوژی
قرمز رنگ	رنگ آمیزی گرم
-	KOH 3%
F	O-F glucose تست
+	کاتالاز
-	اکسیداز
+	حرکت
-	H <sub>2</sub> S
-	اندول
+	متیل رد
-	VP
+	کاهش نیتрат به نیتريت
+	رشد در آگار سیمون سترات
+	رشد در مک کانگی آگار
-	اوره
-	تولید آرژنین دهیدرولاز
+	تولید لیزین دکربوکسیلاز
+	تولید اورنیتین دکربوکسیلاز
+	مانوز
A	مانیتول
-	سالیسین
+	ترهالوز
A	گلوکز
-	گزیلوز
-	لاکتوز
-	اینوزیتول
-	سوربیتول

+ : واکنش مثبت - : واکنش منفی F: تخمیر کننده A: تولید اسید از قند

ماهانه در زمان انجام این تحقیق (یک سال) در جدول آورده شده است.

فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی مورد بررسی در این تحقیق شامل نیتريت، نیترات، NH<sub>4</sub><sup>+</sup>، TDS، DO، دما و pH هستند که جزئیات نتایج این فاکتورها طی ۱۲ بار نمونه برداری

بررسی نقش پارامترهای محیطی و فیزیکوشیمیایی موثر بر شیوع بیماری یرسینیوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل...  
 جدول ۴- فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب اندازه‌گیری شده طی یک سال در ۱۰ مزرعه مورد بررسی

Nitrit(mg/l)	Nitrat(mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	TDS(g/l)	DO(mg/l)	دما (°C)	pH	مزرعه
0.0073±0.009 3	0.6808±0.250 1	0.1179±0.214 0	0.1925±0.050 1	9.03±0.7 6	10.63±2.3 6	8.30±0.3 0	۱
0.0077±0.008 0	0.7174±0.285 9	0.0556±0.037 4	0.2017±0.049 8	8.92±0.5 6	10.85±1.9 3	8.43±0.2 0	۲
0.0115±0.021 8	0.8343±0.355 1	0.0938±0.065 4	0.2150±0.063 8	9.32±0.5 1	11.08±2.7 1	8.42±0.1 0	۳
0.0112±0.019 8	0.7976±0.195 8	0.1090±0.096 9	0.2133±0.047 5	9.47±0.6 0	10.22±3.0 8	8.19±0.6 2	۴
0.0111±0.010 9	0.7818±0.343 3	0.1126±0.087 4	0.2208±0.033 7	9.24±0.5 4	10.94±2.8 4	8.33±0.4 5	۵
0.0109±0.013 6	0.7240±0.250 6	0.0829±0.044 2	0.2083±0.032 0	9.30±0.5 5	10.38±3.2 4	8.37±0.4 7	۶
0.0109±0.026 7	0.7240±0.385 3	0.0829±0.104 0	0.2083±0.029 4	9.30±0.6 2	10.38±3.1 6	8.37±0.3 4	۷
0.0165±0.019 9	0.8022±0.283 9	0.0913±0.051 0	0.2217±0.037 8	9.33±0.7 4	10.63±3.2 4	8.54±0.6 1	۸
0.0170±0.029 0	0.9265±0.542 0	0.2131±0.260 5	0.2250±0.043 7	9.29±0.6 4	10.51±3.0 5	8.54±0.2 0	۹
0.0198±0.026 0	0.9155±0.465 5	0.1220±0.105 0	0.2367±0.032 6	9.47±0.8 9	10.26±3.2 9	8.49±0.6 2	۱۰

است اما مقدار pH بیشتر از حد مجاز و دما نیز کمتر از حد مناسب برای پرورش بوده‌اند و کاهش دما و افزایش میزان pH با میزان شیوع بیماری یرسینیوزیس در مزارع پرورشی ارتباط آماری معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ).

