View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران – پژوهشکده میگوی کشور

عنوان :

بررسی کارائی روشهای مختلف تیمار نمودن آب در کاهش بار آلودگی باکتریایی مراکز تکثیر میگو

مجری :

محمّد سعید گنجور

شماره ثبت

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران - پژوهشکده میگوی کشور

عنوان پروژه : بررسی کارائی روشهای مختلف تیمار نمودن آب در کاهش بار آلودگی باکتریایی مراکز تکثیر میگو
شماره مصوب : ۸۹۱۸٤-۱۲-۸۰-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : محمّد سعید گنجور
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : محمّد سعید گنجور
+نام و نام خانوادگی همکاران : محمد افشار نسب، محمد رضا مهرابی، احمد مال الهی، عباسعلی زنده بودی، وحید یگانه
نام و نام خانوادگی مشاوران : -
نام و نام خانوادگی ناظر : عقیل دشتیان نسب
محل اجرا : استان بوشهر
تاریخ شروع : ۸۹/۱۰/۱
مدت اجرا : ۱ سال
ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران
شمارگان (تیتراژ) : ۲۰ نسخه
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۱
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجري»

پروژه : **بررسی کارائی روشهای مختلف تیمار نمودن آب در کاهش بار آلودگی باکتریایی مراکز تکثیر میگو**

کد مصوب : **۸۹۱۸٤-۱۲-۸۰-۲**

شماره ثبت (فروست) :

تاریخ :

با مسئوليت اجرايي جناب آقاي **محمّد سعید گنجور**
داراي مدرك تحصيلي كارشناسي ارشد
در رشته ميكروبيولوژي مي‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان در تاریخ ۹۱/۵/۲۳ مورد ارزیابي و با نمره ۱۷/۵ و رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجراي پروژه، مجري در :

ستاد ☐ پژوهشکده ■ مرکز☐ ایستگاه ☐

با سمت کارشناس در**پژوهشکده میگوی کشور** مشغول بوده است.

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE

AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION

IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION -

Shrimp Researsh Center

Title:

Assessment of different methods of water treatment on decreasing pathogenic bacteria in shrimp hatcheries.

Executor :

Mohammed Saeed GANJOOR

Registration Number

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION –
Shrimp Researsh Center

Title : Assessment of different methods of water treatment ondecreasing pathogenic bacteria in shrimp hatcheries.

Approved Number: 2-80-12-89184
Author: Mohammed Saeed GANJOOR

Executor *:* Mohammed Saeed GANJOOR

Collaborator *:* M. Afsharnasb , M.R. Mehrabi, A. Malolahi , A. Zendehbodi, V. Yeganeh

Advisor(s): -
Supervisor: A. Dashtiannasab
Location of execution : Bushehr province
Date of Beginning : 2011
Period of execution : 1 Year
Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*
Circulation : *20*
Date of publishing : *2012*
All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

بـنـام خدا

عنـوان «فـهـرست

مـنـدرجـات» صفـحه

Contents

حروف اختصاری: ۸

چکیده: ۹

فصل اول: بخش نخست - کلیات ۱۱

۱-۱- مقدمه: ۱۱

۱-۲- اهمیت آب سالم از دیدگاه آبزی پروری: ۱۵

۱-۳- انواع آب و انواع روشهای تیمار سازی آب : ۱۶

۱-٤- خصوصیات آب : ۱۷

۱-٤-۱-اختصاصات ظاهری آب : ۱۷

۱-٤-۲- اختصاصات فیزیکی آب : ۱۷

۱-٤-۳- اختصاصات شیمیایی آب : ۱۸

۱-٤-٤- اختصاصات زیستی (بیولوژیکی) و میکرو بیولوژیکی آب : ۱۸

۱-٤-٤-۱- اجراء زنده موجود در آب : ۱۸

بخش دوم: پیشینه تحقیق ۲۲

۲-۱- مروری بر تحقیقات گذشته: ۲۲

۱-۲-۱-عوامل ضد عفونی کننده آب: ۲۲

۱-۱-۲-۱-کلر: ۲٤

۱-۱-۱-۲-۱-عوارض سوء کلر: ۲٦

۲-۱-۲-۱-پرتو فرابنفش: ۲٦

۱-۲-۱-۲-۱-مکانیسم اثر UV: ۲۷

۳-۱-۲-۱-فیلتر شنی: ۲۸

فصل دوم ۲۹

"مواد و روش کار" ۲۹

۱-۲-تجهیزات مورد استفاده در این پروژه : ۲۹

۲-۲-مواد مورد استفاده در این پروژه (محیط کشت، لوازم مصرفی و مواد شیمیایی): ۲۹

۳-۲-امکانات آزمایشگاهی و تأسیساتی مورد استفاده : ۳۰

٤-۲-محل نمونه برداری: ۳۰

٥-٢-خصوصیات دستگاه پرتوفرابنفش : ٣١
٦-٢-کلر مصرفی : ٣١
٧-٢-فیلتر شنی بندرگاه : ٣١
٨-٢-روش تحقیق (اصول کلی اجرای پروژه) : ٣٢
١-٨-٢-روش کار : ٣٥
٢-٨-٢-روش انتقال نمونه ها :..... ٣٦
٣-٨-٢-روش کشت : ٣٦
٤-٨-٢-رقیق سازی : ٣٧
٥-٨-٢-روش کشت، تلقیح نمونه و شمارش باکتریها: ٣٧
٩-٨-٢-آزمونهای تشخیصی جهت شناسایی و ویبریوها :..... ٣٨
١٠-٨-٢-روش آماری مورد استفاده (نرم افزارهای مورد استفاده): ٤١
فصل سوم ٤٢
"نتایج"..... ٤٢
١-٣- نتایج حاصل از کل پروژه :..... ٤٢
٢-٣- نتایج حاصل از شناسایی جنس و گونه ویبریوها : ٥٠
٣-٣- بررسی آماری تراکم تعداد ویبریوها در مقایسه با سایر باکتریهای آب دریا: ٥١
٤-٣-نتایج حاصل از شناسایی کل باکتریها :..... ٥٢
٥-٣-مقایسه های آماری نتایج: ٥٤
فصل چهارم..... ٥٩
٤-بحث و نتیجه گیری (فصل پنجم بحث و نتیجه گیری): ٥٩
١-٤-نتیجه گیری از بررسی تعداد کل باکتریها در تیمارها:..... ٥٩
٢-٤-تاثیر فیلتر شنی: ٦٤
٣-٤-تاثیر پرتو فرابنفش (UV):..... ٦٥
٤-٤-تاثیر کلر: ٦٦
٥-٤-تاثیر توام کلر و پرتو فرابنفش (UV):..... ٦٦
٦-٤-مقایسه آب تانکهای حاوی میگو با آب تصفیه شده: ٦٨
٧-٤-باکتریهای شناسایی شده:..... ٦٩
٥ - پیشنهادات : ٧٠
٦ - منابع:..... ٧٣
چکیده انگلیسی..... iii
عنوان به انگلیسی..... i

حروف اختصاری:

Abbreviations:	
°C	درجه سانتی گراد
CFU	تک کلنی (Colony Forming Unit)
$CFU.l^{-1}$	تعداد تک کلنی در میلی لیتر (تعداد تک کلنی در میلی لیتر)
HACCP	حصپ (Hazard Critical Control Point)
Log	لوگ (لگاریتم بر مبنای ده) Logarithm
لوگ	لوگ (لگاریتم بر مبنای ده) Logarithm
mg	میلی گرم
$mg.l^{-1}$	میلی گرم بر لیتر
ml	میلی لیتر (حجم یک سانتیمتر مکعب)
O_3	ازن
ppm	واحد رقت (یک قسمت در یک Part Per Million میلیون واحد)
ppt	واحد رقت (یک قسمت در یک هزار Part Per Thousand واحد)
TCBS	محیط کشت (Thiosulfate Citrate Bile-salt Sucrose Agar)
TSA	محیط کشت (Tryptic Soy Agar)
TSB	محیط کشت (Tryptic Soy Broth)
UV	پرتو فرابنفش (Ultra Violet Ray)
۰.۰۰	نشان ممیز
۰/۰۰	نشان ممیز

چکیده:

پروژه " **بررسی کارائی روشهای مختلف تیمار نمودن آب در کاهش بار آلودگی باکتریایی مراکز تکثیر** " در منطقه بندرگاه از استان بوشهر به منظور بررسی تاثیر عوامل ضد عفونی کننده بر آب دریا و عوامل باکتریایی اجرا گردید. این پروژه یکسال بطول انجامید. در این مطالعه جمعا ۱۳۸ نمونه در طی ۷ نوبت نمونه برداری و در قالب ۷ تیمار مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مقایسه تاثیر هر یک از عوامل (استخر آرامش، فیلتر شنی، کلر، پرتو فرابنفش، کلر-پرتوفرابنفش) بر ضد عفونی آب دریا تحلیل شد. در طی این تحقیق، سایر عوامل محیطی همچون دمای آب، اکسیژن محلول، pH و شوری اندازه گیری شد تا از عدم تاثیر سوء آنها بر تیمارها اطمینان حاصل شود. یافته ها به کمک نرم افزارهای آماری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تراکم کل باکتریها در آب دریا (تیمار شاهد) بطور میانگین ۵۱۸۷ سلول در میلی لیتر بود، این در حالی بود که تراکم کل باکتریها در نمونه آب دریا، آب استخر آرامش، آب فیلتر شنی، آب پرتو دهی شده با اشعه فرابنفش، آب کلر زده شده، و آبی که تحت تاثیر توام کلر و پرتو فرابنفش قرار گرفته بود بترتیب معادل ۲۱۳۷±۵۱۸۷ ، ۲۰۴۲± ۴۴۴۹ ، ۱۳۳۵±۲۷۸۲ ، ۶۹۲±۱۱۶۴ ، ۱۰۴±۱۴۳ و ۷۶±۸۷ سلول در میلی لیتر بود. بنابراین استخر آرامش، فیلتر شنی، پرتوفرابنفش، کلر، کلر-پرتو فرابنفش هر کدام بترتیب ۱۴، ۴۶، ۷۷، ۹۷ و ۹۸ درصد از تراکم کل باکتریها یا بعبارتی ۰.۰۶ ، ۰.۲۷ ، ۰.۶۵ ، ۱.۵۶ ، ۱.۷۷ لوگ (Log) از جمعیت کل باکتریهای موجود در آب را کاسته بودند. بعلاوه، نتایج حاصله از شمارش کل ویبریوها نشان داد که استخر آرامش، فیلتر شنی،

پرتوفرابنفش، کلر، کلر-پرتو فرابنفش هر کدام بترتیب ۱۷، ۴۷، ۷۴، ۹۸، ۹۹ در صد از تراکم کل ویبریوها یا بعبارتی ۰.۰۸ ، ۰.۲۷ ، ۰.۵۹ ، ۱.۶۶ و ۱.۹۵ لوگ از جمعیت کل ویبریوهای موجود در آب دریا را کاسته بودند.

