

مقاله علمی - پژوهشی:

برخی عوامل خطر ساز بر تولید ماهیان قزل آلائی رنگین کمان با تأکید بر شاخص های میکروبی و فلزات سنگین آب مزارع حاشیه رودخانه هراز

مریم قیاسی*^۱، حسن نصراله زاده ساروی^۱، حسن فضلی^۱، رضا صفری^۱، سید محمد وحید فارابی^۱، محمد بینائی^۱، زهرا یعقوب زاده^۱، عین اله زارع^۲، شهریار بهروزی^۱، فرشیده حبیبی^۱

*ghiasimaryam4@gmail.com

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

۲- اداره شیلات شهرستان آمل، آمل، ایران.

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۰

چکیده

رودخانه هراز نقش مهمی در توسعه آبی پروری و تولید قزل آلائی رنگین کمان در مازندران دارد. هدف این بررسی ارزیابی شاخص های میکروبی و فلزات سنگین آب و نیز شناسایی عوامل باکتریایی بیماری زا رایج و قدرت مقاومت آنها در برابر آنتی بیوتیک های مصرفی به عنوان عوامل موثر بر تولید ماهیان بوده است. این تحقیق طی چهار فصل (تابستان، پاییز و زمستان ۱۳۹۶ و بهار ۱۳۹۷) در ۶ مزرعه مجاور رودخانه هراز انجام گردید. بر اساس نتایج میزان جیوه آب ورودی مزارع مورد بررسی در تمام فصول از حداقل ۳ برابر حداقل حد مجاز (۱ میکروگرم بر لیتر) تا حداکثر ۶ برابر حداکثر حد مجاز (۲ میکروگرم بر لیتر) بود ولی میزان آرسنیک، سرب و کادمیوم در تمام مراحل نمونه برداری در حد استاندارد بود. مهمترین علایم بالینی مشاهده شده در ماهیان، پوسیدگی باله، شنای نامتعارف، التهاب و پرخونی کبد و کلیه بود. از مجموع ۴۲۰ عدد ماهی واجد علایم بالینی ۱۵/۱۲ و ۸۵/۸۷٪ به ترتیب از نظر کشت باکتری مثبت و منفی بودند. عوامل باکتریایی جداسازی شده همگی از باکتری های گرم منفی و براساس درصد فراوانی شامل یرسینیا (۳۷/۲۵٪)، آنروموناس (۳۳/۳۵٪)، ادواردزیلا (۱۱/۷۶٪)، ویبریو (۷/۸۴٪)، پاستورلا (۵/۸۸٪) و سیتروباکتر (۳/۹۲٪) بودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در برابر آموکسی سیلین و کمترین آن مربوط به تری متوپریم سولفامتو کسازول بود. در ارزیابی شاخص های میکروبی آب شامل شمارش کلی باکتری، کلیفرم، کلیفرم مدفوعی و اشریشیا کولی، نتایج نشان داد که شاخص های میکروبی آب تقریباً در بیشتر مراحل نمونه برداری بیش از حد مجاز بود. با توجه به نتایج به نظر می رسد، تاثیر فلز سنگین جیوه بر سلامت ماهیان براساس علایم بالینی، افزایش مقاومت عوامل باکتریایی بیماری زا در برابر آنتی بیوتیک ها و نیز بیش از حد مجاز بودن شاخص های میکروبی آب از عواملی هستند که به طور مستقیم و غیر مستقیم تولید ماهیان قزل آلا مزارع حاشیه رودخانه هراز را تحت تاثیر قرار داده اند. لذا، توجه به استفاده از روش های مناسب مدیریت آب در جهت کاهش بار میکروبی و فلز جیوه در کنار استفاده از تغذیه و مدیریت پرورش مناسب تا حدود زیادی مشکلات تولید را در این رودخانه حل خواهد نمود.

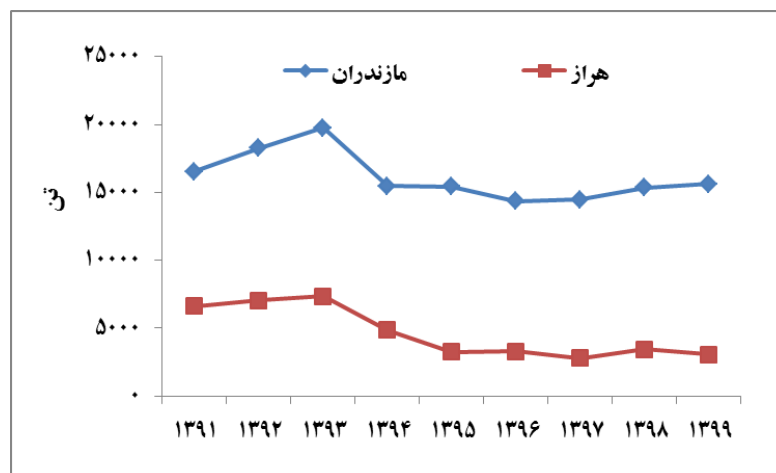
لغات کلیدی: رودخانه هراز، قزل آلائی رنگین کمان، کلیفرم مدفوعی، جیوه، تری متوپریم سولفامتو کسازول

*نویسنده مسئول

مقدمه

قزل‌آلای رنگین‌کمان به جهت داشتن خصوصياتی چون سازش خوب با شرایط پرورش متراکم، عادت‌پذیری به غذای دستی و برخورداری از سرعت رشد مناسب امروزه به عنوان مهم‌ترین گونه پرورشی سردآبی در دنیا معرفی شده است (راستیان‌سب و همکاران، ۱۳۹۶). هرچند سابقه تولید ماهی قزل‌آلا در ایران به عنوان تنها گونه پرورشی سردآبی به سال ۱۳۳۸ برمی‌گردد، اما تا سال ۱۳۶۰ تعداد واحدهای پرورش این ماهی در ایران بسیار محدود بود (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۵). از آغاز دهه ۸۰ خورشیدی تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور از رشد چشمگیری برخوردار شد و طی دهه اخیر از ۹۱۵۱۹ تن در سال ۱۳۸۹ به ۱۹۰۲۸۷ تن در سال ۱۳۹۹ رسید (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۰؛ ۱۴۰۰) که با پیش‌بینی ۶۲۳ هزار تن تولید جهانی در سال ۲۰۲۰.

ایران در زمره ۵ کشور مطرح تولید کننده قزل‌آلای با وزن کمتر از ۱/۵ کیلوگرم (Small size) و تامین کننده بیش از ۳۰٪ تولید جهانی است (Tveteras et al., 2019). استان مازندران با دارا بودن منابع آبی گسترده و مناسب برای توسعه فعالیت‌های شیلاتی، از مهم‌ترین مراکز تولید قزل‌آلا در کشور است و براساس اطلاعات اداره کل شیلات استان مازندران، مزارع حاشیه هراز بیش از ۵۰٪ درصد کل تولید استان و حدود ۶ درصد تولید قزل‌آلای کشوری را تا سال ۱۳۹۳ به‌عهده داشته‌اند. ولی متأسفانه در سال ۱۳۹۴ تولید در این منطقه با یک کاهش ۲۵۰۰ تنی در مقایسه با سال ۱۳۹۳ روبرو شد و این روند ادامه یافت و به کاهش تولید این ماهی در استان انجامید (شکل ۱) (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۰؛ ۱۴۰۰، اطلاعات اداره کل شیلات استان مازندران).



شکل ۱: مقایسه تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۱ در استان مازندران و رودخانه هراز

Figure 1: Comparison of rainbow trout production during 2012-2020 in Mazandaran Province and Haraz River

انجام شده طی سال‌های ۸۵-۱۳۸۷، مهم‌ترین بیماری باکتریایی ماهیان پرورشی قزل‌آلای هراز استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس (دهان قرمز) بودند (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۲). هرچند عفونت قارچی ناشی از گونه‌های ساپروولگنیا و آفانومایسس از هجری ماهیان قزل‌آلا در هراز گزارش شده بود (قیاسی و همکاران، ۱۳۸۳)، ولی بروز اپیدمی قارچی و تلفات ناشی از آن در

پیشینه مطالعه عوامل عفونی ایجاد کننده تلفات در منطقه هراز، اولین بار به شناسایی عوامل باکتریایی شبه فلاوباکتر در تعدادی از مزارع هراز باز می‌گردد (سلطانی و رستمی، ۱۳۷۶). به تدریج بروز بیماری استرپتوکوکوزیس (که اولین گزارش این بیماری در کشور بود) (قیاسی و همکاران، ۱۳۷۹) و یرسینیوزیس (بهروزی، ۱۳۸۲) در ماهیان پرورشی این منطقه شناسایی شد و براساس بررسی‌های

بیوتیک، به یک ارزیابی اولیه در خصوص برخی عوامل موثر در کاهش بازماندگی و تولید قزل آلا در مزارع حاشیه رودخانه هراز پرداخته شود.

مواد و روش کار

مکان و زمان نمونه برداری

این مطالعه در شش مزرعه در ناحیه اسک (مزرعه ۱)، نیاک (مزرعه ۲)، گزنک (مزرعه ۳ و ۴)، شاهاندشت (مزرعه ۵) و وانا (مزرعه ۶) صورت گرفت. نمونه برداری در تابستان، پاییز و زمستان ۱۳۹۶ و بهار ۱۳۹۷ طی هفت مرحله (بهار دو مرحله، تابستان سه مرحله، پاییز و زمستان یک مرحله) انجام شد. در شکل ۲ موقعیت جغرافیایی مزارع نشان داده شده است.