با توجه به حد مجاز فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب مشخص شد که مقادیر نیتریت، نیترات، TDS، NH<sub>4</sub><sup>+</sup> و اکسیژن (به جز مزرعه ۲) مزارع، در حد مجاز تعیین شده برای آب ورودی مزارع تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا بوده

جدول ۵- شمارش کلی باکترهای نمونه‌های آب ۱۰ مزرعه

Total count(CFU/ml)
9777±19719.4384
23922±51001.9940
9812±16820.3807
6893±14019.6479
22508±40443.2055
16559±27696.2093
16559±57773.6696
23543±43839.7692
24402±48272.0886
16014±30144.1011

در زمستان بود. در تمام مزارع حداقل نیترات در فصل پائیز (به جز مزرعه ۱) و حداکثر در زمستان (به جز مزرعه ۹)

در تمام مزارع مورد مطالعه مشخص گردید که حداقل میزان نیتریت در فصل پائیز (به جز مزرعه ۷) و حداکثر مقدار آن

اندازه‌گیری شد. همچنین در تمام مزارع حداقل  $\text{NH}_4^+$  در فصل تابستان (به جز مزرعه ۳) و حداکثر در فصول مختلف اندازه‌گیری شد ولی بیشترین حالت حداکثری را در فصل پائیز داشت. با توجه به نتایج در اکثر مزارع حداقل TDS در فصل تابستان و حداکثر در زمستان اندازه‌گیری شد، هر چند که مقادیر حداقل و حداکثر در فصول دیگر نیز مشاهده شد. با توجه به آنالیز داده‌ها بین افزایش بیماری و حداکثر میزان توتال کانت که در فصول تابستان (مزارع ۲، ۳، ۴) و پاییز (مزارع ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) ارتباط آماری معنی داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ).

#### بحث

در طول این تحقیق مشخص شد که ۴۱ عدد از ۱۷۵ بچه ماهی دارای علائم بیماری (۲۳/۴٪) و ۳۹ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۱۲/۷٪)، آلوده به یرسینیوزیس بودند و از طرفی ۴۸ عدد از ۲۳۵ ماهی پروراری دارای علائم بیماری (۲۰/۴٪) و ۴۲ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پروراری فاقد علائم بیماری (۸/۷٪)، آلوده به یرسینیوزیس بودند. در واقع عدم جداسازی یرسینیا راکری از ۷۶/۶ درصد بچه ماهیان دارای علائم، نشان دهنده وجود کاستی‌هایی در تغذیه (بالانس نبودن جیره، کمبود ویتامین‌ها و نیز مواد معدنی کمیابی همچون روی سلنیوم، منگنز و ...) و یا شرایط زیست محیطی ماهی باشد. به نظر می‌رسد که علت جداسازی یرسینیا راکری در ماهیان به ظاهر سالم نیز، حامل بودن این ماهیان باشد. بروز بیماری دهان قرمز روده‌ای، در قزل آله‌های دارای طول تقریبی ۷/۵ سانتی متر، معمول‌تر است و در ماهیان بزرگتر (حدود ۱۲/۵ سانتی متر) شدت چندانی ندارد و اغلب به صورت مزمن است (۲۰۱). در این تحقیق، عامل بیماریزا هم از بچه ماهیان و هم از ماهیان پروراری جداسازی شد اما میزان آن در بچه ماهیان بیشتر از ماهیان پروراری بوده است. که با اظهارات Austin و Austin (۱۹۹۳) مطابقت دارد زیرا ماهیان کوچکتر نسبت به عوامل