همچنین باکتریهای جداسازی شده از هر تیمار، بکمک روشهای بیوشیمیایی شناسایی شدند که در کل شامل طیف وسیعی از باکتریها می شدند، ویبریوهای شناسایی شده عبارت بودند از:

Vibrio alginolyticus, V. costicola, V. fischeri, V. fluvialis I, V. fluvialis II, V. harveyi, V. natriegens, V. nigripulchritudo, V. parahaemolyticus, V. plagius I, V. vulnificus, V. anguilarum I, V. campbellii, V. nereis, V. proteolyticus, V. splendidus, and Unknown *V. spp.*

سایر باکتریهای شناسایی شده متعلق به جنسهای زیر بودند:

Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Bacillus, Borkholderia, Eschricia, Enteroacter, Flavobacterium, Micococcus, Proteus, Pseudomonas, Serratia, Staphaphylococcus, Streptococcus, Vibrio spp. and Unknown bacteria *spp.*

با مقایسه نتایج، بهترین نتیجه مربوط به تیماری بود که آب دریا پس از تاثیر توام کلر و پرتوفرابنفش ضد عفونی شده بود. مشخص گردید که فرآیند مذکور تعداد کل باکتریها، تعداد کل ویبریوها، تعداد ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز و تعداد ویبریوهای سوکروز منفی را بترتیب به میزان ۹۸، ۹۹، ۹۸ و ۹۹ درصد در مقایسه با آب دریا کاهش داد. بعبارت دیگر تعداد باکتریهای مذکور بترتیب ۱.۷۷ ، ۱.۹۴ ، ۱.۸۲ و ۲.۲۳ لوگ کاهش یافته بود. لذا در این تحقیق، روش اعمالی مذکور بعنوان موثرترین شیوه ضد عفونی آب دریا معرفی شد. ضمنا از تیمار مذکور هیچیک از باکتریهای بیماریزا برای میگو از جمله *ویبریو هاروی* جداسازی نشد. در کل مقایسه نتایج نشان داد که تاثیر

توام کلر و پرتوفرابنفش موثرترین روش اعمالی جهت ضد عفونی آب دریا است.

م.س. گنجور
۱۳۹۰

لغات کلیدی:
میگو، تصفیه آب، آب دریا، باکتری، هچری

فصل اول: بخش نخست - کلیات

۱-۱- مقدمه:

آب نه تنها برای جانداران خشکی زی بلکه برای آبزیان منشاء حیات است. در طبیعت آب فراوان با سرسبزی و جنگل و رویش گستردهٔ پوشش گیاهی همراه است. حتی تمدن های بزرگ بشری در حاشیه رودها و مناطقی که منابع آبی وجود داشته است پدید آمده اند.اظهار گردیده است که حیات جانداران از دریا شروع شده است. امروزه بیش از قرون گذشته، آب به عنوان یکی از مهم ترین منابع طبیعی مورد توجه قرار گرفته است. امروزه آب به عنوان یک مادهٔ اولیه مورد نیاز آبزی پروری (اعم از پرورش ماهی، میگو، نرمتنان و...)، صنایع، کشاورزی، دامپروری، و بسیاری از کاربردهای دیگر مطرح شده است. امروزه با روند سریع رشد جمعیت و افزایش نیاز به پروئین، نیاز به آب سالم برای آبزی پروری و حتی سایر مصارف مثل مصارف شهری و کشاورزی

به سرعت رو به افزایش است. پیش بینی شده در اواخر هزاره سوم جمعیت کره زمین به ۸.۵ میلیارد برسد بر این اساس نیاز به غذا و به طبع آن آب، همچنان سیر صعودی خواهد داشت (مطلبی،۱۳۸۴).

آمارها نشان می دهد در طی نیم قرن یعنی از سال ۱۹۵۰.م تا ۲۰۰۰.م میزان آبزیان پرورشی تولید شده در جهان از ۵۸۴۵۰۷ تن به ۴۵۶۶۰۶۶۵ تن افزایش یافته است یعنی رشدی معادل ۷۸ برابر، و در سال ۲۰۰۵ میزان آبزیان پرورشی تولید شده در جهان به ۶۲۹۵۹۰۴۶ تن رسیده است (گنجور،۱۳۸۶; w.fao.org/fishery/topics/16140,2008)، که نشان دهنده افزایش تقاضای برای آب است. از سوی دیگر با کاهش تدریجی ذخایر دریایی و تنزل میزان صید در واحد تلاش، و افزایش نیاز بشر به غذای بیشتر ضرورت توجه به آبزی پروری بیشتر نمود یافته است (حسن نیا،۱۳۸۶). اما در اولین اولویت، تامین، دسترسی و تهیه آب سالم است. آبزی پروری به آب زیادی نیاز دارد، این آب باید از هر جهت سلامت آبزی را تامین نماید. یکي از مهمترین عوامل در تولید میگو کیفیت آب مي‌باشد (Jurquera,2002 ; Sing,1999 ; Bullack,1997 ; Summerfelt,1997). مطالعۀ متون علمی نشان می دهد در قرن گذشته بشر تنها به سلامت آب شرب برای انسان می اندیشید. اما امروزه نیاز است تا نه تنها برای انسان ها بلکه برای شیلات و آبزی پروری، دامپروری و حتی کشاورزی آب سالم تهیه شود لذا مشغله های بشری چندین برابر شده است و محققان بایستی به سرعت نه تنها در زمینۀ بهداشت آب آشامیدنی تحقیق نمایند بلکه در زمینه های دیگر از جمله بهداشت و سلامت آب شور (آب دریا) به منظور به کارگیری در کارگاه های تکثیر و پرورش آبزیان تحقیقات بیشتری به انجام برسانند. در

خصوص پساب ها بحران بسیار جدی تر است به طوری که از یک سو با افزایش جمعیت، حجم پساب ها به سرعت رو به افزایش است و از سوی دیگر با توسعه سریع صنعتی شدن کشورها، پساب های صنعتی نه تنها رو به افزایش است بلکه حاوی ترکیبات سمی و پیچیده تری نسبت به دهه های قبل هستند که به سرعت وارد محیط زیست می شوند. البته بحث پسابها خارج از حوصله این مقال است و تاکید این تحقیق بر تامین کیفیت آب مصرفی کارگاههای تکثیر میگو است. در خصوص تیمارسازی و تهیه آب سالم برای آبزی پروری که محور اصلی این گزارش است بایستی اذعان داشت که پژوهشهای فراوانی پیش رو داریم مخصوصا با توسعهٔ صنعتِ پرورش آبزیان اعم از آبزیان آب شیرین (مثل ماهی قزل آلا، کپور و میگوی آب شیرین) و آبزیان آب شور (مثل میگو و ماهیان دریایی همچون Sea bass) این مهم بیش از پیش نمود میابد. از سوی دیگر بهداشت و سلامت آب برای آبزی پروری بسیار مهم است. بطور مثال تا کنون بیش از ۲۰ بیماری ویروسی و باکتریایی مسری در میگو تشخیص داده شده است و انتقال برخی از عوامل بیماریزا از طریق آب تایید شده است (گنجور،۱۳۹۰-الف ؛ افشار نسب،۱۳۸۶). بنابراین نیاز به آب نه تنها از نظر کمی روند افزایشی داشته است بلکه از نظر کیفی، مطلوبیت بالاتری را نیاز دارد. تحقیقات در زمینهٔ بهداشت و کیفیت آب برای آبزی پروری نسبت به بهداشت آب آشامیدنی اندک تر است. بنابراین از یک طرف مسیر برای ادامه تحقیقات بکر است و از جهت دیگری باید گفت پیشینه تحقیقات در این زمینه به تکامل نرسید و هنوز کمبود اطلاعات وجود دارد. در هر حال، در خصوص بهداشت آبِ آبزیان بایستی اذعان داشت که تحقیقات هر چند، چندان کم نیست اما نسبت به آب شرب به مراتب کمتر است

و لذا این گسترهٔ تحقیقاتی محققان را فرا می خواند تا مطالعات جامع و گسترده تری در زمینه بهداشت و تصفیه آب به منظور به کارگیری در صنعت آبزی پروری اعم از تکثیر، پرورش و فرآوری به انجام برسانند. خوشبختانه این صنعت (آبزی پروری) در سر تا سر جهان مورد توجه قرار گرفته است و بیش از ۵۰ کشور جهان صنعت تکثیر و پرورش میگو دارند (مطلبی،۱۳۸۴). و بسیاری از کشورها در خصوص آبزی پروری و بهداشت و بیماری های آن و راهکارهای مدیریت بهینه آن سرمایه گذاری کرده اند و تحقیقات متعددی به انجام رسانیده و می رسانند. به طور مثال کشور ژاپن، کره، چین، مالزی، تایلند، هند، ایران و بسیاری از کشورهای دیگر از جمله کشورهای اروپایی و آمریکایی مثل اکوادور به آبزی پروری توجه دارند. لذا همین گستردگی جغرافیایی نشانه ای بر اهمیت این صنعت در جهان است. بهداشت و سلامت آب مورد نیاز برای آبزی پروری در ابتدای راه خود است و لازم است تا تحقیقات گسترده ای در خصوص بهداشت و حتی استانداردهای آب مصرفی برای تکثیر آبزیان و آبزی پروری و نحوه و شیوهٔ دفع پساب های آن به عمل آید. خلاصه آنکه همچنان که تکثیر و پرورش آبزیان افزایش و توسعه می یابد. بیماریها نیز نمود بیشتری می یابند (گنجور،۱۳۸۹ الف) لذا نیاز به اعمال روشهای مدیریتی برای کنترل بیماریها و مدیریت آب و سالم سازی آن بیشتر می گردد. در این تحقیق به مقوله ضد عفونی آب دریا و پالایش عوامل بیماریزای باکتریایی آن پرداخته شد و تاثیر سه عامل شاخص یعنی فیلتر شنی، کلرزنی و پرتوفرابنفش مورد بررسی و تفحص قرار گرفت.