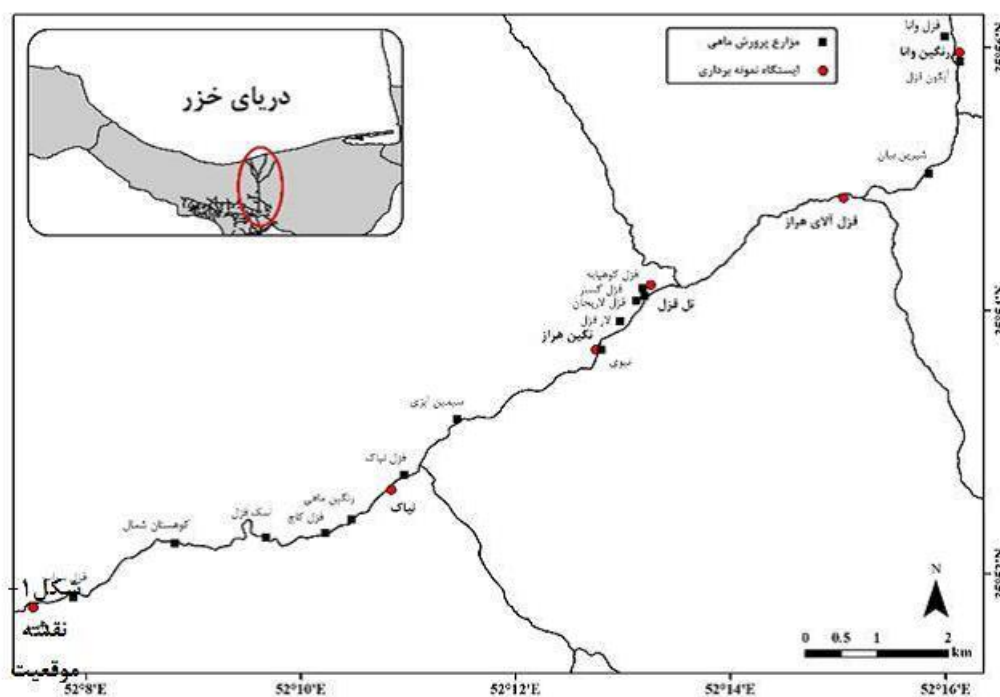
نمونه برداری و انجام آزمایش‌های مربوط به ارزیابی عناصر فلزی و شاخص‌های میکروبی آب

آب، با ظروف پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری از ورودی هر مزرعه برای سنجش فلزات سنگین برداشت شد. برای ارزیابی فلزات سنگین جیوه، کادمیوم، سرب و آرسنیک، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب بعد از فرآیند آماده سازی (APHA, 2005) و با استفاده از جذب اتمی مجهز به سه سیستم شعله گرافیتی و سیستم بخار با لامپ زمینه دوتریم (D2 Thermo, Electron Corporation AA Seri System Model : M5) تعیین غلظت گردید (APHA, 2005). نمونه برداری از آب ورودی و خروجی هر مزرعه برای ارزیابی شاخص‌های میکروبی انجام شد. برای این کار، در شیشه‌های کدر در سنباده‌ای استریل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر در عمق ۲۰ سانتی‌متری از سطح آب برداشته شد و پس از پر شدن، درب آن در زیر آب بسته و در کنار یخ تا زمان انتقال به آزمایشگاه نگهداری شد. بعد از تهیه رقت سریالی از نمونه‌ها با سرم فیزیولوژی استریل، از رقت‌های ۱۰^{-۳} و ۱۰^{-۴} به روش کشت خطی (در سه تکرار) در محیط TSA (Merck, آلمان) کشت داده شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شد و سپس شمارش کلی باکتری‌ها انجام گردید.

قزل‌آلای پرورشی اولین بار در سال ۱۳۸۶ در هراز مشاهده شد (قیاسی و همکاران، ۱۳۸۹). از بیماری‌های ویروسی مسبب تلفات در ماهیان هراز، نکروز عفونی بافت خونساز^۱ (IHN) برپایه آنتی بادی‌های اختصاصی پلی کلونال، منوکلونال و پاتولوژی (ذریه‌زهرها و همکاران، ۱۳۸۴؛ حقیقی و همکاران، ۱۳۸۴) و براساس آزمایش‌های مولکولی تشخیص داده شد (زرگر و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین وجود بیماری نکروز عفونی لوزالمعده^۲ (IPN) با انجام آزمایش‌های مولکولی در ماهیان این منطقه ثابت شد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). مطالعات نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین میزان فلزات سنگین و بار میکروبی آب با سلامت ماهی قزل آلا وجود دارد. Svobodova و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند قرار گرفتن دائمی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در معرض فلزات سنگینی چون جیوه و کادمیم به دلیل تضعیف لایه موکوسی موجود در پوست و آبشش، بروز عفونت‌های ناشی از آئروموناس، سودوموناس و نیز قارچ زدگی ناشی از ساپروولگنیا را افزایش می‌دهد. همچنین فلزات سنگین می‌توانند سبب کاهش فاگوسیتوز، کاهش تعداد سلول‌های تولید کننده آنتی‌بادی و فعالیت لیزوزیم شوند و با ایجاد اختلال در عملکرد ایمنی ماهیان، آنها را مستعد ابتلا به انواع بیماری‌های عفونی نمایند (Terech-Majewska, 2016). مطالعه واردی (۱۳۸۶) بر شمارش کلی باکتری‌های آب رودخانه هراز نشان داد که تغییرات باکتری‌های هتروتروف رودخانه وابسته به زمان است و طی ماه‌های سال تغییر می‌کند و ترتیب فزونی تعداد باکتری‌ها در فصول مختلف به صورت تابستان < بهار < پاییز < زمستان بوده است. همچنین در همین مطالعه میزان فلزات مس، سرب، روی، آهن، کادمیوم، کبالت، منگنز و کروم ناچیز و حتی در حد تشخیص دستگاهی نبود. در این بررسی برای اولین بار تلاش شده است تا با ارزیابی برخی عوامل محیطی مانند فلزات سنگین و شاخص‌های میکروبی آب در کنار شناسایی عوامل باکتریایی رایج بیماری‌زا و نیز میزان مقاومت آنها به آنتی

¹ - Infectious hematopoietic necrosis

² - Infectious pancreatic necrosis



شکل ۲: نقشه موقعیت مکانی ایستگاه‌های مختلف نمونه‌برداری در رودخانه هراز (نقاط قرمز)

Figure 2: Map of different sampling stations at the Haraz River (red spot)

انتقال پلیت‌ها به آزمایشگاه میکروب شناسی بخش بهداشت و بیماری‌های پژوهشکده، به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و در ادامه خالص‌سازی و شناسایی نهایی (در حد جنس) با استفاده از آزمایش‌های تفریقی (رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، اندول، OF، مصرف ژلاتین، آرژنین، اریتین، تریپتوفان، گلوکز، ساکاروز، اوره، سیمون سترات، اوره آز، VP،MR، O129) انجام گردید (Austin and Austin, 2012).

آزمایش آنتی‌بیوگرام

باکتری‌ها در لوله‌های در پیچ‌دار حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط BHI براث (Merck، آلمان) کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. تعیین میزان باکتری OD هر نمونه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (Cecil1020، انگلستان) در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و براساس OD به‌دست آمده باکتری با رقت 10^6 در پلیت حاوی نوترینت آگار کشت داده شد و دیسک‌های آنتی‌بیوگرام مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های

از همین رقت‌ها برای شمارش کلیفرم‌ها در محیط ECC کروم آگار (Merck، آلمان) دو سری کشت به‌عمل آمد، سری اول پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (جهت رشد تمام کلیفرم‌ها) و سری دوم در ۴۴ درجه سانتی‌گراد (جهت رشد اشیریشیا کولی) به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های کلیفرمی و ایکولای بر اساس رنگ ایجاد شده در محیط شناسایی و شمارش شدند (Garry et al., 2009).

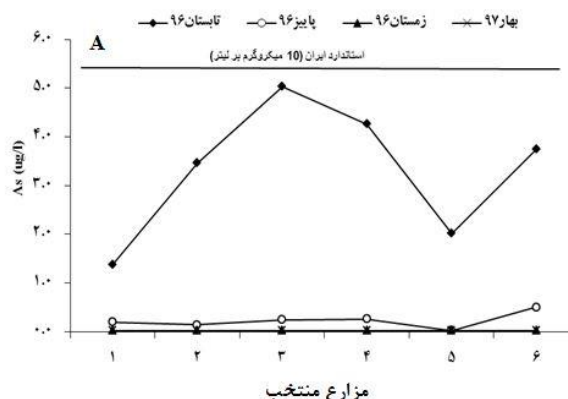
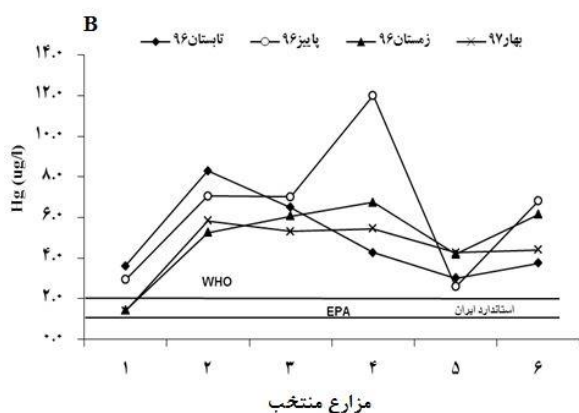
نمونه‌برداری از ماهی و انجام آزمایش‌های باکتری‌شناسی

از هر مزرعه تعداد ۱۰ عدد ماهی واجد علائمی چون شنای غیر طبیعی (جهش در سطح آب)، تیرگی رنگ، بیرون‌زدگی چشم و وجود زخم و جراحت در سطح بدن از حوضچه‌ها صید شدند (Huang et al., 2015). ماهیان در شرایط استریل کالبدشکافی و پس از بررسی وضعیت اندام‌های درونی، از بخش قدامی بافت کلیه آنها در محیط تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت تهیه شد و پس از

نتایج

عناصر فلزی

در مجموع، از ۴۲ نمونه آب ورودی طی هفت مرحله نمونه‌برداری، تغییرات غلظت سرب و کادمیم در محدوده تشخیص دستگاهی نبود. تغییرات غلظت آرسنیک نیز طی چهار فصل نمونه‌برداری آب ورودی مزارع منتخب از حد استاندارد ایران و سازمان بهداشت (۵-۱ میکروگرم بر لیتر) جهانی کمتر بود. در مقابل تغییرات غلظت جیوه از حد استاندارد ایران، سازمان محیط زیست آمریکا و سازمان بهداشت جهانی (۲-۱ میکروگرم بر لیتر) از حداقل ۳ برابر حداقل حد مجاز (۱ میکروگرم بر لیتر) تا حداکثر ۶ برابر حداکثر حد مجاز (۲ میکروگرم بر لیتر) بود (شکل ۳). شایان ذکر است، در این مطالعه برای اولین بار میزان غلظت جیوه در آب رودخانه هراز بررسی شده است.