بیماریزا حساس ترند و احتمال بروز بیماری و مرگ در آنها بیشتر است (۱). همچنین برخی از بچه ماهیان نیز تا سنین بالاتر این عامل بیماریزا را با خود حمل می‌کنند و بیماری به صورت مزمن در آنها وجود دارد که جداسازی عامل بیماریزا از ماهیان به ظاهر سال در این تحقیق، گواهی بر این ادعاست. Behroozi و Soltani (۲۰۰۳) اظهار نمودند که ماهیان گله‌ای که پس از ابتلا به یرسینیوزیس، زنده باقی می‌مانند، حاملین بدون نشانه این بیماری می‌گردند و احتمال دارد که در صورت انتقال به مکانهای دیگر، بیماری را انتقال دهند (۴). Meier (۱۹۸۶) نیز مشابه یافته‌های ما، طی گزارشی که از یرسینیوزیس در مزرعه پرورش قزل آلا ارائه نمود، اظهار نمود که بیماری در ابتدا در بچه ماهیان ۸ تا ۱۲ سانتی متری رخ داد و ۵ تا ۷ روز بعد در ماهیان بزرگتر (۲۴ تا ۳۰ سانتی متری) پدیدار شد و درجه تأثیر نیز در ماهیان بزرگتر، کمتر بود (۱۲). در این تحقیق مشخص شد مقادیر نیترات، نیتريت، TDS،  $\text{NH}_4^+$  و اکسیژن (به جز مزرعه ۲) مزارع، در حد مجاز تعیین شده برای آب ورودی مزارع تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا بوده است اما مقادیر pH، بیشتر از حد مجاز و میزان دما نیز کمتر از حد مناسب برای پرورش بوده‌اند اما عواملی که در بروز یرسینیوزیس بیشترین تأثیر را داشته‌اند، شامل افزایش pH و کاهش دما بود و از آنجائیکه در pH بالا، فرم غیر یونیزه و سمی آمونیاک یعنی  $\text{NH}_3$  بیشتر وجود دارد، وجود  $\text{NH}_3$  بالا یکی از عوامل بروز این بیماری است.

طی بررسی که ذریه زهرا و همکاران در رابطه با عوامل زیست محیطی مؤثر بر بروز بیماری دهان قرمز روده‌ای در ماهی قزل آلا در مزارع استان همدان، انجام دادند، مشخص شد که در مزارع آلوده به یرسینیوزیس فاکتورهای زیست محیطی نامناسبی همچون، pH = ۵، دمای بالا (۱۸ - ۲۰ درجه سانتی گراد)، آمونیاک زیاد ( $\text{NH}_3 = 0.05 \text{ mg/L}$ )، اکسیژن محلول کم ( $\text{O}_2 = 4-5 \text{ mg/L}$ )، وجود گاز  $\text{H}_2\text{S}$  و دی اکسید کربن در حد بحرانی ( $\text{CO}_2 = 8 \text{ mg/L}$ ) وجود



همراه با افزایش دما، البته از ۱۰ درجه سانتی گراد به ۱۲ درجه سانتیگراد بوده است (۱۲). همچنین Zorriehzahra و همکاران (۲۰۱۲)، بالاترین خطر وقوع بیماری را در حرارت ۸ تا ۱۶ درجه سانتی گراد اظهار نموده‌اند البته بیان نموده‌اند که بیماری می‌تواند در دمایی تا حد ۴ درجه سانتی گراد نیز رخ دهد اما در دماهای بالاتر، مرگ و میر به سرعت رخ می‌دهد (۱۸). با توجه به شواهد فوق به نظر می‌رسد که هر چند اوج بروز این بیماری در دماهای بالاتر همچون دمای ۱۸ - ۱۵ درجه سانتی گراد است (۱) اما امکان بروز این بیماری در دماهای پایین‌تر نیز وجود دارد، چه بسا اگر در این تحقیق آب مزارع دارای دمای بالاتری بود، فراوانی نمونه‌های یرسینیا را کوی مثبت، بیشتر می‌بود زیرا به نظر می‌رسد که با افزایش دما، شرایط باکتری برای رشد در بدن ماهی، مساعدتر می‌شود و نتیجتاً در قسمت‌های گسترده تری از بافت‌های کبد و کلیه رشد می‌نماید و احتمال جداسازی باکتری نیز بیشتر می‌گردد. از آنجائیکه هدایت الکتریکی (و متعاقباً TDS)، pH و اکسیژن محلول، با تغییر درجه حرارت، تغییر می‌کنند، از طرفی نیز چون ماهی موجودی خونسرد است و متابولیسم آن وابسته به دماست و دما بر روی رشد و ضریب تبدیل غذای ماهی تأثیر می‌گذارد (۱۸)، می‌توان اظهار نمود که کاهش دما نیز به اندازه افزایش دما در نامساعد نمودن شرایط پرورش برای ماهی و در نتیجه ایجاد استرس ابتلا به بیماری مؤثر است. در pH بالا،  $NH_3$  (شکل غیر یونیزه آمونیاک) بیشتر از سایر فرم‌های آمونیاکی است، همچنین pH بالا سبب می‌شود تا میزان سمیت ترکیباته مضر از ته بیشتر باشد، از این رو بالا بودن pH (در اغلب فصول سال، در هر ۱۰ مزرعه) می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در افزایش بروز بیماری در این مزارع باشد زیرا افزایش pH و دما در تبدیل شکل یونیزه آمونیاک به آمونیاک غیر یونیزه بسیار مؤثر است. محققین دیگر نیز، صدق این ادعا را تأیید نموده‌اند (۱۸). به طور کلی استرس، عاملی مؤثر در بروز این بیماری است بطوریکه Hunter و همکارانش (۱۹۸۰)