۲-۱- اهمیت آب سالم از دیدگاه آبزی پروری:

کنترل کیفیت آب یک عامل کلیدی برای موفقیت در آبزی پروری است. در خصوص اهمیت آب برای آبزیان اشاره به این نکته ضروری است که نه تنها آب محیط زیست میگو است بلکه تغذیه میگو بواسطه آن و از طریق آب انجام می شود و حتی این آب وارد دستگاه گوارش میگو می شود. و از آن مهمتر آنکه تنفس میگو به آب وابسته است. پس عملا در آبزی پروری آب یعنی همه چیز چرا که آب بر تغذیه و تنفس میگو موثر است و حیات و سلامت میگو در گرو کیفیت آب است. حتی عوامل عفونی می توانند از طریق آب منتشر و میگو را درگیر سازند. بنابراین اجرای صحیح مدیریت کیفیت آب پر اهمیت ترین و کلیدی ترین بخش از آبزی پروری است. کیفیت آب در حقیقت شاهراه موفقیت صنعت تکثیر و پرورش میگو و آبزیان است و سایر عوامل مثل غذا در درجه بعدی اهمیت قرار دارند. البته این بدان معنا نیست که سایر عوامل منجمله کیفیت و کمیت تغذیه، هوادهی، نوع و جنس بستر، دفع پسابها و سایر عوامل بی اهمیت باشند بلکه منظور اولویت توجه به آب سالم و بهداشتی است. و اینکه آب سالم (از جهت عوامل فیزیکو شیمیایی و میکروبی) اولین اولویت است بطور مثال اگر کیفیت آب نامناسب باشد مثلا فاقد اکسیژن باشد میگو بلافاصله و در طی چندین دقیقه تلف می شود حال آنکه اگر به فرض به میگو غذا داده نشود، میگو می تواند چند روز زنده بماند پس شدت تاثیر و اهمیت آب سالم بسیار زیاد است. با توجه به اهمیت آب، در این تحقیق سعی گردید روشهای ضد عفونی آب مورد بررسی قرار گیرد.

اظهار شده است که حفظ کیفیت آب و مدیریت غذا در مواردی به هم وابسته اند و دقت در هر دو مورد برای

اقتصادی بودن و پایداری تولید ضرورت دارد (مجدی نسب، ۱۳۷۶).

در صورتی که کیفیت آب بد باشد احتمال بروز بیماری در اثر عوامل میکروبی همچون ویروس، باکتریها، قارچها و پروتوزوآها افزایش می یابد. با رعایت اصول بهداشتی حتی می توان حیوانات پرورشی را در شرایط مختلف از جمله سیستمهای بسته و نیمه بسته و در سلامت پرورش داد (w.neospark.com, 2011).

۳-۱- انواع آب و انواع روشهای تیمار سازی آب :

آب کاربردهای فراوان دارد از آشامیدن، کشاورزی و پرورش دام، طیور و آبزیان گرفته تا صنایع مختلف از جمله صنایع بهداشتی، داروسازی، واکسن سازی، پارکهای تفریحی، آکواریومها و غیره. بسته به نوع کاربرد، روش تیمارسازی آب متفاوت است و بنابراین استانداردهای تعریف و تدوین شده برای آنها نیز متفاوت است و بستگی به کاربری آب دارد. پس روش تیمارسازی آب بمنظور آبزی پروری نیز باید متناسب با این صنعت باشد. به طور مثال استانداردی که برای آب به عنوان دارو جهت تزریق به کار می رود با آبی که جهت شرب استفاده می شود بسیار متفاوت است و شیوه های تصفیه و پالایش آنها نیز بسیار متفاوت است. همچنین استانداردهایی که برای آب شرب تعریف می شود با استانداردهایی که برای آبزی پروری تعریف و تدوین می شوند بسیار متفاوت هستند. در خصوص آبزی پروری نه تنها تحقیقات در ابتدای راه خود است بلکه ۳ مشکل اساسی دیگر هم وجود دارد. اول آنکه در آبزی پروری مسئلهٔ تیمارسازی بر روی آب شور (آب دریا) انجام می شود. آب شور در مقایسه با آب شیرین نه تنها اثر خورندگی بیشتر دارد بلکه بدلیل داشتن نمکهای محلول و

مواد معدنی و آلی فراوان، قدرت واکنش پذیری بیشتری با مواد شیمیایی ضد عفونی کننده مثل کلر دارد. ثانیاً نه تنها حجم آب مصرفی، بلکه پسابهای حاصل از آبزی پروری بسیار زیاد است و با صنایع دیگر قابل مقایسه نیست. بنابراین روشها و دستورالعملهایی که در تیمارسازی آب دریا به منظور آبزی پروری ارائه می شوند و یا بکار می روند بایستی متناسب با همین صنعت باشد. هدف از اجرای این مطالعه نیز پاسخگوئی به بخشی از سوالات در این زمینه بوده است. ثالثا استاندارد های تعریف شده برای آبزی پروری هنوز تکمیل نشده اند، (حسینیان،۱۳۷۷). هدف اصلی این تحقیق، توجه به موضوع تیمارسازی و ضد عفونی آب مصرفی (آب دریا) بر کاهش تراکم باکتریهای آن مخصوصا برای صنعت تکثیر میگو بوده است که مبحث مهمی در مدیریت آب در آبزی پروری است.

۴-۱- خصوصیات آب :

۱-۴-۱-اختصاصات ظاهری آب :

اساسی ترین اختصاصات ظاهری آب شامل بو و طعم، کدورت و رنگ است (شریعت پناهی،۱۳۷۱). سایر اختصاصات آب بشرح زیر است.

۲-۴-۱- اختصاصات فیزیکی آب :

مهمترین اختصاصات فیزیکی آب عبارت است از : pH (اسیدیته و قلیائت)، قابلیت هدایت الکتریکی، خاصیت خورندگی و مواد معلق (شریعت پناهی،۱۳۷۱ Clesceri,1989) .

۳-۴-۱- اختصاصات شیمیایی آب :

این خصوصیات عبارت است از سختی، مواد معدنی، یونها (کاتیونها و آنیونها)، سموم دفع آفات، ترکیبات فنلی، هیدرو کربورهای پلی سیکلیک، تری هالومتان ها، پاک کننده ها، پلی کلرو بی فنیل ها، اکسیژن محلول، سایر گازها ی محلول، عناصر سمی و فلزات سنگین (آرسنیک، سرب، جیوه و...)، عناصر کمیاب (آلومینیوم، مس، ید و ...)، مواد رادیو اکتیو، مواد آلی حاصل از موجودات زنده (مواد دفعی و باقیمانده) و سایر مواد از این قبیل است (استکی، ۱۳۸۴ ؛ حسینیان،۱۳۷۷ ؛ شریعت پناهی، ۱۳۷۱ ; Clark,1992) .

۴-۴-۱- اختصاصات زیستی (بیولوژیکی) و میکرو بیولوژیکی آب :

علاوه بر جانوران و گیاهان آبزی پر سلولی، سایر موجودات زنده موجود در آبها عبارت است از باکتریها، ویروسها، پلانکتونها (فیتوپلانکتونها، زئوپلانکتونها) (جلبک های تک سلولی، پروتوزوآها)، کرمها، موجودات بنتیک (شریعت پناهی، ۱۳۷۱ ; Franson,1998) .

۱-۴-۴-۱- اجراء زنده موجود در آب :

همان طور که گفته شده ترکیبات، جانداران و مواد معلق و محلول در آبهای شور طیف وسیعی دارند. میترا ۲۰۰۴، معتقد است که میکروب های متعددی از جمله باکتریها و قارچ های (کپک ها و مخمرهای) متنوعی در آبهای شور زندگی می کنند. همچنین پلانکتون ها (فیتوپلانکتون ها، زئوپلانکتون ها) و پروتوزوآهای دریایی از جمله دیگر جانداران آبها هستند. در دریاها عملاً اکوسیستم های مختلفی وجود دارد مثلاً می توان در

بستر برخی از اقیانوس چشمه های آب گرم را یافت. این گونه اکوسیستم ها جانداران خاص خود را دارند که در شرایط غیر معمول مثل دما و فشار زیاد رشد می نمایند (Franson,1998 ; Mitra,2004). تا کنون حضور بیش از ۱۰۰ جنس از باکتریها در آب دریا ثبت شده است. میترا،۲۰۰۴ در کتاب خود اسامی آنها را ذکر نموده است(Mitra,2004). البته تعداد گونه این باکتریها بسیار فراوانتر خواهد بود و شناسایی تک تک آنها آنهم تا سطح گونه خارج از توان آزمایشگاههای متداول میکروبشناسی است.

علاوه بر باکتری ها، جانداران ریز دیگری همچون قارچ ها و انگل ها می توانند در آب دریا وجود داشته باشند. باکتریوفاژها و ویروس ها از دیگر عوامل موجود در آب دریا هستند که بر زندگی سایر آبزیان اثر میگذارند و ممکن است در آب دریا و آبهای جاری وجود داشته باشند. برخی از باکتریها و ویروس ها جزء عوامل بیماریزا طلقی می شوند. البته غالب عوامل بیماری زا میزبان خاصی دارند و معمولا در آبزیان بیمار یافت می شوند ولی در هر حال احتمال وجود این عوامل در آب دریا وجود دارد (Vinod,2006 ؛ Toranzo,2005 ؛ Mitra,2004 ؛ Pasharawipas,2005).

نقش باکتریهای موجود در آب دریا تنها ایجاد بیماری نیست. بلکه میکروب ها نقشهای بسیار مهم و حیاتی دیگری در اکوسیستمها دارند. ضمنا تعداد میکروبهای بیماریزا در مقایسه با کل میکروبها درصد کمی را شامل می شوند. میکروبها همیشه مضر نیستند آنها نقش مهمی در چرخهٔ عناصر به عهده دارند. چرخهٔ کربن، چرخهٔ نیتروژن و چرخهٔ سولفور از مهم ترین چرخه های طبیعی در اکوسیستمها هستند (حسینیان،۱۳۷۷).

در حقیقت میکروب ها از جمله باکتری ها از دیدگاه بشر و از نظر عملکرد به دو طیف مهم طبقه بندی می شوند طیف اول باکتریهای مفید هستند که گروه وسیعی از باکتریها را شامل می شوند مثل باکتریهای موثر در چرخه عناصر یا باکتریهای مورد استفاده بعنوان پروبیوتیک، پری بیوتیک و یا باکتریهای مورد استفاده در صنایع غذایی، لبنی(بعنوان استارتر و پروبیوتیک)، بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک (گنجور،۱۳۷۶ ؛ گنجور،۱۳۸۳ ؛ زمانی،۱۳۸۰ و ملک زاده،۱۳۸۰). و طیف دوم، باکتریهای بیماری زا هستند و شامل گروه محدودی از باکتریها می شوند که در سایر جانداران بیماری ایجاد می نمایند (Davis,1990).