شکل ۳: تغییرات مقادیر آرسنیک (A) و جیوه (B) آب ورودی مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز طی فصول مختلف
Figure 3: Arsenic and mercury level changes in the selected farms entrance water along the Haraz River during different seasons

کالبدگشایی، خونریزی وسیع در سطح احشاء داخلی، کیسه شنا، پرخونی شدید کلیه، التهاب و بزرگی طحال، التهاب، پرخونی و وجود نقاط خونریزی در سطح کبد و در مواردی محدودی رنگ پریدگی کبد مشاهده شد (اشکال ۴ الی ۷).

در مجموع، ۳۵ نمونه باکتری از کشت بافت کلیه ماهیان به‌دست آمد. درصد فراوانی نمونه‌های کشت مثبت و منفی باکتری از کلیه به‌ترتیب ۱۲/۱۵٪ و ۸۷/۸۵٪ بود.

آموکسی سیلین (AMX25)، تتراسایکلین (T30)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)، انروفلوکساسین (NFX) و فلورفنیکل (FF30) با استفاده از پنس استریل در سطح هر پلیت قرار گرفت و قرائت نتایج با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری انجام گردید (Vineetha et al., 2015).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۴) انجام شد. برای مقایسه نسبت بروز عفونت‌های باکتریایی در مزارع و فصول مختلف از آزمون مربع کای و از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه میانگین قطر هاله رشد در آزمون آنتی بیوگرام انجام شد.

ارزیابی بالینی و کشت میکروبی ماهیان

در مجموع، ۴۲۰ عدد ماهی واجد علائم بالینی (بدون توجه به وزن و سن پرورش) شامل بچه ماهی، پیش‌پروراری، پروراری و پیش‌مولد (حداقل وزن ۱۵ و حداکثر وزن ۵۶۰ گرم)، مورد ارزیابی بالینی و کشت میکروبی قرار گرفتند. بیشترین علائم ظاهری مشاهده شده شامل بی‌حالی، شنای نامنظم و جهش در سطح آب، تیرگی رنگ پوست، خوردگی باله‌ها و زخم در نواحی مختلف بدن بود که در مواردی با قارچ‌زدگی همراه بود. در



شکل ۴: زخم در ساقه دم و فک بالایی قزل آلالی رنگین کمان در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز
Figure 4: The wounds in tail and upper jaw of rainbow trout in selected farms along Haraz River



شکل ۵: زخم پشت و زخم متنفذه دیواره شکم در قزل آلالی رنگین کمان در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز
Figure 5: Back wound and abdominal perforate wound in the selected farms rainbow trout in along the Haraz River



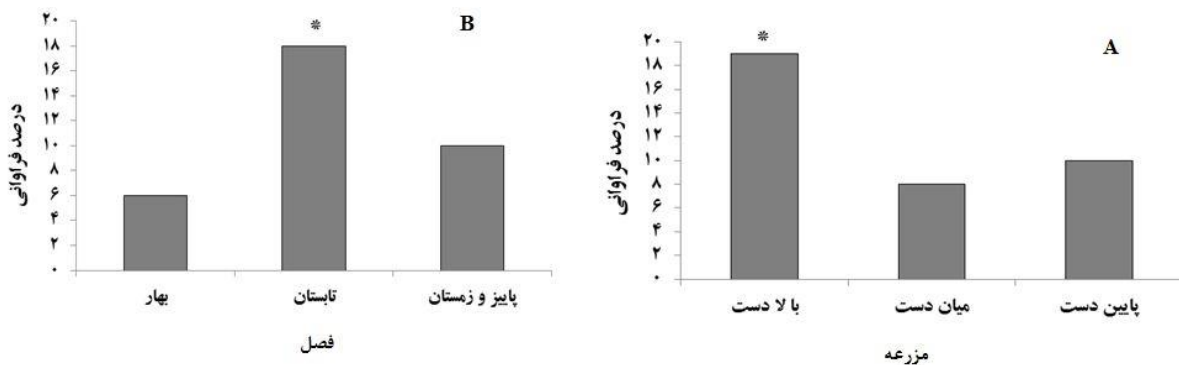
شکل ۶: خونریزی نقطه‌ای در سطح کیسه شنا و کبد قزل آلالی رنگین کمان در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز
Figure 6: Petechial bleeding on the surface of the swimming bladder and liver of rainbow trout in selected farms along the Haraz River



شکل ۷: التهاب طحال و پرخونی و التهاب کبد ماهیان قزل آلا رنگین کمان در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز
Figure 7: The spleen inflammation and hyperemia and inflammation of the liver of rainbow trout in selected farms along the Haraz River

معنی‌داری بیشتر از بهار، پاییز و زمستان ($p < 0.05$) و در مقایسه میزان فراوانی این شاخص در پاییز و زمستان بیشتر از بهار بود (شکل ۸). تمام باکتری‌های جداسازی شده از نوع کوکوباسیل گرم‌منفی بودند و هیچ‌گونه باکتری گرم‌مثبتی جداسازی نشد. براساس آزمایش‌های تفریقی، جنس باکتری‌های جداسازی شده و درصد فراوانی آنها به‌ترتیب یرسینیا ($37/25\%$)، آئروموناس ($33/35\%$)، ادواردلیلا ($11/76\%$)، ویبریو ($7/84\%$)، پاستورلا ($5/88\%$) و سیتروباکتر ($3/92\%$) بودند.

مقایسه درصد فراوانی بروز کشت مثبت باکتریایی در مزارع بالادست (مزارع ۱ و ۲ واقع در منطقه اسک و نیاک)، میان‌دست (۲ مزرعه در گزنک) و پایین‌دست (۲ مزرعه شاهاندشت و وانا) نشان داد که ماهیان مزارع بالا دست به طور معنی‌داری بیشتر از مزارع میان‌دست و پایین‌دست ابتلا به عفونت باکتریایی داشتند و نیز درصد فراوانی این شاخص در مزارع پایین‌دست بیش از میان‌دست بود ($p < 0.05$). همچنین درصد فراوانی ماهیان آلوده به عفونت‌های باکتریایی در تابستان به طور



شکل ۸: مقایسه درصد فراوانی کشت مثبت باکتری در مزارع (A) و فصول نمونه برداری (B) از ماهیان قزل آلا رنگین کمان در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز (علامت * نشانگر تفاوت معنی دار می‌باشد). ($p < 0.05$)

Figure 8: Comparison of the positive bacterial culture frequency in farms (A) and sampling time (B) of rainbow trout in selected farms along the Haraz River

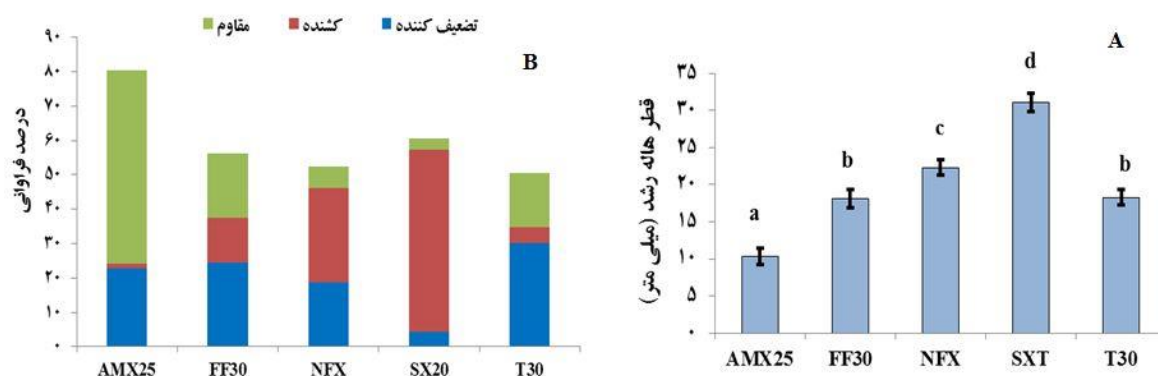
متوپریم سولفامتوکسازول و آموکسی‌سیلین بود. همچنین هنگام قرائت نتایج، اثرات تضعیف‌کنندگی و کشندگی آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بررسی گردید و مشخص شد بیشترین

نتایج آنتی‌بیوگرام

براساس نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام، بیشترین و کمترین حساسیت باکتری‌ها به طور معنی‌دار به‌ترتیب در برابر تری

به ترتیب مربوط به تری متوپریم سولفامتوکسازول و انروفلوکساسین بوده است (شکل ۹).