داشته است و همچنین کیفیت تغذیه نیز پایین، تراکم بالا و استرس ناشی از دستکاری زیاد بوده و تجمع زیاد گیاهان آبی در محیط پرورش دیده شده است (۱۸)، نتایج این محققین تا حد زیادی مشابه نتایج بدست آمده ما در این تحقیق بوده است، هر چند که در مزارع مورد بررسی آنها pH و دما مانند مزارع هراز به عنوان عوامل زیست محیطی مؤثر در بروز یرسینیوزیس تشخیص داده شده‌اند اما مقادیر pH مزارع هراز برعکس همدان، بیشتر از حد مجاز و دما نیز کمتر از حد مجاز بوده اند (۱۸). عامل مؤثر در بروز اولین یرسینیوزیسی که در رومانی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان گزارش گردید، نیز افزایش دمای آب در فصل بهار بوده است (۷) Hunter و همکاران (۱۹۸۰) نیز گزارش نمودند که استرس ناشی از افزایش دما در افزایش انتقال این بیماری در ماهی قزل آلابی سر فولادی (*Salmo gairdneri*)، اثر مؤثر و فزاینده دارد (۸). هر چند که Austin و Austin (۱۹۹۳) اظهار نمودند، اوج بروز این بیماری در دمای ۱۸ - ۱۵ درجه سانتی گراد است و با کاهش دمای آب به زیر ۱۰ درجه سانتی گراد، کاهش می‌یابد (۱) و یافته‌های ما در این تحقیق با گفته‌های آنها مطابقت دارد ما نیز کم بودن دما را به عنوان عامل مؤثر در بروز بیماری دانسته ایم اما با توجه به نتایج متضادی که در این زمینه با تحقیقات (Zorrie zahra et al, 2012) وجود دارد، می‌توان به این نتیجه رسید ماهیان در محیط‌هایی که دمای بهینه برای رشد آنها را ندارد، دچار استرس می‌گردند و از این رو هم بالا رفتن و هم پایین آمدن دمای آب سبب نامساعد شدن محیط برای ماهیان و در نتیجه مساعد شدن شرایط برای تسلط عوامل بیماریزا بر ماهیان می‌گردد (۱۸ و ۱). اظهارات Rodgers (۲۰۰۶) در زمینه بروز یرسینیوزس، تا حد زیادی تأیید کننده گفته ماست زیرا او اظهار نموده که بروز ERM با افزایش یا کاهش دمای آب، بالا رفتن تراکم و کیفیت پایین آب، ارتباط مستقیم دارد (۱۴). همچنین Meier (۱۹۸۶) گزارش نمود که بروز این بیماری