ویبریوها از جمله رایجترین باکتریهای آب دریا هستند و در صنعت میگو اهمیت زیادی دارند. همه ویبریوها بیماریزا نیستند اما برخی از آنها برای آبزیان مضر هستند (گنجور،۱۳۹۰ ب) و برخی اثرات مثبت همزیستی دارند. ویبریوها نه تنها براي آبزیان، بلکه برخي از گونه های ویبریو براي سلامت انسان نیز مضر هستند و سبب ناراحتي‌هاي گوارشي در انسان مي‌شود. لذا از دیدگاه بهداشت و میکروبشناسي پزشکی و از نظر سلامت میگو بعنوان خوراک برای انسان و سلامت مصرف کننده نیز مطالعه ویبریوها اهمیت دارد. بطور مثال، ویبریو ولنیفیکوس، ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریوکلرا برای انسان بیماریزا هستند (Baron,1994 ; Chan,1989 ; Prescott,2002 and Murray,1990). بیماري ویبریوزیس از جمله مهمترین بیماریهاي باکتریابي آبزیان است که توسط گونه‌هاي مختلف باکتري متعلق به جنس ویبریو ایجاد مي‌شود (افشارنسب،۱۳۸۶ ؛ خیر،۱۳۸۵ ؛ Chang,1998 ; Egidius,1987 ; Puente,1992). بطور مثال ویبریو پاراهمولینیکوس سبب

ايجاد بيماري در اويستر، صدفهای دو كفه‌اي و برخي ديگر از نرمتنان مي‌شود (Puente,1992). ساير ويبريوها نظير ليستونلا آنگوئيلاروم (ويبريوآنگوئيلاروم) و ويبريو آلژينوليتيكوس سبب بيماري در ميگو مي‌شوند (Lightner,1996 ، Vanderzant,1970).

گونه‌هاي متعددي از ويبريو قادرند در ميگو ايجاد عفونت باكتريابي و بيماري نمايند (Lightner,1996 ; Vandenbergh,1998). بیماری حاصل از ویبریوها، ویبریوزیس خوانده می شود (گنجور،۱۳۸۹ ب ؛ مجدی نسب،۱۳۷۶) اين بيماري يكي از موانع سخت بر سر راه توسعه آبزي‌پروري در بسیاری کشورها از جمله چین بوده است. گونه‌هاي متعددی از ویبریوها بعنوان مسبب بيماري در گونه‌هاي مختلف ميگو معرفي شده اند. بطور مثال ويبريو هاروي در لارو ميگوي سفيد هندي (Prayitno,1995) و لارو ميگوي ببري سياه ايجاد بيماري مي‌نمايند (Lavilla-pitago,1990). ويبريو پاراهموليتيكوس در ميگوهاي جوان و بالغ ببري سياه و پنئوس اوراينتاليس ايجاد عفونت مي‌نمايد (Ruangpang,1991 ; Chanratchakool,1995). ويبريوولني فيكوس در ميگوي جوان و بالغ ببري سياه ايجاد بيماري مي‌نمايد (Ruangpan,1991 ; Chantrachakool,1995). ويبريو دامسلا در مرحله جواني و بلوغ ميگوي ببري سياه ايجاد بيماري مي‌نمايد و ويبريو كامپبلي در لارو ميگوي پنئوس اورينتاليس ايجاد بيماري مي‌نمايد (Vandenbergh,1998) و بالاخره ويبريو اسپلنديدوس در لارو ميگوي ببري سياه ايجاد بيماري مي‌نمايد (Lavilla-pitago,1990 ; Prayintno,1995). با توجه به اينكه برخي از ويبريوها از ميگوهاي سالم نيز جداسازي شده‌اند، بنابراين برخي محققين اظهار نموده‌اند كه ويبريوها زماني اثرات سوء خود را در ميگو

بروز مي‌دهند كه شرايط محيطي مثل استرس و شرايط فيزيكو شيميايي آب به بيماريزايي آنها كمك نمايد (Ruangpan,1991 ; Lightner,1996 ; Hameed,1993). با توجه به مطالب مشروحه فوق الذكر مطالعه باكتريهای بيماريزای آب دريا و بررسی نقش و عملكرد عوامل ضد عفونی كننده قابل كاربرد در صنعت آبزی پروری مثل كلر و اشعه فرابنفش بسيار حائز اهميت است.

بخش دوم: پيشينه تحقيق

۲-۱- مروری بر تحقيقات گذشته:

۱-۲-۱-عوامل ضد عفونی كننده آب:

ضد عفونی يكی از فرآيندهای رايج در طی تصفيه آب، بازيافت آب يا تصفيه پسابها است (Diao,2004). عوامل

ضد عفونی کننده طیف وسیعی دارند که به سه گروه عوامل شیمیایی، عوامل فیزیکی و عوامل زیستی (بیوکنترل) تقسیم می شوند (گنجور،۱۳۸۳ ؛ Clesceri,1989 ; Davis,1990 ; Frerichs,2000 ; Vinod,2006 and Karunasagar,2007). از سوی دیگر کلاً عوامل بیماریزا در جانداران (اعم از آبزی، انسان، حیوان و گیاه) نیز طیف وسیعی دارند که به باکتریها، برخی از جلبکها، قارچها (کپکها و مخمرها)، ویروسها، انگلها (اعم از پرسلولی و تک سلولی) تقسیم بندی می شوند (Davis,1990). بسته به نوع میکروب و ماهیت ماده ضد عفونی شوند نوع مناسبی از عامل ضد عفونی کننده بایستی انتخاب و بکاربرده شود. در این تحقیق از سه عامل ضد عفونی کنندهٔ یعنی فیلتر شنی، کلر و اشعه فرابنفش بهره گرفته شد که بترتیب جزء عوامل ضد عفونی کننده فیزیکی، شیمیایی و فیزیکی طبقه بندی می شوند. عوامل بیماریزای موجود در کارگاههای تکثیر و پرورش میگو می تواند انواعی از باکتریها، برخی از جلبکها، ویروسها، قارچها یا انگلها باشند که در این پروژه تحقیق بر روی عوامل باکتریایی متمرکز بود است.

عواملی که در تاثیر یک عامل ضد عفونی کننده موثر هستند عبارتند از نوع عامل ضد عفونی کننده، دوز و یا بعبارت بهتر کمیت و کیفیت عامل ضد عفونی کننده و زمان تاثیر آن، نوع میکروب یا عوامل مضر موجود در آب، شرایط فیزیکو شیمیایی آب (مثل غلظت نمکهای محلول در آن، دما، pH، شوری، اکسیژن محلول)، واکنشهای احتمالی بین عامل ضد عفونی کننده و ترکیبات آلی و معدنی آب، و بالاخره میزان ترکیبات آلی موجود در آب و تراکم عامل میکروبی در آن (Davis,1990 ; Bitton,2005 ;

آب دریا را می‌توان به طُرُق مختلف ضدعفونی کرد از جمله به کمك پرتو فرابنفش، فیلتراسیون، افزایش دمای آب(حرارت‌دهی)، ازن، آنتی‌بیوتیکها و مواد اکسیدکننده از جمله هالوژنهایی مثل کلر و مشتقات آن نظیر دی‌اکسید کلر و هیپوکلریت کلسیم هر کدام از این روش‌ها منافع و عوارض جانبی دارند از جمله ممکن است هزینه بر باشند و یا نیاز به تجهیزات خاص داشته باشند و یا تولید مواد سمی جانبی و یا باقیمانده و یا ایجاد مقاومت دارویی نمایند(Jacobson,1988 ; Puente,1992 ; Chang,1998 ; Pascho,1995 ; Whipple,1994 ; Ledo,1983 ; Bullock,1997 ; Frerich,2000 ; Munro,1999 ; Liltved,1999 ; Jorquera,2002).

عواملی که می‌تواند بر انتخاب روش تصفیه یا پالایش آب موثر باشد عبارتند از: کیفیت آب مورد نیاز، حجم آب مورد نیاز، استاندارد تعیین شده، و هزینه مصرفی برای این منظور است (Bomo,2003).

۱-۱-۲-۱-کلر:

بطور سنتی، کلر زنی یکی از غالبترین شیوه های مورد استفاده برای ضد عفونی آب است (Diao,2004). کلر خالص، عنصری گازی به فرمول Cl_2 است که در آب بر اساس واکنش ذیل هیدرولیز می شود (Bitton,2005) :

$$Cl_2 + H_2O \rightleftharpoons HOCl + H^+ + Cl^-$$

و تولید اسید هیپو کلروز و یون کلر (آنیون) می نماید. اسید هیپو کلروز نیز بر اساس واکنش ذیل در آب ایجاد یونهای مثبت و منفی می نماید:

$$HOCl \rightleftharpoons H^+ + OCl^-$$

کلر علیه بسیاری از میکروبها موثر است و مکانیسم عمل تاثیر آن بر میکروبها به طرق ذیل است:

- اختلال در نفوذپذیری سلول

- آسیب به ساختار ماکرومولکولها
- اکسید نمودن گروههای سولفیدریل و اختلال در ورود مواد مغذی به سلول و مهار تنفس سلولی (Bitton,2005 ; w.neospark.com,2011 ;).

کلر یک اکسید کننده بسیار قوی است که حتی سبب اکسید شدن مواد آلی درون آب می شود (w.neospark.com,2011). کلر یا مشتقات آن به سه شکل (گازی، مایع و جامد) وجود دارند و می توانند جهت ضد عفونی بکار روند از جمله این مشتقات می توان به دی اکسید کلر، کلرامین و هیپوکلریت سدیم اشاره نمود، که علیه باکتریها، جلبکها (فیتوپلانکتونها)، قارچها، ویروسها و انگلها موثرند (Junli,1997). جان لی ۱۹۹۷، اظهار داشت که تاثیر کلر خالص با دی اکسید کلر بر باکتریها و غیر فعال سازی آنها یکسان است. وی اظهار داشت ترکیبات مذکور نه تنها در pH خنثی بلکه در طیف وسیعتری از pH فعال هستند و یکی از ایده آل ترین ترکیبات ضد عفونی کننده اند (Junli,1997). در این تحقیق از فرم جامد کلر یعنی هیپوکلریت کلسیم استفاده شد (به فصل ۲ مراجعه شود).

پواینتي ۱۹۹۲، اظهار داشت که ميزان يون كلر (Cl^-) لازم براي حذف ويبريو پاراهموليتيكوس بين ۲۸۵ تا ۲۸۵۰ ميكروگرم بر ليتر است كه معادل ۰.۲۸ تا ۲.۸ ميلي گرم بر ليتر يا ۰.۲۸ تا ۲.۸ ppm است (Puente,1992) .