درصد تضعیف کنندگی (باکترواستاتیک) مربوط به تتراسایکلین و بیشترین درصد کشندگی (باکتریوسیدال)



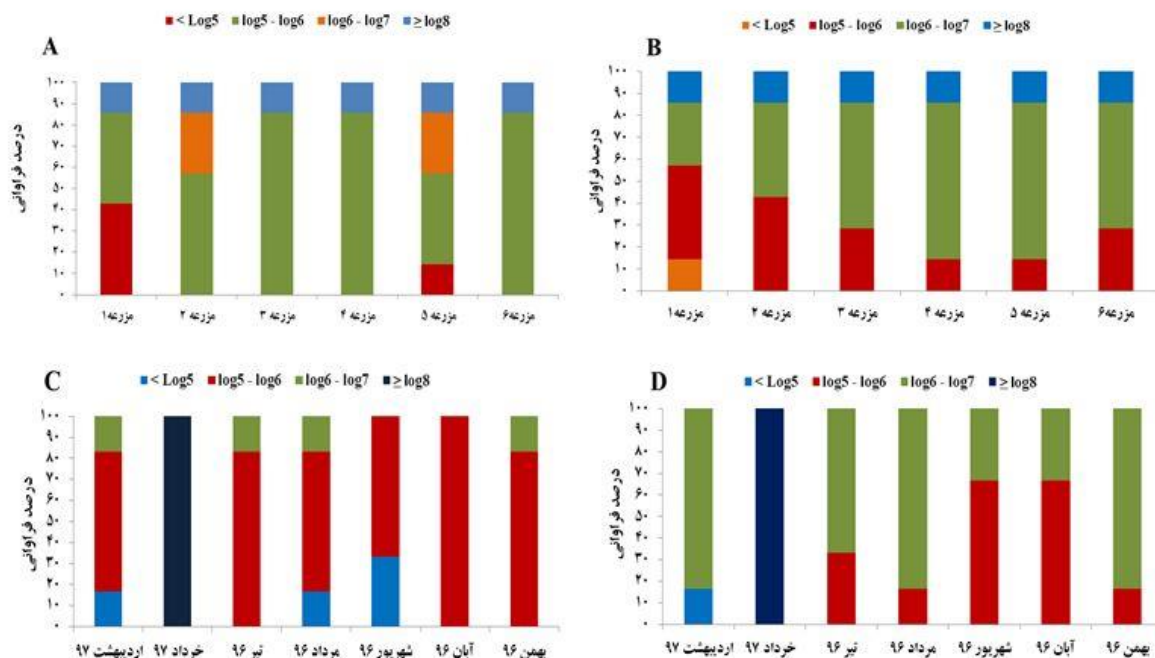
شکل ۹: مقایسه قطر هاله رشد باکتریها (A) و درصد فراوانی مقاومت، تضعیف کنندگی و کشندگی باکتری‌های جداسازی شده از ماهیان قزل آلا رنگین کمان در برابر آنتی بیوتیک‌ها در مزارع منتخب حاشیه رودخانه هراز (B)

Figure 9: Comparison of bacterial growth halo diameter (A) and frequency of resistance, attenuation and lethality of bacteria isolated from rainbow trout against antibiotics in selected farms along Haraz river (B)

نتایج شاخص‌های میکروبی آب

شاخص در تمام مزارع در دامنه لوگ ۵-۴ قرار داشت. میزان این شاخص در آب خروجی تمام مزارع بیش از استاندارد (10^2 CFU/100mL) باکتری یا لوگ ۲) و بیشترین درصد فراوانی آن در دامنه لوگ ۶-۵ بود. شمارش کلی باکتری‌های کلی‌فرمی آب ورودی طی ماه‌های مختلف در تمام موارد بیش از حد مجاز و در خرداد ماه دارای بیشترین مقدار بود و در سایر ماه‌ها بیشتر در دامنه لوگ ۵-۴ بود. در آب خروجی نیز این شاخص دارای بیشترین درصد فراوانی در خرداد و مرداد بود و میزان آن بیشتر در دامنه لوگ ۵-۴ بود (شکل ۱۱). نتایج شمارش کلی‌فرم‌های مدفوعی آب ورودی نشان داد که آب ورودی مزارع ۲ و ۵ دارای کمترین درصد شرایط مجاز (10^1 CFU/100mL) باکتری یا لوگ ۱) از نظر این شاخص بوده و در سایر مزارع بیش از ۷۰٪ نمونه برداری‌ها در حد استاندارد بودند. درصد فراوانی لوگ ۱ باکتری‌های کلیفرم مدفوعی آب خروجی مزارع ۱، ۲ و ۵ با ورودی یکسان بود، ولی در آب خروجی سایر مزارع، درصد فراوانی لوگ ۱ در مقایسه با ورودی کاهش داشت.

نتایج حاصل از ۸۴ نمونه آب ورودی و خروجی نشان داد که میزان شمارش کلی باکتری در آب ورودی مزرعه ۱ کمی بیش از ۴۰٪ و در مزرعه ۵ کمتر از ۲۰٪ موارد نمونه‌برداری در حد استاندارد (10^5 CFU/100mL) باکتری یا لوگ ۵) و در سایر مزارع میزان آن بیش از حد استاندارد بود. همچنین این شاخص در آب خروجی کمتر از ۲۰٪ موارد خروجی مزرعه ۱ در حد استاندارد و در سایر مزارع بیش از حد استاندارد بود. شمارش کلی باکتری‌های آب ورودی، طی ماه‌های مختلف نشان داد که در تمام مزارع بیشترین میزان این شاخص در خرداد ماه بود و در سایر ماه‌ها این شاخص بیشتر در دامنه لوگ ۶-۵ بوده است. در آب خروجی مزارع نیز این شاخص دارای بیشترین مقدار در خرداد ماه بود و در سایر ماه‌ها میزان آن در دامنه لوگ ۶-۷ متغیر و بیش از حد استاندارد (10^5 CFU/100mL) باکتری یا لوگ ۵) بود (شکل ۱۰). میزان شمارش کلی باکتری‌های کلیفرمی آب ورودی به جز در مزرعه ۳ (فقط در ۱۴/۳٪ نمونه‌ها)، در سایر مزارع مورد بررسی بالاتر از حد استاندارد (10^2 CFU/100mL) باکتری یا لوگ ۲) بود و بیشترین درصد فراوانی این

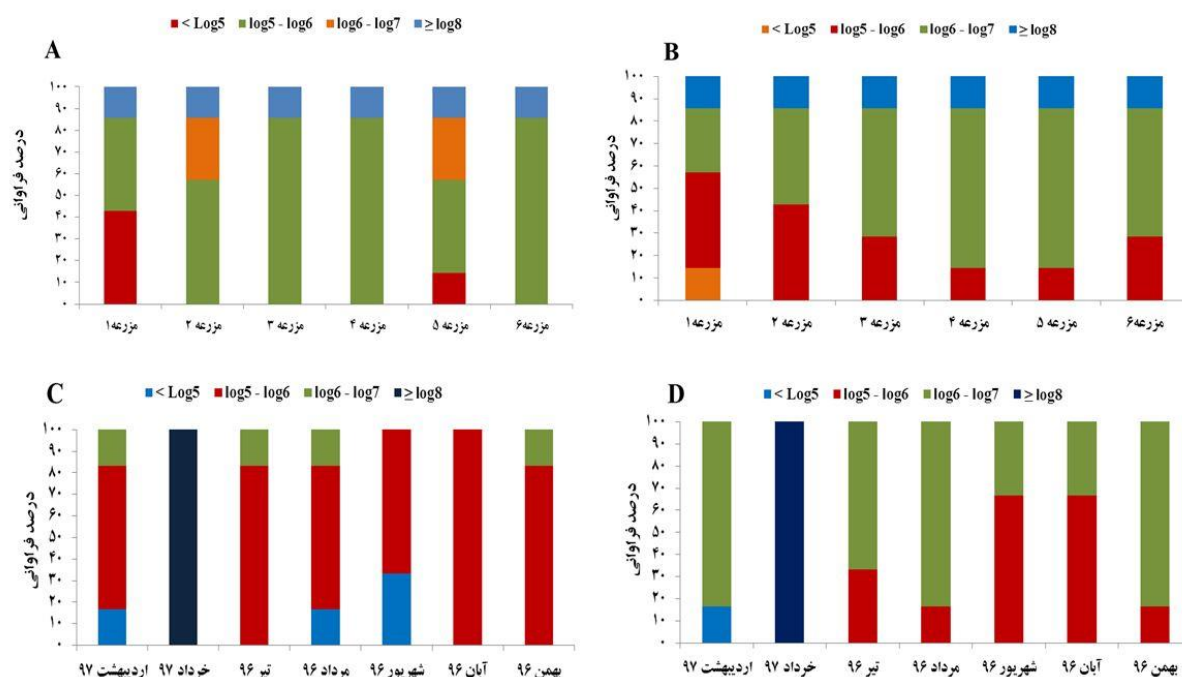


شکل ۱۰: مقایسه درصد فراوانی میزان شمارش کلی باکتری آب ورودی و خروجی مزارع منتخب برحسب هر مزرعه (A: ورودی، B: خروجی) و برحسب ماه (C: ورودی، D: خروجی)

Figure 10: Comparison of frequency percentage of total count of bacteria inlet and outlet water of selected farms in each farm (A input, B output) and sampling month (C input, D output)