## References

- 1- Austin, B. and Austin, D. (1993). Bacterial fish pathogens diseases in farmed and wild fish. Ellis Horwood limited. 27-37 and 70-73 .
- 2- Austin, B and Austin, D.A. (1999). Bacterial fish pathogens-diseases of farmed and wild fish. 2nd Edn. Springer-Verlag, 188-226.
- 3- Azari takami, Gh. (1983). Fish propagation and culture principles. Jahad Keshavarzi publication. 152.
- 4- Behroozi, S. and M. Soltani. (2003). Study and isolation of *Yersinia ruckeri* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Mazandaran Province. 13th Iranian Veterinary Congress, Book of Abstracts, 317 (In Farsi).
- 5- Buller, N.B. (2004). Bacteria from fish and other aquatic animals, A practical Identification Manual. CABI Publishing. 360.
- 6- Busch, R. A. (1978). Enteric redmouth disease (Hagerman strain). Mar. Fish. Rev. 40 (3) 42-51.
- 7- Guguianu, e., Vulpe, V., Lazar, M and Rimbu, C. (2009) . Yersiniosis outbreak in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at a fish farm from northern Romania. Journal of Cercetări Agronomice în Moldova . Vol. XLII. 75-80.
- 8- Hunter, V.A., Knitteland J M.D and Fryer, L. (1980). Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Journal of Fish Disease, 3:467-472.
- 9- Leph, M and Piers, B. (2002). practical Color Atlas of Microbiology. Translated to Farsi by Saeidi asl, M., Safari, R. and Mirzaie, H. Nashr-e Gahankadeh Publication. 147.

نشان دادند که ماهیان حامل باکتری *یرسینیا راکری* اگر در معرض استرس قرار نگیرند، این بیماری را به ماهیان دیگر، انتقال نمی‌دهند (۸). هر نوع تغییر در محیط زیست ماهی و افزایش عوامل استرس زا می‌تواند سبب افزایش احتمال آلودگی دهان قرمز روده‌ای گردد. همچنین شرایط استرس زایی همچون تراکم بالا و کیفیت پایین آب سبب افزایش حساسیت و مرگ و میر ماهی می‌گردد (۱۶). از این رو علاوه بر عوامل استرس زایی که ما در این تحقیق به آنها نپرداخته ایم (دستکاری ماهی)، عواملی همچون تراکم بالا به دلیل به همراه داشتن تولید آمونیاک و مواد دفعی بیش از حد و زیاد و نتیجتاً کاهش اکسیژن و نامساعد نمودن شرایط، سبب ایجاد استرس در ماهیان و در نتیجه حساس تر شدن آنها به ابتلا به بیماری می‌گردد.

10- Liao, N.( 2001). Determination of ammonia by flowinjection analysis. QuikChem® Method 10-107-06-1-J. Lachat Instruments. Loveland, Colorado.

11- MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical Testes for Identification of medical Bacteria. Williams and Wilkins. 912.

12- Meier.M. (1986). Enteric red mouth disease: Outbreak in Rainbow trout in Switzerland. Journal of Diseases of Aquqtic Organisms. 2:81-82.

13- Pritzlaff, D. (2003). Determination of nitrate/nitrite in surface and wastewaters by flow injection analysis. QuikChem® Method 10-107-04-1-C. Lachat Instruments. Loveland, Colorado.

14- Rodgers, C.J.( 2006). The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of Yersinia ruckeri. Journal of Fish Disease. 14: 291 – 301.

15- Soltani,M. (2000). Salmonidea diseases. Tehran University publication. 444.

16- Westers•H.(1990(.Therole and application of high purity oxygen inintensive fish(Salmonid) culture. Mich.Dept. of Nat.Res.Lansing•MI(unpublished)• 48.

17- Vosoghi,Gh and Mostajir, B. (1999). Freshwater fishes. Tehran university Publication. 317.

18- Zorriehzahra• M.J., Hassan•H.M.D.; Nazari•A.، Gholizadeh• M.، Farahi•A. (2012).Assessment of environmental factors effects on enteric redmouth disease occurrence in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Hamedan province• Iran• Journal of Comparative Pathology Research.1:79-85.