كلرين يكي از موثرترين مواد ضدعفوني‌كننده است كه به سهولت و با قيمت مناسب قابل دسترس است. اين ماده به اشكال مختلف (گاز، مايع و جامد) وجود دارد و جهت كنترل ميكروبها در آب شور و شيرين و بهداشت ظروف و سطوح

در صنعت پرورش ميگو قابل استفاده است(Jorquera,2002 ; Pascho,1995) مطالعات آزمايشگاهي و صحرايي(مزرعه اي- فيلدي) نشان داده است كه كلر اثر ميكروبكشي قوي دارد و عليه ويروسها و باكتريها موثر است (Sako,1988 ; Inouye,1990 ; Frerichs,1990 ; Pascho,1995 ; Arimoto,1996 ; Chang ,1998) .

ميزان كلر مصرفي براي ضد عفوني آب متغير است و به عوامل متعددی (مثل تراكم ميكروبها و مواد آلی آب) بستگي دارد اما غالبا بين ۲ الي ۱۰ ميلي گرم بر ليتر($^{-1}$ mg.l) كه معادل ۲ الي ppm ۱۰ مي‌باشد (w.lenntech.com,2011 ; Lantagne,2008) .

۱-۱-۱-۲-۱-عوارض سوء كلر:

استفاده از كلر نه تنها خطرهايی برای سلامت جانداران بلكه عوارضی برای اكوسيستم ها دارد (Diao,2004). در خصوص ميگو، عوارض سوء كلر بيشتر بصورت تلفات گزارش شده است. كلر براي آبزيان بسيار سمي است و مي‌تواند به جانوران و گياهان آسيب برساند لذا در آب مخصوص پرورش آبزيان بايستي باقيمانده كلر بسيار كم و در حدي باشد كه به آبزي آسيب نرساند (Jorquera,2002) .

۲-۱-۲-۱-پرتو فرابنفش:

استفاده از لامپ فرابنفش (UV) سبب كاهش باكتريها در آب می شود. براون ۱۹۷۹، اظهار مي‌دارد كه استفاده از لامپ فرابنفش (UV) بمنظور تصفيه آب سبب كاهش بيماري در نوزادگاههاي ماهي شده است. همچنين وي اظهار مي‌دارد كه تحقيقات سايرين نشان داده است كه بكارگيري پرتو مذكور سبب كاهش ۹۹ درصدي در تراكم ۵ گونه از باكتريهاي بيماريزا در آب شده است (Brown, 1979) . وي اظهار داشته است كه بكارگيري اشعه مذكور بمنظور ضد

عفوني آب و بازيافت آب كارگاه مؤثر است و حتي شيوع بيماريهاي قارچي را كاهش داده است (Brown, 1979). دايزر ۱۹۹۳، با بكارگيري اشعه UV نشان داد كه اين اشعه با دوزي معادل mW/cm^2 ۳/۱۳ مي‌تواند جمعيت باكتريهايي همچون E.coli، Feacal Streptococci، برخي از گونه‌هاي سالمونلا و حتي باكتريو فاژي نظير كليفاژ (Coliphages) را به ميزان ۱ الي ۲ لوگ (Log) كاهش دهد. البته وي اظهار مي‌دارد مقاومت ميكروبها در مقابل اين اشعه يكسان نيست (Dizer,1993). ميزان دوز اشعه UV براى از بين بردن برخى از باكتريها بين ۱.۷ تا ۵.۵ $mW.s/cm^2$ و براى برخى از ويروسها ۳.۶ تا ۸ $mW.s/cm^2$ و بالاخره براى از بين بردن سيست برخى انگلها بين ۳۵ تا ۸۲ $mW.s/cm^2$ است (Bitton,2005). ميزان تاثير بخشي اشعهUV به عوامل متعددي بستگي دارد از جمله: فركانس و طول موج پرتو فرابنفش، دوز اشعه‌دهي (كه اين مورد بستگي به قدرت لامپ، مدت زمان پرتودهي و سرعت جريان آب دارد) و همچنين مقاومت عامل ميكروبي(جنس و گونه ميكروب) بستگي دارد (Cabaj,1996 ; Bitton,2005).

۱-۲-۱-۲-۱-مكانيسم اثر UV:

نور فرابنفش با تاثير بر ماكرومولكولهاى سلولى مخصوصا اسيد دزوكسى ريبونوكلئيك سبب ايجاد تغيير در آن و بوجود آمدن باز الى دايمر در آن مى شود اين موضوع سبب مى شود تا تكثير باكترى مختل گردد. برخى از باكترى ها سيستمهايى براى ترميم آثار ناشى از پرتو UV را دارند اما اگر ميزان اشعه زياد و شرايط براى فعال شدن سيستم مذكور مهيا نباشد باكترى از بين خواهد رفت (Davis,1990 ; Bitton,2005). پرتو فرابنفش

(Ultraviolet radiation – UVR) نه تنها به اسید دزوکسی ریبونوکلئیک DNA بلکه به پروتئینها، چربیهای غشاء و فتوسیستم II آسیب می رساند. نور فرابنفش طیفی از امواج مابین ۱۰ تا ۴۰۰ نانومتر را شامل می شود که خود به چند دسته تقسیم می شود. نور UVA با طول موج ۳۱۵ تا ۴۰۰ نانومتر (Bitton,2005 ; Hurst,2002)، نور UVB با طول موج ۲۹۰ تا ۳۲۰ نانومتر و نور UVC با طول موج ۲۴۰ تا ۲۹۰ نانومتر (Paul,2001). بیشترین اثر تخریبی نور فرابنفش مربوط به طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر است (Davis,1990 ; Hurst,2002).

۳-۱-۲-۱-فیلتر شنی:

استفاده از فیلتر شني يكي از راحتترين و مقرون به صرفهترين روشها بمنظور تيمار نمودن آب در سرتاسر جهان است (Campos,2002 ; Ellis,1987) كه نه تنها برای آبزی پروری حتی برای مراحل ابتدایی تصفیه آب آشامیدنی کاربرد دارد. اين فرآيند ميتواند برخي از انگلها و جلبكها را حذف نمايد. همچنين فيلتر شني ميتواند از تراكم بسياري از باكتريهاي مضر براي آبزي پروري بكاهد (Bomo,2003). اما يكي از مشكلات فيلترهاي شني تجمع باكتريها (ايجاد فيلم) در سطوح ذرات آن است (Campos,2002). در خصوص فيلتر شني، بايستي اظهار نمود كه عوامل متعددي در كارايي آن موثر است كه عبارتند از اندازه ذرات شن، خصوصيات سطحي ذرات (مساحت سطح آنها و جذب سطحي آنها)، شدت جريان آب از ميان ذرات، يونها و pH آب و حتي خصوصيات سطحی باکتریها موجود در آب است (Gross,1995 ; Martinez -Martinez,1991 ; Smith,1985) . بومو ۲۰۰۳، اظهار میدارد که طرز عمل یك فيلتر شني جهت پالايش عوامل بيماريزا را ميتوان به ۲ مرحله تقسيم

کرد، مرحله اول زماني است که فيلتر شني تازه شروع بکار نموده است و در حقيقت شن آن تازه تعويض شده است. در اين مرحله پالايش باکتريها بسيار زياد است اما بتدريج از توانايي آن بر پالايش باکتريها کاسته مي‌شود و بعد از مدتي فيلتر شني به مرحله ثبات مي‌رسد که در اين مرحله ميزان تصفيه باکتريها در حد معيني (در مقايسه با زمان شروع بکار فيلتر) باقي مي‌ماند (Bomo, 2003).

فصل دوم

"مواد و روش کار"

۲-۱-تجهيزات مورد استفاده در اين پروژه :

ميکروسکوپ، هود ميکروبشناسي، يخچال، انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد، انکوباتور ۴ درجه سانتی گرادا (يخچال دار)، اتوکلاو، آون (فور)، دستگاه کلنی کانتر، ترازو، دماسنج، هيتر برقی مگنت دار، حمام آب گرم (بن ماری)، تايمر زنگدار، اکسيژن سنج مارک WTW، شوری سنج مارک ATAGO مدل S/Mill، pH متر، دستگاه ضد عفونی فرابنفش جهت ضد عفونی آب (دارای لامپ UV).

۲-۲-مواد مورد استفاده در اين پروژه (محيط کشت، لوازم مصرفی و مواد شيميايی):

طيف وسيعی از مواد شيمايی جهت اجرای اين پروژه خصوصاً جهت انجام آزمايشات بيوشيميايی بمنظور شناسايی باکتريها مورد نياز بود که شرح کلی محيط ها و مواد

شیمیایی مصرفی در این پروژه بشرح ذیل ارائه می گردند:

محیط کشت TCBS Agar (Thiosulphate citrate bile sucrose Agar)، محیط کشت TSA (Trypticase Soy Agar)، محیط کشت Trypticase Soy) TSB (broth، محیط کشت پایه ای اسیدهای آمینه، محیط پایه نیترات، محیط پایه ژلاتین، ژلاتین، محیط کشت سیمون سیترات، محیط پایه قندی معرف دار، کلرید سدیم (NaCl)، اورنیتین، آرژنین، معرف اکسیداز، گلوکز، سلوبیوز، اینوزیتول، اسید استیک، سولفانیلیک اسید، آلفانفتیل آمین، وانکومایسین، ترکیبات رنگ آمیزی گرم (استون، الکل، ید، یدید پتاسیم، کریستال و یوله) و هیپوکلریت کلسیم، پلیت کشت یکبار مصرف استریل، ظروف نمونه برداری یکبار مصرف استریل، پنبه، لوله آزمایش، آب مقطر، دستکش، بتادین، الکل، لوپ، سمپلر و سر سمپلر.

۳-۲-امکانات آزمایشگاهی و تأسیساتی مورد استفاده :

جهت اجرای این پروژه از امکانات آزمایشگاهی آزمایشگاه میکروبشناسی پژوهشکده میگوی کشور و نیز از امکانات و تأسیسات ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه ـ بوشهر (فیلتر شنی، استخرهای ذخیره و نگهدار آب و سیستم ضد عفونی فرابنفش) استفاده شد.

۴-۲-محل نمونه برداری:

محل نمونه برداری این پروژه ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه بود که دارای مشخصات جغرافیایی "۲۰ '۴۹ °۲۸ شمالی و "۱۲ '۵۴ °۵۰ شرقی است.

۲-۵-خصوصیات دستگاه پرتوفرابنفش :

این دستگاه که مختص ضد عفونی آب طراحی شده بود، محصول وارداتی شرکت شکوفان توسعه (نماینده انحصاری آراد فرانسه) بود (w.ardairan.com). دستگاه مذکور مدل "UV3M55W" با یکعدد لامپ UV بود که دبی دستگاه مذکور ۳۰۰۰ لیتر بر ساعت و طول عمر لامپ آن ۸۰۰۰ ساعت بود که با برق شهری کار می نمود. دستگاه مذکور دارای سیستم هشدار دهندهٔ عدم کار کرد لامپ بود که مکررا اتصالی می نمود.