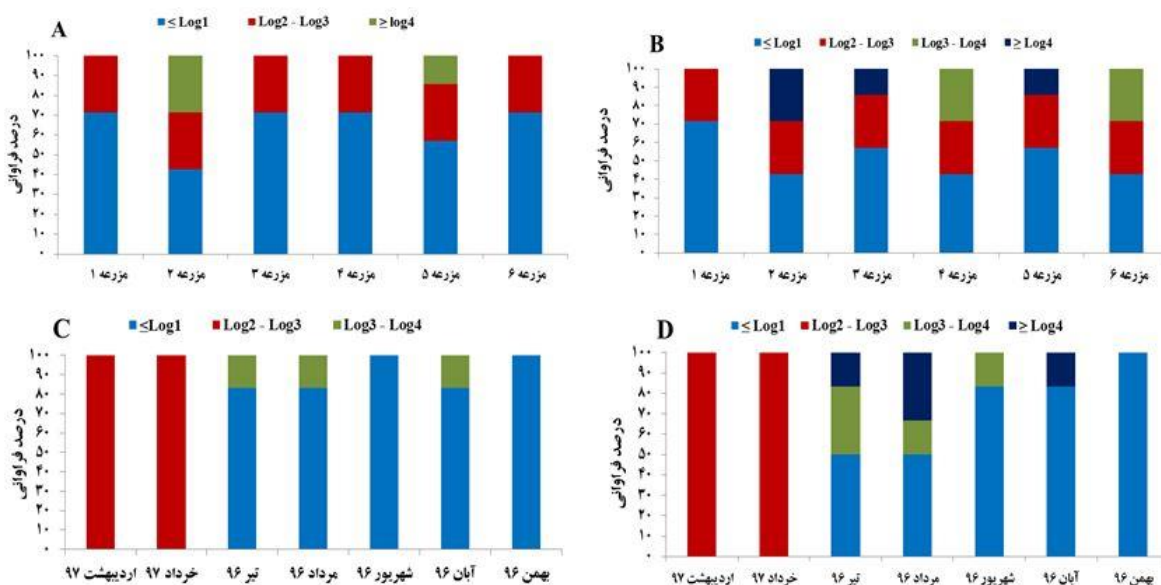
شش ایستگاه در بیش از ۸۰٪ موارد نمونه‌برداری در دامنه استاندارد (۱۰^۱ CFU/100mL باکتری یا لوگ ۱) قرار داشت. در ارزیابی نتایج مربوط به آب خروجی نیز کیفیت آب خروجی مزارع ۴ و ۶ به ترتیب از کیفیت کمتری نسبت به سایر مزارع برخوردار بودند. همچنین میزان اشریشیا کولی آب ورودی در تمام ماه‌های نمونه‌برداری به جز خرداد، در حد استاندارد بود و این میزان در آب خروجی در خرداد ۱۰۰٪، در تیر ۳۳/۳٪ و در مرداد کمتر از ۲۰٪ موارد بیش از استاندارد بود (شکل ۱۳).

نتایج این شاخص در آب ورودی مزارع در ماه‌های مختلف نشان داد که به جز اردیبهشت و خرداد، در سایر ماه‌ها میزان این شاخص در حد مجاز بوده است. در آب خروجی نتایج میزان این شاخص در اردیبهشت و خرداد مشابه (بیش از حد مجاز) بود، در بهمن این شاخص در تمام مزارع در حد استاندارد و در تیر، مرداد، شهریور و آبان، با وجود شرایط استاندارد، درصدی نیز تغییرات نامناسب وجود داشت (شکل ۱۲). نتایج شمارش باکتری اشریشیا کولی آب ورودی مزارع نشان داد، میزان این باکتری در هر



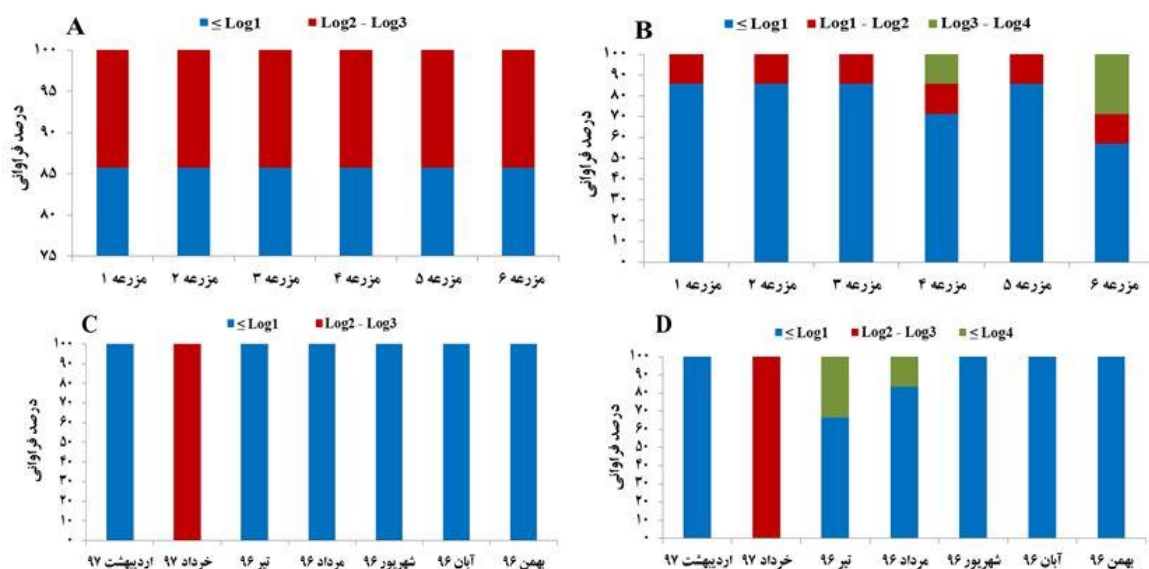
شکل ۱۱: مقایسه درصد فراوانی میزان شمارش کلی کلی فرم‌های آب ورودی و خروجی مزارع منتخب برحسب هر مزرعه (A: ورودی، B: خروجی) و برحسب ماه (C: ورودی، D: خروجی)

Figure 11: Comparison of frequency percentage of total count of coliforms bacteria inlet and outlet water of selected farms in each farm (A input, B output) and sampling month (C input, D output)



شکل ۱۲: مقایسه درصد فراوانی میزان شمارش کلی کلی فرم‌های مدفوعی آب ورودی و خروجی مزارع منتخب برحسب هر مزرعه (A: ورودی، B: خروجی) و برحسب ماه (C: ورودی، D: خروجی)

Figure 12: Comparison of frequency percentage of total count of fecal coliforms bacteria inlet and outlet water of selected farms in each farm (A input, B output) and sampling month (C input, D output)



شکل ۱۳: مقایسه درصد فراوانی میزان شمارش اشریشیا کولی در آب ورودی و خروجی مزارع منتخب برحسب هر مزرعه (A: ورودی، B: خروجی) و برحسب ماه (C: ورودی، D: خروجی)

Figure 13: Comparison of frequency percentage of total count of *E. coli* inlet and outlet water of selected farms in each farm (A input, B output) and sampling month (C: input, D: output)

بحث

ردیابی بود و مقادیر آن در دامنه استاندارد قرار داشت. در مقابل میزان جیوه در تمام مراحل نمونه‌برداری آب ورودی مزارع مورد بررسی از حداقل ۳ برابر حداقل حد مجاز (۱ میکروگرم بر لیتر) تا حداکثر ۶ برابر حداکثر حد مجاز (۲ میکروگرم بر لیتر) بود. منشأ جیوه در خاک و آب، فعالیت آتشفشان، معادن، رسوبات طبیعی، محل دپو زباله یا ترکیبات قارچ‌کش حاوی جیوه است (Ferrara *et al.*, 2006; Clarkson and Magos, 2000). آبشش، دستگاه گوارش و پس از آنها پوست مهم‌ترین محل ورود و جذب فلزات سنگین (از جمله جیوه) به بدن ماهیان هستند (Erickson *et al.*, 2008). پس از ورود جیوه به خون با اتصال به آلبومین در اندام‌های مختلف ماهی پخش می‌شود (Morcillo *et al.*, 2017). جیوه از طریق خون وارد کبد می‌شود و در آن‌جا پس از متیله شدن به متیل جیوه تبدیل می‌گردد که اثرات سمی آن ۷۰ برابر بیشتر است. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که باکتری‌های بی‌هوازی احیاءکننده سولفات و آهن قادرند جیوه معدنی را به متیل جیوه تبدیل نمایند که خود منشأ آلودگی موجودات آبی از جمله ماهیان است (Authman *et al.*, 2000).