۲-۶-کلر مصرفی :

کلر مصرفی در این پروژه که در برخی از تیمارها بکار رفت بصورت جامد بود. بدین منظور از هیپوکلریت کلسیم که بصورت گرانولهای جامد سفید رنگ است استفاده شد. میزان هیپوکلریت کلسیم مصرفی در این پروژه ppm ۱۰ بود . قبل از افزودن ماده شیمیایی مذکور به آب تیمارها، ابتدا آنرا بطور کامل در مقداری آب مقطر (در یک لیوان) حل نموده و سپس اضافه می شد.

۲-۷-فیلتر شنی بندرگاه :

فیلتر شنی مذکور در ابعاد ۳×۱×۲.۵ (طول ۳ عرض ۱ و ارتفاع ۲.۵) متر ساخته شده است و پس از افزودن شن و کربن فعال (ذغال) گنجایش تقریبی ۶ متر مکعب آب را دارد. دبی آن حداکثر ۴ تا ۵ لیتر در ثانیه است. از روش شمارش کل باکتریهاي زنده (TVB) در فیلتر شني براي ارزیابي عملکرد فیلتر شني می توان بهره گرفت (Bahgat,1999). در این مطالعه نیز ارزیابی عملکرد فیلتر شنی در مقایسه با کلر و پرتو فرابنفش به کمک شمارش

باکتریهای آب فیلتر شده انجام شد. لازم به ذکر است، از فلیتر شني نه تنها براي تصفیه آب مصرفي بلکه براي تصفیه فاضلاب نیز میتوان بهره گرفت (Ellis,1987 ; Bahgat,1999) که خارج از بحث این مطالعه است.

۸-۲-روش تحقیق (اصول کلی اجرای پروژه) :

با توجه به ماهیت و اهداف پیش بینی شده برای این پروژه لازم بود نقاط مشخصی بعنوان مناطق نمونه برداری تعیین و تعریف شوند این نقاط در حقیقت تیمارهای پروژه محسوب می شدند. بطور مثال یکی از نقاط نمونه برداری اولین محل پمپاژ آب از دریا به کارگاه بود بنابراین این نقطهٔ یک نقطه کلیدی نمونه برداری تعریف شد و آب دریا بعنوان یکی از تیمارهای پروژه معرفی گردید. بدین ترتیب پس از بررسی سیستم تصفیه آب و براساس سند پروژه، ۷ نقطه اصلی و کلیدی تبیین شدند. بعبارت بهتر این پروژه ۷ تیمار (محل نمونه برداری) مختلف به شرح ذیل داشت:

۱. نمونه برداری از آب دریا.
۲. نمونه برداری از استخر آرامش.
۳. نمونه برداری از آب پس از پالایش بکمک فیلتر شنی.
۴. نمونه برداری از آب پس از کلر زنی.
۵. نمونه برداری از آب پس از پرتو دهی بکمک اشعه فرابنفش.
۶. نمونه برداری از آب پس از تاثیر توأمان کلر و پرتو دهی بکمک اشعه فرابنفش.
۷. نمونه برداری از آب تانک های حاوی میگو.

تیمار اول (شاهد - کنترل) :

تیمار اول شامل نمونه های حاصل از آب دریا بود. این نمونه ها از محل پمپاژ آب دریا به ایستگاه جمع آوری می شد. برای این تیمار ۷ نوبت نمونه برداری بعمل آمد، هر نوبت از نمونه برداری در تاریخ مشخصی انجام می شد و در هر نوبت سه بار نمونه برداری (سه عدد نمونه) جمع آوری می شد. نمونه برداری نوبت بعدی با فاصله زمانی انجام می شد. کلا ۷ نوبت نمونه برداری انجام شد و در هر نوبت ۳ نمونه مورد بررسی قرار گرفت و جمعاً در این تیمار ۲۱ نمونه بررسی شد.

تیمار دوم :

تیمار دوم نمونه آب استخر آرامش بود یعنی آب ورودی به کارگاه و قبل ازانجام هر گونه فرایند تصفیه و ضد عفونی بود. از این تیمار نیز مطابق با آنچه برای تیمار اول گفته شد (۷ نوبت با فاصله زمانی و هر نوبت سه تکرار) نمونه برداری بعمل آمد.

تیمار سوم :

نمونه آب حاصل از فیلتر شنی بود. در این مرحله آب دریا پس از عبور ازلایه ای از شن (فیلتر شنی) که ابتدایی ترین مرحله تصفیه است مورد آزمایش قرار گرفت. (۷ نوبت با فاصله زمانی و هر نوبت دارای ۳ تکرار) بود.

تیمار چهارم :

شامل نمونه برداری از آب دریا پس از طی مرحله کلرزنی بود. در این مرحله آب دریا پس از عبور از فیلتر شنی توسط ppm ۱۰ هیپوکلریت کلسیم ضد عفونی شد، سپس نمونه برداری و کشت می شد تا تعدا کل باکتریها و تعداد کل ویبربوهای آن معین شود. از این تیمار نیز ۷ نوبت با فاصله زمانی و هر نوبت با ۳ تکرار نمونه برداری شد.

تیمار پنجم :

شامل نمونه آب دریا بود که تحت تأثیر پرتو فرابنفش (نور UV) بعنوان عامل ضد عفونی کننده قرار گرفته بود. در این مرحله از آب دریا پس از عبور از دستگاه تابش فرابنفش (مشخصات این دستگاه قبل ذکر شده است) نمونه برداری شد. ۷ نوبت نمونه برداری با فاصله زمانی و هر نوبت با سه تکرار انجام شد .

تیمار ششم :

شامل نمونه آبی بود که از صافی شنی عبور نموده بود و سپس به کمک ppm ۱۰ هیپوکلریت کلسیم ضد عفونی شده بود و در نهایت ازدستگاه پرتو فرابنفش (UV) عبور داده شد بود. این نمونه در حقیقت نمونه آبی بود که کلیه مراحل ضد عفونی را پشت سرهم طی کرده بود و انتظار می رفت که ازنظر کیفیت میکروبی ایده آل ترین حالت را داشته باشد. از این تیمار ۷ نوبت با فاصله زمانی معین نمونه برداری بعمل آمد ودر هر نوبت ۳ تکرار نمونه وجود داشت.

تیمار هفتم :

این تیمار متعلق به آب تانکهایی بود که حاوی میگو بودند. در حقیقت بعد از آنکه آب، کلیه مراحل تصفیه و ضد عفونی را طی می کرد، بمنظور تعویض آب به تانکهای حاوی میگو افزوده می شد. تیمار هفتم آب تانکهای مذکور بود که مورد نمونه برداری قرار گرفت (۴ نوبت با فاصله زمانی و هر نوبت ۳ تکرار). با توجه به اینکه در سند پروژه ۳ نوبت نمونه برداری پیش بینی شده بود لذا عملا بیش از انتظار پروژه نمونه برداریها انجام شد.

۱-۸-۲-روش کار :

نمونه برداری از آبها و تیمارهای مورد نظر به کمک دستکش یکبار مصرف نایلونی انجام نمونه ها در ظروف نمونه برداری پلاستیکی استریل ۶۰ میلی لیتری جمع آوری می شد. مکانها و دفعات نمونه برداری در جدول (۱-۲) آورده شده است. در هر نوبت بعد از آنکه از هر تیمار نمونه برداری بعمل می آمد. نمونه ها در شرایط مناسب به آزمایشگاه انتقال داده می شد. سپس رقیق سازی و کشت انجام می شد و پس از آن تعداد باکتریها در نمونه ها تعیین می شد و نهایتا فرآیندهای شناسایی بمنظور تشخیص باکتریها صورت می گرفت (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد شماره ۲۳۴۷ ; Baron,1994) . بالاخره، تحلیل ها و مقایسه آماری تیمارها انجام می شد تا نقش هر یک از عوامل مورد مطالعه بر کاهش تراکم باکتریها ارزیابی شود.

جدول ۱-۲: مکانها و دفعات نمونه برداری.

زمان نمونه برداری / مکان نمونه برداری	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم	نوبت پنجم	نوبت ششم	نوبت هفتم	جمع
دریا	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۲۱
قبل از تصفیه (استخر آرامش)	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۲۱
بعد از فیلتر	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳	۳	۳	۳	۲۱

شنی				نمونه	نمونه	نمونه	نمونه	نمونه
بعد از کلر زنی	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۲۱
بعد از عبور از لامپ UV بدون کلرزنی	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۲۱
بعد از عبور از لامپ UV و کلرزنی	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۲۱
آب تانکهای حاوی میگو	------	------	------	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۳ نمونه	۱۲
جمع	**۱۸ نمونه**	**۱۸ نمونه**	**۱۸ نمونه**	**۲۱ نمونه**	**۲۱ نمونه**	**۲۱ نمونه**	**۲۱ نمونه**	**۱۳۸ (جمع کل)**

۲-۸-۲-روش انتقال نمونه ها :

پس از نمونه برداری، نمونه ها برچسب گذاری می شد. برروی هر برچسب نوع نمونه، شماره تیمار، شماره نمونه و تاریخ نمونه برداری قید می گردید. سپس نمونه ها در یخدان کائوچویی (یونولیتی) و در مجاورت کیسهٔ یخ به آزمایشگاه انتقال داده می شد. دمای تقریبی محیط یخدان در حدود ۴ الی ۱۰ درجه سانتی گراد بود. و مدت زمان انتقال نمونه ها بطور میانگین یک ساعت بود.

۳-۸-۲-روش کشت :

روش کشت نمونه ها متشکل از ۴ مرحله مجزا بود:

الف ــ رقیق سازی متوالی نمونه ها.

ب ــ تلقیح رقتهای مختلف نمونه ها به محیط کشت .

ج – شمارش و تخمین تعداد باکتریها در واحد حجم از نمونه.

د – شناسایی باکتریها.
دو روش اول تلویحا در زیر توضیح داده شده است. و دو روش آخر در ادامه همین فصل توضیح داده شده اند.

۴-۸-۲-رقیق سازی :

قبل از تلقیح نمونه ها برروی محیط کشت، لازم بود تا رقتهای متوالی از نمونه (آب) تهیه شود برای اجرای اینکار از روش رقیق سازی متوالی (Serid dilution) استفاده شد و رقتهای 10^{-1} تا 10^{-6} از هر نمونه تهیه گردید و سپس کشت شد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد شماره ۸۹۲۳-۱ ; Baron,1994) .

۵-۸-۲-روش کشت، تلقیح نمونه و شمارش باکتریها:

پس از رقیق سازی، ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت برروی هر یک از پلیت های حاوی محیط کشت افزوده می شد. در این پروژه به جهت شماره کل باکتریها از محیط TSA و برای شمارش تعدا کل ویبریوها از محیط TCBS Agar استفاده شد.

محیط TCBS Agar پر کاربردترین محیط اختصاصی ویبریوها است و برای کشت و شناسایی آنها در آب دریا و میگو بکار می رود (Collee,1989 ; Baron,1994 ; Lightner,1996 ; Frerichs,2000). واندنبرگ ۱۹۹۸ و گنجور ۱۳۸۰ جهت شمارش تعدا کل ویبریوها از محیط TCBS Agar استفاده نمودند (گنجور،۱۳۸۰ الف ؛ Vandenbergh,1998). جورکوئیرا ۲۰۰۲ و گنجور ۱۳۸۰ جهت شمارش و کشت باکتريهاي آب شور از محیط کشت TSA حاوي ۲ درصد نمك استفاده كردند (گنجور،۱۳۸۰ ب ؛ Jorquera,2002). امیدی ۱۳۸۳، جهت کشت باکتریهای کل از محیط TSA بهره گرفت (گنجور،۱۳۸۲ ؛ امیدی،۱۳۸۳ ؛

امیدی،۱۳۸۶). اما میزان نمک محیط کشتها ۳ درصد در نظر گرفته شد چرا که اکثر ویبریوها برای رشد به ۲ تا ۳ درصد نمک نیاز دارند (مجیدی نسب،۱۳۷۷) بعلاوه میزان شوری آبی که در کارگاههای تکثیر و پرورش میگوی استان بوشهر بکار می رود ppt ۳۰ تا ppt ۳۵ و گاها ۴۰ppt است لذا تنظیم غلظت نمک محیط کشت به میزان ۳% ضروری بود.

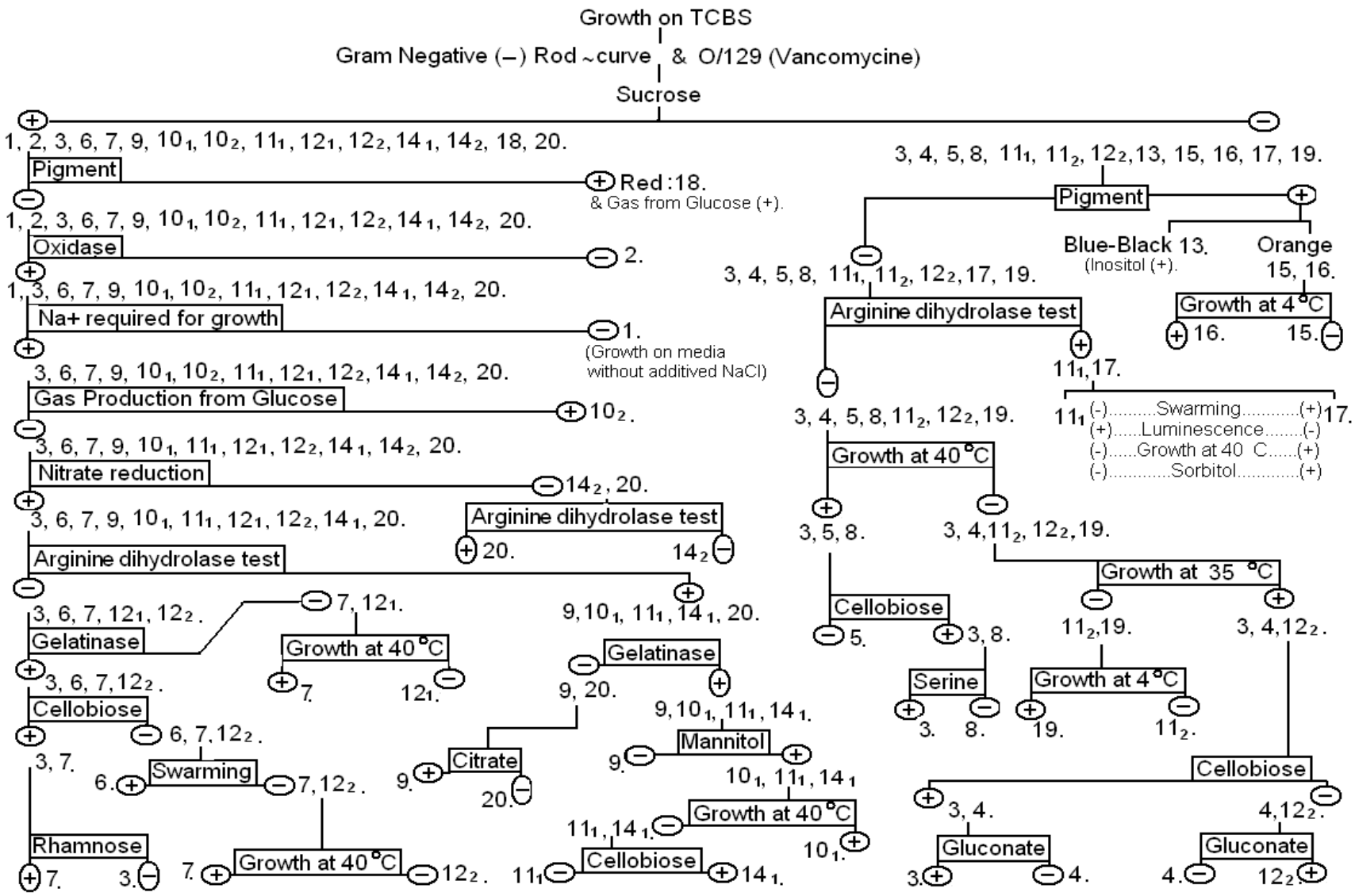
در هر حال، به ازاء هر نمونه، ۷ رقت و به ازاء هر رقت ۲ پلیت حاوی محیط TSA و TCBS کشت می گردید و نهایتاً برای هر نمونه ۱۴ محیط کشت تلقیح شد که پس از نگهداری در گرمخانه (انکوباتور) ۳۰ درجه سانتی گراد و بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت تعداد باکتریها در نمونهٔ آب به کمک شمارش تعدا کلینهای رشد یافته بر روی محیطهای کشت تخمین زده می شد.

۹-۸-۲-آزمونهای تشخیصی جهت شناسایی و ویبریوها :

این آزمون ها بجهت شناسایی باکتریهایی انجام شد که متعلق به خانوادهٔ ویبریوناسه بودند و بر روی محیط TCBS رشد نموده بودند. این آزمونها عبارت بودند از : رنگ آمیزی گرم، مشاهده مورفولوژی سلولی، بررسی رنگدانه، بررسی لومینسنس، آزمون اکسیداز، آزمون OF، آزمون نیترات، آزمون ژلاتین، آزمون آرژنین، آزمون لیزین، آزمون اورنیتن، آزمون سیترات، آزمون وانکومایسین (جایگزین برای o/۱۲۹)، آزمون اینوزیتول، آزمون گلوکز، آزمون سلوبیوز، آزمون سوکروز، آزمون رشد در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد، آزمون رشد در دمای ۴ درجه سانتی گراد (نادری نسب، ۱۳۷۵ ؛ Krieg,1984 ; Collee,1989 ; Baron,1994 ; Benson,2002).

جهت انجام آزمونهای بیوشیمیایی بر اساس دستورالعملهای توصیه شده توسط نادری نسب،۱۳۷۵ و بارون،۱۹۹۴ عمل گردید (نادری نسب،۱۳۷۵ ؛ Baron,1994) .

جهت شناسایی گونه ویبریوها از شکل ۱-۲ و جدول ۲-۲ بهره گرفته شد که بر گرفته از منبع (مجیدی نسب،۱۳۷۷) و به نقل از (Bergy's manual of systematic bacteriology. 1st ed.) بود .



شکل ۱-۲ : آزمونهای شناسایی گونه های ویبریو (به جدول ۲-۲ مراجعه شود).

جدول ۲-۲ :کلید شناسایی باکتریهای مندرج در شکل ۱-۲.

شماره	نام جنس و گونه باکتری	شماره	نام جنس و گونه باکتری
1	*Vibrio cholerae*	11_2	*V. splendidus II*
2	*V. metschnikovii*	12_1	*V. pelagius I*
3	*V. harveyi*	12_2	*V. pelagius II*
4	*V. campbellii*	13	*V. niegripulchritudu*
5	*V. parahaemolyticus*	14_1	*V. anguillarum I*
6	*V. alginolyticus*	14_2	*V. anguillarum II*
7	*V. natriegens*	15	*V. fischeri*
8	*V. vulnificus*	16	*V. logeii*
9	*V. nereis*	17	*V. proteolyticus*
10_1	*V. fluvialis I*	19	*V. gazogenes*
10_2	*V. fluvialis II*	20	*V. custicola*
11_1	*V. splendidus I*		

۱۰-۸-۲-روش آماری مورد استفاده (نرم افزارهای مورد استفاده):

برای ثبت داده ها، تحلیلهای مقدماتی آماری و تهیه نمودارها از نرم افزار MS-Excel استفاده شد همچنین مجدداً داده ها در نرم افزار SPSS ثبت شد تا مورد تجزیه و تحلیل دقیق آماری قرار گیرد مقایسه تحلیلی داده ها به کمک روش Anova (یکطرفه) انجام شد.

فصل سوم

"نتایج"

۱-۳- نتایج حاصل از کل پروژه :

این پروژه دارای هفت نوبت آزمون بود (به مبحث روش کار (فصل دوم مراجعه شود). در هر نوبت از آزمون، روش کار و نمونه برداری و کشت مشابه بود اما نتایج هر نوبت قابل مقایسه با سایر نوبتها بود. هر نوبت از آزمون تکرار نوبت قبل تر اما با فاصله زمانی محسوب می شد یعنی در زمانها و تاریخ های متفاوتی تکرار شده بود. علت این امر اطمینان از صحت نتایج پروژه با تکرار آزمایشات بود. همچنین لازم بود برای اثبات نتایج از روش های آماری استفاده شود که قابل استناد باشد لذا به اجبار این پروژه در چند نوبت انجام گردید تا نتایج با هم قابل قیاس باشند. در این قسمت از گزارش نهایی، نتایج حاصل از اجرای کل پروژه ارائه شده است که به صورت کاملاً فشرده در جدول شماره ۱-۳ ارائه شده است. با بررسی این جدول می توان جمع بندی نهایی را از پروژه ارائه نمود. بطور مثال با مشاهده این جدول مشخص می شود تعداد کل باکتریها در آب دریا ۵۱۸۷ عدد در هر میلی لیتر بوده است این عدد از هفت نوبت نمونه برداری حاصل آمده و به آن معنا است که این عدد میانگین تعداد باکتریها در آب دریا با استفاده از داده های هفت نوبت آزمون سه تکراری است یا به عبارت گویا تر، این میانگین حاصل از ۲۱ بار نمونه برداری است و دست آورد حاصل از اجرای کامل پروژه است. عدد مذکور میانگین – میانگین ها است یعنی میانگین ۳ تکرار و ۷ نوبت آزمون است.