ماهیان در محیط زندگی خود دائماً با فاکتورهای زیستی و غیر زیستی متعددی روبرو هستند که تغییرات آنها در دامنه بیش از تحمل ماهیان، سبب بروز استرس می‌شود. این تغییرات با توجه به نوع و طول مدت مواجهه می‌توانند موجب طیف وسیعی از عوارض چون کاهش اشتها و رشد گردند و با تضعیف سیستم ایمنی، ماهیان را مستعد ابتلا به انواع عفونت‌ها کنند که خود در نهایت منجر به بروز تلفات و کاهش تولید در مزارع پرورش ماهی می‌شوند (Makrinos and Bowden, 2016). طی این بررسی، تلاش شد تا برخی عوامل محیطی چون میزان فلزات سنگین و شاخص‌های میکروبی آب (شمارش کلی باکتری، باکتری‌های کلیفرمی، کلیفرم‌های روده‌ای و اشریشیا کولی) و تاثیرات احتمالی آنها بر سلامت قزل‌آلا پرورشی در محور هراز مورد ارزیابی قرار گیرند. نتایج نشان داد که میزان فلزات سرب و کادمیوم در هیچ یک از مراحل نمونه‌برداری قابلیت ردیابی دستگاهی نداشتند. فلز ارسنیک نیز در بهار ۱۳۹۷ و زمستان ۱۳۹۶ قابلیت ردیابی دستگاهی نداشت، ولی در تابستان و پاییز ۱۳۹۶ قابل

2015). از آن جایی که کبد تنها اندام متابولیزه کننده ترکیبات سمی در بدن است، قرار گرفتن ماهیان در برابر ترکیبات جیوه بیشترین عارضه را در این اندام ایجاد می کند که به صورت بزرگ شدگی، پر خونی و خونریزی خود را نشان می دهد (Elbeshti et al., 2018). در این بررسی یکی از مهم ترین علایم بالینی داخلی مشاهده شده در ماهیان پروراری و پیش مولدین شامل بزرگ شدگی، پر خونی و خونریزی بافت کبد بود که با توجه به اینکه در تمام مراحل نمونه برداری مشاهده شد (حتی در ماهیانی که کشت میکروبی آنها منفی بود)، احتمال می رود که مربوط به آلودگی با جیوه باشد. مغز و سیستم عصبی یکی از مهم ترین بخش هایی است که جیوه جذب آن می گردد و اختلال در عملکرد پیاز بویایی و سیستم عصبی ماهی ایجاد می کند که خود منجر به تغییر رفتار تغذیه و شنای ماهی می شود (Ebany et al., 2012; Authman et al., 2014; Afshan et al., 2015). وجود بی اشتهایی و شنای غیر معمول (جهش غیر طبیعی در سطح آب)، در ماهیان دارای علائم بالینی در مزارع تحت بررسی ممکن است به این موضوع مرتبط باشد. در قزل آلاهی رنگین کمان 90 درصد جیوه متیله شده خون به زنجیره بتا هموگلوبین در گلبول های قرمز متصل است و در اکسیژن رسانی اختلال ایجاد می کند (Giblin and Massaro, 1975). Voccia و همکاران (1994) نشان دادند که اثر جیوه متیله شده بر کاهش فعالیت لنفوسیت های قزل آلاهی رنگین کمان 10 برابر بیشتر از نوع معدنی است و سبب کاهش معنی دار تکثیر لنفوسیت ها و به دنبال آن کاهش تولید ایمونوگلوبولین و فعالیت لیزوزیم می شود. با توجه مطالب مذکور، به نظر می رسد بالا بودن میزان جیوه به تدریج موجب کاهش اکسیژن گیری و افت ایمنی در ماهیان و تضعیف سلامت آنها می شود. بیشترین میزان جیوه در آب در پاییز (زمان بارندگی) دیده شد که احتمال دارد به دلیل بارندگی و شستشوی نخاله سنگ های حاشیه رودخانه ناشی از تعریض جاده (با توجه به ولکانیک بودن خاک منطقه) جیوه به آب منتقل شده باشد. مطالعات نشان داده اند که کیفیت مناسب پروتئین جیره و حضور اسیدهای آمینه ضروری (آرژنین، هیستیدین، لوسین،

ایزولوسین، والین، لیزین، متیونین، ترئونین، تربیتوفان و فنیل آلانین)، نقش مهمی در حفظ عملکرد سیستم ایمنی ماهیان دارند و می توانند موجب کاهش اثرات سمی فلزات سنگین بر ماهی شوند (Dmitry, 2013). لذا، توجه به بهبود کیفیت جیره مصرفی در مزارع هراز می تواند به عنوان یک راهکار در جهت ارتقاء سلامت و تولید ماهیان مورد توجه قرار بگیرد. براساس استاندارد، شمارش کلی باکتری آب مناسب پرورش قزل آلا 10^5 CFU/100mL یا لوگ 5، باکتری های کلی فرمی 10^2 CFU/100mL یا لوگ 2، باکتری های کلی فرم مدفوعی و اشریشیا 10^1 CFU/100mL یا لوگ 1 تعیین شده است (Svobodova et al., 1993; Philminaq et al., 2008). ارزیابی شاخص های میکروبی آب (شمارش کلی باکتری، باکتری های کلی فرم، کلی فرم مدفوعی و اشریشیا کولی)، در آب خروجی و ورودی برحسب مزرعه و ماه نمونه برداری در بیشتر موارد یا کاملاً خارج از دامنه استاندارد قرار داشت. ارزیابی بار میکروبی آب یکی از روش های ارزیابی بهداشتی آن نیز هست. مطالعات قبلی انجام شده در خصوص کیفیت میکروبی آب رودخانه هراز نشان داد که میزان باکتری های اندیکاتور (باکتری های کلیفرم و کلیفرم مدفوعی) در فصل بهار بیش از استاندارد بوده اند (شهسواری پور و اسماعیلی ساروی، 1390؛ نصیر احمدی و همکاران، 1391؛ یعقوب زاده و صفری، 1395). این در حالی است که در مطالعه حاضر نه تنها در بهار بلکه در تابستان و پاییز نیز این دو شاخص خارج از حد استاندارد بودند. از آن جایی که منشاء این گروه باکتری ها مدفوع حیوانات خون گرم، انسان و برخی حیوانات خون سرد هستند، منبع آلودگی آنها اغلب مبهم است (Sivaraja and Nagarajan, 2014). بر خلاف مطالعات قبلی که کیفیت میکروبی آب مزارع پایین دست در مقایسه با مزارع بالادست رودخانه شرایط بهتری داشت (شهسواری پور و اسماعیلی ساروی، 1390؛ نصیر احمدی و همکاران، 1391؛ یعقوب زاده و صفری، 1395)، در این بررسی مواقعی مزارع میانی از آلودگی میکروبی بیشتری نسبت به ایستگاه پایین دست برخوردار بودند که شاید این موضوع به افزایش تعداد رستوران ها در حد فاصل منطقه

نیاک تا گزنک باشد. همچنین یک افزایش ناگهانی در میزان تمام شاخص‌های میکروبی آب در نمونه‌برداری خرداد ۱۳۹۷ که با هیچ‌یک از ماه‌های دیگر قابل مقایسه نبود، درست بلافاصله بعد از تعطیلات چند روزه در این ماه انجام شد. باید به این نکته توجه داشت که از پلور تا وانا بیش از ۴۰ رستوران و غذاخوری بین راهی وجود دارد که همگی فاقد چاه سپتیک هستند و فاضلاب آنها مستقیماً به رودخانه وارد می‌شود. لذا، افزایش تعداد مسافران و فعالیت رستوران‌های موجود در مسیر می‌تواند تا حدود زیادی توجیه‌کننده این موضوع باشد. در این بررسی از مجموع ۴۲۰ عدد ماهی واجد علائم بالینی، ۵۱ عدد ماهی (۱۲/۱۵٪) از نظر کشت باکتری، مثبت و ۳۶۹ عدد (۸۷/۸۵٪) منفی بودند. باید توجه داشت بروز علائم بالینی شامل تیرگی رنگ پوست، بیرون‌زدگی چشم، وجود زخم در سطح بدن و شنای غیر طبیعی لزوماً دلیل بر وجود بیماری عفونی در ماهیان نمی‌باشد و در پیش‌بینی بروز عفونت در کنار علائم بالینی باید به الگوی تلفات نیز توجه داشت (قیاسی و همکاران، ۱۳۹۲). در این بررسی مهم‌ترین عوامل باکتریایی جداسازی یرسینیا (۳۷/۲۵٪)، آئروموناس (۳۳/۳۵٪)، ادواردزایلا (۱۱/۷۶٪)، ویبریو (۷/۸۴٪)، پاستورلا (۵/۸۸٪) و سیتروباکتر (۳/۹۲٪) بودند که همگی باکتری گرم‌منفی بودند و هیچ باکتری گرم‌مثبتی در این مطالعه جداسازی نشد. در مطالعات قبلی انجام شده در خصوص بررسی وضعیت بهداشتی ماهیان پرورشی در هراز، گونه‌های مختلف استرپتوکوکوس (باکتری گرم مثبت و عامل استرپتوکوکوزیس) طی سالهای ۹۲-۱۳۸۵ یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در هراز بودند (موسوی، ۱۳۸۶؛ قیاسی و همکاران، ۱۳۹۲؛ سعیدی، ۱۳۹۵). این در حالی است که در گزارش‌های قبلی باکتری آئروموناس و ویبریو هرگز در بین باکتری‌های بیماری‌زا گزارش شده منطقه هراز وجود نداشتند (بهریزی، ۱۳۸۲؛ قیاسی و همکاران، ۱۳۹۲)، ولی در این بررسی شناسایی شدند. مطالعات نشان دادند که افزایش بار میکروبی آب به‌خصوص باکتری‌های کلیفرم و کلیفرم مدفوعی می‌تواند به پایداری و حضور باکتری‌های گرم منفی به‌ویژه آئروموناس و ویبریو کمک نمایند و شرایط را

برای حضور آنها بیش از باکتری‌های گرم مثبت فراهم نمایند (Svobodova et al., 1993; Macintyre, 2008). بر خلاف مطالعات قبلی که بروز بیماری‌های عفونی در مزارع پرورش آزاد ماهیان در حاشیه رودخانه در پایین‌دست بیشتر از بالادست آن بود (Jonkers et al., 2010)، در این بررسی مزارع بالادست به طور معنی‌داری بیشتر از مزارع میان‌دست و پایین‌دست، آلودگی باکتریایی داشتند. به‌نظر می‌رسد، استفاده از سایر منابع آبی (آب چاه زهکش رودخانه، چشمه، آبشار)، در کنار آب رودخانه یا استفاده از عوامل ضد عفونی کننده آب (دستگاه ازن ساز) در مزارع میان و پایین‌دست توانسته است بروز عفونت در ماهیان را کاهش دهد. با توجه به نتایج آزمایش‌های آنتی‌بیوگرام، مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک برای درمان به‌ترتیب تری متوپریم سولفامتوکسازول، انروفلوکساسین، فلورفنیکل، تتراسایکلین و آموکسی سیلین بودند. قیاسی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند طی سالهای ۸۷-۱۳۸۵ مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع هراز از ۱۶/۲٪ به ۴۸/۷٪ افزایش یافت این در حالی بود که در سال ۱۳۸۵ مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک مصرفی در برابر استرپتوکوکوزیس، اریترومايسين بود، ولی در سال ۱۳۸۷ به دلیل ناکارآمد شدن داروی اریترومايسين، فلورفنیکل در کنترل استرپتوکوکوزیس جای آن را گرفت. در این بررسی کمترین میزان مقاومت و اثر استاتیک در برابر تری متوپریم سولفامتوکسازول مشاهده شد که داروی نسبتاً جدیدی است. مطالعات نشان دادند، مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به‌تدریج زمینه مقاومت در برابر آنها را فراهم می‌نماید و موجب شکست درمان می‌شود (Schmidt et al., 2000). در بروز مقاومت باکتری‌های بیماری‌زای ماهیان در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، عوامل باکتریایی آب از اهمیت بالایی برخوردارند، زیرا چنانچه عوامل باکتریایی آب در برابر یک یا چند داروی آنتی‌بیوتیکی مقاوم باشند، قابلیت انتقال این خاصیت را به باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان از طریق پلاسمید یا فاژ دارند (Levy and Marshal, 2004; Nguyen et al., 2014; Hayatghei et al., 2021). مطالعه Schmidt و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که با افزایش مقاومت فلور میکروبی آب ورودی و

پرورش قزل‌آلا در رودخانه هراز را حل نموده و به ارتقاء تولید در مزارع حاشیه این رودخانه کمک نمایند.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان "مطالعه فاز اول تاثیر عوامل خطرساز و ارائه راهکار جهت بهبود کیفیت آب و مدیریت بهداشتی مراکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در محور هراز" بوده است که طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۶ در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام گردید. بدین‌وسیله از اداره کل شیلات استان مازندران به منظور پشتیبانی مالی این تحقیق و نیز از کلیه همکاران محترم در بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان، اکولوژی، بیوتکنولوژی پژوهشکده و رئیس و کارشناسان اداره شیلات آمل سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

بهریزی، ش.، ۱۳۸۲. بررسی آلودگیهای انگلی و باکتریایی در مزارع پرورش ماهیان سردآبی و گرم آبی در استان مازندران، گزارش نهایی ۸۱/۶۲۹ گ ن، موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر.

حقیقی خیابانیان اصل، ع.، سلطانی، م.، سهرابی، حقدوست، ا. و شریف پور، ع.، ۱۳۸۴. بررسی بیماری نکروز عفونی مراکز خونساز (IHN) به روش ایمونوهیستوشیمی در برخی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان قزل‌آلای ایران. مجله علوم دامپزشکی ایران، ۱۶۴-۱۵۷: (۲)۲.

ذریه‌زهر، س.ج.، سلطانی، م.، شریف‌پور، ع.، سعیدی، ع.ا. و مهرابی، م.، ۱۳۸۴. بررسی مقدماتی امکان ردیابی علل عفونی (ویروسی - باکتریایی) سندرم تلفات نوزادان و ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان (استانهای تهران، مازندران، گیلان، مرکزی، کرمان، فارس و کهگیلویه و بویر احمد)، گزارش نهایی ۸۴/۴۷۰، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

راستیان نسب، ا.، موسوی، س.م.، ذوالقرنین، ح.و. و حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۹۶. بررسی تاثیر

خروجی در مراکز تکثیر و پرورش قزل‌آلا در کشور دانمارک بروز مقاومت در آئروموناس‌های متحرک و یرسینیای بیماری‌زا در ماهیان قزل‌آلا افزایش یافته است. Capkin و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که ژنهای *blaCTX-M1*, *sul2*, *tetA*, *ampC* که ژنهای ایجاد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری‌های کلیفرمی موجود در آب مراکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای ترکیه هستند، از طریق پلاسمید این مقاومت را به باکتری‌های آئروموناس هیدروفیلا، یرسینیا راکری، سیتروباکتر فروندی و فتو باکتریوم دم‌سلا جداسازی شده از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انتقال داده‌اند. Hayatghei و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان دادند استفاده از فلمکوئین در دو مزرعه پرورش قزل‌آلا در فرانسه سبب افزایش ژن‌های ایجاد مقاومت در نمونه‌های آئروموناس محیطی و بیماری‌زا در ماهی شده است و این موضوع سبب شده تا درمان عفونت ناشی از آئروموناس در ماهیان قزل‌آلا با بروز مقاومت و شکست درمان روبرو شود.

با توجه به نتایج به‌نظر می‌رسد، توجه به پایش مرتب کیفیت آب ورودی و خروجی مراکز تکثیر و پرورش ماهی، استفاده از روش‌های مناسب ضدعفونی آب (استفاده از سیستم ازن آهسته رهش)، مصرف جیره با کیفیت، استفاده از منابع آبی به‌جز آب رودخانه (چشمه، آبشار یا چاه‌های زهکش آب رودخانه)، در جهت کاهش مواجهه ماهیان با فلز جیوه و بار بالای میکروبی آب در فصول مسافریذیر، اعمال قرنطینه جدی قبل از ورود بچه ماهی و ماهی پیش‌پروراری و احراز گواهی سلامت در مبدأ با انجام آزمایش‌های بالینی و پاراکلینیکی، استفاده از محرک‌های ایمنی (پروبیوتیک، پریبیوتیک، سینبیوتیک و گیاهان دارویی)، در جیره مصرفی از بچه ماهی تا مولدین با هدف ارتقاء ایمنی و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک، ممانعت از مصرف بی‌رویه و غیر اصولی آنتی بیوتیک‌ها و انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز، استفاده از مکمل‌های اسیدهای آمینه (متیونین، آرژنین) و ترکیبات کولین در تغذیه جهت کمک به کبد در دفع ترکیبات سمی (از جمله جیوه)، بتوانند تا حدود زیادی مشکلات مربوط به

جهانی، علوم و تکنولوژی محیط زیست ، ۱۳(۵۱):۹۴ - ۸۱.

قیاسی، م.، زاهدی طبرستانی، آ. و خوشباور رستمی، ح.، ۱۳۷۹. بروز اپیدمی استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis) در ماهیان مولد قزل‌آلای رنگین‌کمان، اولین همایش بهداشت و بیماریهای آبزیان، ۲۷ - ۲۵ بهمن، اهواز، ۵۲.

قیاسی، م.، خسروی، ع. و یوسفیان، م.، ۱۳۸۳. اولین گزارش از عفونت قارچی ناشی از ساپروولگنیا پارازیتیکا و آفانومایسس در هجری ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان رودخانه هراز، اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور، ۶ - ۸ شهریور، کرج، ۵۵۳ - ۵۵۲.

قیاسی، م.، باباعلیان، ع.، بینایی، م.، بهروزی، ش. و سعیدی، ع.ا.، ۱۳۸۹. بروز اپیدمی ساپروولگنیزیس در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در استان مازندران، شانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران، ۹ - ۷ اردیبهشت، تهران، ۱۵۹.

قیاسی، م.، ذریه زهرا، س.ج.، باهنر، ع.، پورغلام، ر.، فارابی، س.م. و، بینایی، م. و سعیدی، ع.ا.، ۱۳۹۲. ارزیابی مدیریت بهداشتی مراکز تکثیر و پرورش ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در استان مازندران. مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، ۷ (۳): ۱۱۲ - ۱۰۳.

موسوی، س.، ۱۳۸۶. بررسی بروز استرپتوکوکوزیس و استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان، پایان نامه گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

نصیراحمدی، ک.، یوسفی، ذ. و ترسلی، ا.، ۱۳۹۱. پهنه بندی کیفیت آب رودخانه هراز بر اساس شاخص NSFQI، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۲۲ (۹۲): ۶۴ - ۷۱.

نفیسی بهبادی، م.، ۱۳۸۵. راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، انتشارات دانشگاه تهران. ص ۱۸ - ۱۷

واردی، ا.، ۱۳۸۶. بررسی تاثیر متقابل فعالیتهای تولیدی بر اکوسیستم های حوضه دریای خزر - فعالیت ۱ -

پروبیوآنزیمبر بیان ژنهای وابسته به ایمنی و کنترل بیماری دهان قرمز (Yersiniosis) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۱): ۱۶۶ - ۱۵۳. DOI:10.22092/ISF.2017.110337

زرگر، ا.، سلطانی، م.، همت زاده، ف.، کاظمی، ب. و ابراهیم زاده موسوی، ح.، ۱۳۸۷. مطالعه پراکنش بیماری نکروز عفونی بافتهای خونساز (IHN) در پنج استان عمده تولید کننده بچه ماهی قزا آلای رنگین کمان کشور با استفاده از تکنیکهای آنتی بادی درخشان به روش غیر مستقیم (IFAT) و واکنش زنجیره ای پلی مراز (nested-RT-PCR)، مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۳ (۳): ۱۰۵ - ۹۹.

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۰. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۸۹-۱۳۷۹، معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع، صفحه ۳۵.

سازمان شیلات ایران، ۱۴۰۰. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۹-۱۳۹۴، معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع، صفحه ۳۵.

سعیدی، ع. ا.، ۱۳۹۵. مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در شرق استان مازندران، گزارش نهایی ۴۷۵۷۹، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر.

سلطانی، م. و رستمی، م.، ۱۳۷۶. عفونتهای ناشی از ارگانیسیمهای شبیه فلکسی باکتر سایتوفاگا در کارگاه های پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان، مجله دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۲ (۳): ۲۶ - ۱۳.

سلطانی، م.، روح الهی، ش.، زرگر، ا.، عبدی، ک.، محمدیان، س. و قاجاری، ا.، ۱۳۹۳. مطالعه ی پراکنش بیماری نکروز عفونی پانکراس در مزارع قزل آلای ایران به روش RT-PCR. مجله دامپزشکی ایران، ۱۰ (۲): ۳۹ - ۲۹.

شهسواری پور، ن. و اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۹۰. بررسی آلودگی میکروبی رودخانه هراز و تعیین کاربری های مجاز آب رودخانه با توجه به استانداردهای

- compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36: 609-662. DOI: 10.1080/10408440600845619.
- Dmitry, A., 2013.** Effect of water quality on rainbow trout performance, Bachelor's Thesis, Mikkelin Univesity.
- Ebany, J.M.F., Chakraborty, S., Fretham, S.J.B. and Aschner, M., 2012.** Cellular transport and homeostasis of essential and nonessential metals. *Metallomics* 4: 593-605. DOI: 10.1039/c2mt00185c.
- Elbeshti, R.T.A., Elderwish, N.M., Abdelali, K.M.K. and Taştan, Y., 2018.** Effects of heavy metals on fish. *Menba Journal of Fisheries Faculty*, 4: 36-47.
- Erickson, R.J., Nichols, J.W., Cook, P.M. and Ankley, G.T., 2008.** Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems, In: Di Giulio RT, Hinton DE, *The Toxicology of Fishes*, Florida, USA: CRC Press, 9-45.
- Ferrara, R., Mazzolai, B., Lanzillota, E., Nucaro, E. and Pirrone, N., 2000.** Volcanoes as emission sources of atmospheric mercury in the Mediterranean basin. *Science Total Environment*, 59:115-121. DOI:10.1016/S0048-9697(00)00558-1.
- Garry, E., Ouattara, G., Williams, P. and Pesta, M., 2009.** Chromogenic agar plates using the color qcount automated colony counter. *Journal of Methods and Automation in Microbiology*, 17(1): 1-12. DOI: 10.1111/j.1745-4581.2008.00150.x.
- مزارع تکثیر و پرورش رودخانه هراز، گزارش نهایی ۸۵/۲۳۶، موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر.
- یعقوب زاده، ز. و صفری، ر.، ۱۳۹۵.** بررسی باکتری‌های کلیفرمی و تخم نماتود رواناب‌های رودخانه هراز، مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۱): ۳۹ - ۲۹. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110221
- Afshan, S., Ali, S., Ameen, U.S., Farid, M., Bharwana, S.A., Hannan, F. and Ahmad, R., 2014.** Effect of Different Heavy Metal Pollution on Fish. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 2(1): 74-79.
- APHA, 2005.** Standard Methods for the Examination of water and Wastewater, American Public Health Association, Seventeenth Edition. 1113 P.
- Austin, B. and Austin, D.A., 2012.** Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish. 5th Edition, Springer, Netherlands, 654 P.
- Authman, M.M.N., Zaki, M.S., Khallaf, E.A. and Abbas, H.A., 2015.** Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 6(4): 1000328. DOI: 10.4172/2155-9546.1000328
- Capkin, E., Terzi, E. and Altinok, I., 2015.** Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 114: 127-137. DOI: 10.3354/dao02852
- Clarkson, T.W. and Magos, L., 2006.** The toxicology of mercury and its chemical

- Giblin, F.J. and Massaro, E.J., 1975.** The erythrocyte transport and transfer of methyl mercury to the tissues of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Toxicology* 5: 243-254. DOI: 10.1016/0300-483x(75)90121-3.
- Hayatghei, N., Calvez, S., Fournel, C., Pineau, L., Pouliquen, H. and Moreau, E., 2021.** Antimicrobial susceptibility profiles and resistance genes in genus *Aeromonas* spp. isolated from the environment and rainbow trout of two fish farms in France. *Microorganisms*, 9: 1201. DOI:10.3390/microorganisms9061201.
- Huang, Y., Jung, A., Schäfer, W.J., Mock, D., Michael, G.B., Runge, M., Schwarz, S. and Steinhagen, D., 2015.** Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany. *Diseases of Aquatic Organisms*, 116: 243–249. DOI: 10.3354/dao02920
- Jonkers, A.R.T., Sharkey, K.J., Thrush, M.A., Turnbull, J.F. and Morgan, K.L., 2010.** Epidemics and control strategies for diseases of farmed salmonids: A parameter study. *Epidemics*, 2: 195–206. DOI:10.1016/j.epidem.2010.08.001.
- Levy, S.B. and Marshall, B., 2004.** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10: 122–129.
- Macintyre, C.M., 2008.** Water quality and welfare assessment on United Kingdom trout farms, thesis of PhD, Institute of Aquaculture and University of Sterling.
- Makrinos, D.L. and Bowden, T.J., 2016.** Natural environmental impacts on teleost immune function. *Fish and Shellfish Immunology*, 53: 50-57
- Morcillo, P., Esteban, M.A., Cuesta, A., 2017.** Mercury and its toxic effects on fish. *AIMS Environmental Science*, 4(3): 386-402.
- Nguyen, H.N.K., Van, T.T., Nguyen, H.T., Smooker, P.M., Shimeta, J. and Coloe, P.J., 2014.** Molecular characterization of antibiotic resistance in *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from catfish of the Mekong Delta, Vietnam. *Veterinary Microbiology*, 171:397–405.
- Philminaq, E.U., Nagothu, U., Ortíz, I., Ulstein, M., Jarle, N.N., 2008.** Mitigating impact from aquaculture in the Philippines, European Union. <https://cordis.europa.eu/project/id/31640/it>.
- Scmidt, A.S., Bruun, M.S., Dasgaard, I., Pedersen, K. and Larsen, J.L., 2000.** Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11): 4908–4915.
- Sivaraja, R. and Nagarajan, K., 2014.** Levels of indicator microorganisms (total and fecal coliforms) in surface waters of rivers cauvery and bhavani for circuitously predicting the pollution load and pathogenic risks. *International Journal of PharmTech Research*, 6(2): 455-461.
- Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J. and Vykusova, B., 1993.** Water quality and fish health, EIFAC Technical Paper. No. 54. Rome, FAO. 59 P.

- Terech-Majewska, E., 2016.** Improving disease prevention and treatment in controlled fish culture. *Archives of Polish Fisheries*, 24: 115-165. DOI: <https://doi.org/10.1515/aopf-2016-0013>
- Tveteras, R., Nystoyl, R. and Jory, D. E., 2019.** GOAL 2019: global finfish production review and forecast, www.aquaculturealliance.org
- Vineetha, N., Vignesh, R.A. and Sridhar, D., 2015.** Preparation, standardization of antibiotic discs and study of resistance pattern for first-line antibiotics in isolates from clinical samples. *International Journal of Applied Research*, 1(11): 624-631.
- Voccia, I., Krzystyniak, K., Dunier, M., Flipo, D. and Fournier, M., 1994.** In vitro mercury – related cytotoxicity and functional impairment of the immune cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 29: 37-48.

Evaluation of some risk factors on the rainbow trout production with emphasis on water microbial indices and heavy metals of farms along the Haraz River

Ghiasi M.^{1*}; Nasrollahzadeh Saravi H.¹; Fazli H.¹; Safari R.¹; Farabi S.M.V.¹; Binaii M.¹; Yaghobzadeh Z.¹; Zare E.²; Behrouzi S.¹; Habibi F.¹

*ghiasimaryam4@gmail.com

1-Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran.

2-Amol Fisheries Affairs, Amol, Iran.

Abstract

Haraz River has an important role in the development of aquaculture and the production of rainbow trout in Mazandaran province. Since 2015, the production of rainbow trout has been decreased in the farms along the river and almost halved. This study have been investigated the microbial indices and heavy metals in water as well as the identification of common bacterial pathogens and their resistance to antibiotics and used them as effective factors in the fish health and production. This study was conducted during four seasons (summer, autumn and winter 2017 and spring 2018) in 6 rainbow trout farms along the Haraz River. The results showed that the amount of the water mercury in all seasons was from minimum 2 to maximum 12 times the allowable limit but the arsenic level was standard in all sampling times. The most important clinical symptoms were observed in the fish including fin rot, erratic swimming, inflammation and hyperemia of the liver and kidneys. From 420 fish with clinical signs, 12.15% and 87.85% of fish were positive and negative bacterial culture respectively. The all of bacterial isolates were gram-negative and no gram-positive bacteria were isolated. The bacterial agents identified were including, *Yersinia* (37.25%), *Aeromonas* (33.35%), *Eduardzilla* (11.76%), *Vibrio* (7.84%), *Pasteurella* (5.88%) and *Citrobacter* (3.92%). The highest and lowest antibiotic resistances were found against amoxicillin and trimethoprim sulfamethoxazole respectively. In evaluation of the microbial water indices including total bacterial count, coliform count, fecal coliform count and *E. coli*, the results showed that the all of microbial indices were not allowable level in the most of the sampling time.

Keywords: Haraz River, Rainbow trout, Fecal coliform, Mercury, Trimethoprim sulfamethoxazole

*Corresponding author