کلیه اعداد ارائه شده در این جدول همینگونه می باشند، ضمنا در این جدول مقادیر انحراف معیار هر داده در ردیفی متناظر با داده اصلی ذکر شده است. با بررسی اعداد جدول ۱-۳ مشخص می شود که تعداد کل باکتریها در آب دریا، آب استخر آرامش، آب پس از تاثیر فیلتر شنی، آب بعد از پرتودهی با نور فرابنفش (UV)، آب بعد از افزودن کلر، آب بعد از تاثیر همزمان "کلر و پرتوفرابنفش" و بالاخره آب تانک های حاوی میگو به ترتیب ۵۱۸۷، ۴۴۴۹، ۲۷۸۲، ۱۱۶۴، ۱۴۳، ۸۷ و ۲۵۸۳۳ عدد در هر میلی لیتر بوده است. مقایسهٔ این اعداد دیدگاهی کلی در خصوص تاثیر هر یک از عوامل مذکور بر تصفیه آب ارائه می دهد که در قسمت نتیجه گیری و بحث به طور مفصل شرح آنها آمده است.

همچنین به کمک جدول شماره ۱-۳ مشخص می شود که تعداد کل ویبریوها، تعداد ویبریوها ی تخمیر کننده سوکروز و سوکروز منفی در طول پروژه و در تیمار های مختلف چه تغییراتی داشته است. بعلاوه این جدول در بر گیرنده سایر عوامل محیطی است که در طی انجام آزمون ثبت شده اند.

با توجه به جدول مذکور مشاهده می گردد. میانگین تعداد کل باکتریها در آب دریا در طی این نوبت از نمونه برداری برابر است با ۵۱۸۷ عدد در هر میلی لیتر یا به عبارتی ۵.۱۸۷×۱۰^{۶} در هر لیتر بوده است. حداقل و حداکثر تعداد باکتریهای شمارش شده در آب دریا بترتیب ۹۶۰ و۸۴۰۰ سلول در میلی لیتر بود.

در طی این مطالعه میانگین تعداد کل باکتریها در آب استخر آرامش ۴۴۴۹ عدد در هر میلی لیتر تعیین گردید. حداقل و حداکثر تعداد باکتریهای شمارش شده در

آب استخر آرامش ۱۲۹۰ و ۷۷۰۰ سلول در میلی لیتر تعیین شد. میانگین تعداد کل باکتریها در نمونه آب استخر آرامش طی این مطالعه از نظر عددی ۷۳۸ عدد باکتری در هر میلی لیتر کمتر از آب دریا بود بعبارتی ۱۴ درصد کمتر از آب دریا بود. ادامه روند آزمایش نشان داد که میانگین تعداد کل باکتریها در آب دریا پس از عبور از فیلتر شنی برابر با ۲۷۸۲ سلول در میلی لیتر بوده است. مقایسه تعداد باکتریهای آب دریا پس از عبور از فیلتر شنی در اولین نوبت از آزمایش نشان دهندهٔ اُفت ۴۶ درصدی در کل تعداد باکتریها بود. بررسی سایر نتایج نشان داد اشعه UV و کلر بمراتب کارایی بیشتری برکاهش تعداد باکتریها دارند. شمارش تعداد باکتریها در آب دریا پس از عبور از لامپ UV نشان داد که تعداد کل باکتریها در هر میلی لیتر آب دریا که تحت تاثیر اشعه UV قرار گرفته بود معادل ۱۱۶۴ عدد در هر میلی لیتر بوده است و از نظر عددی، تعداد کل باکتریها در آب تیمار شده با اشعه مذکور ۴۰۲۳ عدد کمتر از آب دریا و ۱۶۱۸ عدد کمتر از آب فیلتر شده بود.

بعد از بکار گیری کلر، تعداد کل باکتریها در نمونه آب مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کل باکتریها در نمونه آبی که که تحت تاثیر کلر قرار گرفت تقریبا ۱۴۳ عدد در میلی متر بود که این عدد در مقایسه با آب دریا و حتی در مقایسه با آبی که تحت تاثیر اشعه UV قرار گرفته بود کاهش چشمگیری نشان می داد.

تعداد کل باکتریها در نمونه آبی که به طور همزمان تحت تاثیر اشعه UV و ماده ضد عفونی کننده کلر قرار گرفته بود تعیین شد. نتایج نشان داد که تعداد کل باکتریها در نمونه مذکور تقریبا معادل ۸۷ سلول در میلی لیتر یا بعبارتی معادل 8.7×10^{4} عدد در هر لیتر

و یا ۸.۷×۱۰^{۷} عدد در هر متر مکعب بود. که در مقایسه با تعداد باکتریها در نمونه آب دریا دال بر اُفت شدید تعداد باکتریها و تاثیر شدید کلر و UV به طور همزمان بر کاهش تعداد باکتریها بود به طوری که میتوان گفت در طی این نوبت از نمونه برداری تعداد کل باکتریها حدودا ۱.۷ لوگ (Log) یا بعبارتی ۵۰ برابر اُفت داشت.

جدول مذکور در بر گیرندهٔ میانگین تعداد کل ویبریوهای شمارش شده در نمونه ها همراه با مقدار انحراف معیار آنها است. مقایسه تعداد کل ویبریوها در طی این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد کل ویبریو ها در نمونه آب دریا ۱۲۴۱ عدد در هر میلی لیتر بوده است که از این تعداد ۹۳۴ عدد ویبریوی تخمیر کننده سوکروز و ۴۰۸ عدد ویبریوی فاقد این توانایی بوده است. حداقل و حداکثر تعداد کل ویبریو ها در نمونه مذکور با ترتیب ۱۹۰ و ۲۷۰۰ عدد در هر میلی لیتر بود. به کمک آزمایشات مشخص شد که تعداد کل ویبریوها در آب استخر آرامش ۱۰۲۲ عدد در هر میلی لیتر بوده که از این تعداد ۷۷۳ عدد ویبریوی تخمیرکننده سوکروز و ۳۳۸ عدد ویبریوی فاقد این توانایی بوده است.

حداقل و حداکثر تعداد کل ویبریوها در نمونه مذکور به ترتیب ۱۱۰ و ۲۶۰۰ عدد در هر میلی لیتر بود. میانگین تعداد کل ویبریوها در حقیقت تابعی از تعداد کل باکتریها بود و مشخص گردید که در نمونه آب فیلتر شده توسط فیلتر شنی تعداد کل ویبریوها ۶۵۸ عدد در هر میلی لیتر بود که از این تعداد ۴۳۸ عدد ویبریوی تخمیر کنندهٔ سوکروز و ۲۷۰ عدد ویبریوی فاقد این توانایی بود. در ادامه آزمایشات مشخص گردید که تعداد کل ویبریوها در آب اشعه دیده با UV ۳۱۹ سلول در میلی لیتر (۲۶۷ عدد تخمیر کننده سوکروز و ۸۳ عدد غیر تخمیری) بوده است.

حداقل و حداکثر تعداد ویبریوها در نمونه مذکور به ترتیب ۲۰ و ۹۲۰ سلول در میلی لیتر بود. در نمونه آبی که تحت تاثیر فرآیند کلر زنی قرار گرفته بود تعداد کل ویبریوها افت شدید نشان داد تعداد کل ویبریوها در این نمونه تقریباً ۲۷ سلول در میلی لیتر بود و پس از فرآیند همزمان کلر زنی و پرتو دهی با پرتو UV تعداد کل ویبریوها تنها به حدود ۱۴ عدد در هر میلی لیتر رسید بعبارتی در آبی که کلیه مراحل ضد عفونی را طی نموده است معادل ۱.۴×۱۰^{۳} عدد در هر لیتر و ۱.۴×۱۰^{۶} عدد در هر متر مکعب بود البته این عدد در مقایسه با تعداد کل باکتریها در آب دریا که معادل ۵.۱۸۷×۱۰^{۹} عدد در هر متر مکعب بود بسیار کم می نمود. در هر نوبت از نمونه برداری فاکتورهای محیطی از قبیل دمای محیط، دمای آب، شوری، pH و اکسیژن محلول ثبت می گردید که نتایج آن در جدول مذکور قید شده است.

جدول شماره ۱-۳: نتایج کل مربوط به هفت نوبت آزمون بر روی تیمارهای مختلف در طی کل اجرای پروژه.

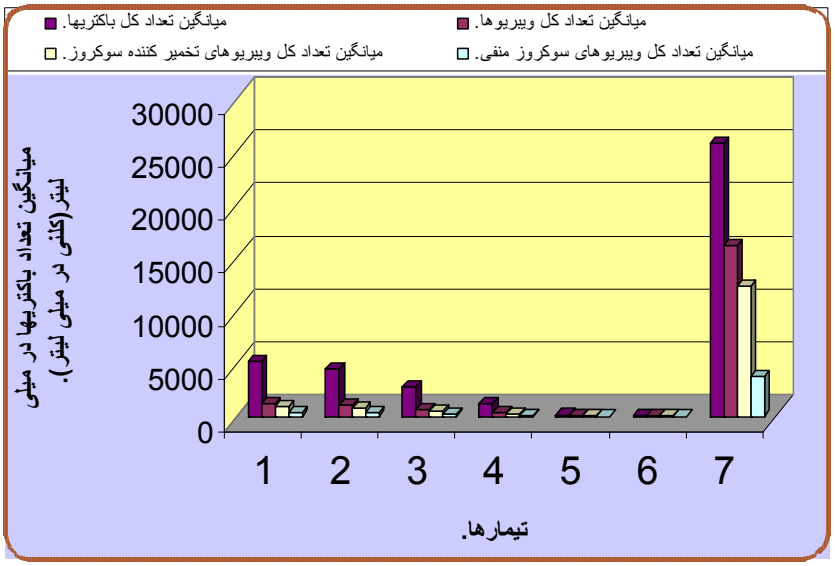
ردیف		نوع داده	آب دریا	آب استخر آرامش	آب بعد فیلتر شنی	آب بعد فیلتر شنی و UV	آب بعد فیلتر شنی و کلرزنی	آب بعد فیلتر شنیی، کلرزنی و UV	آب تانکهای میگو	ملاحظات
			ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	ماهیت نمونه	
۱	تعداد کل باکتریها CFU/ml	میانگین[1]	5187.62	4449.05	2782.86	1164.76	143.33	87.14	25833.33	
		± SD [2]	2137.36	2042.59	1335.02	692.28	104.51	76.23	8819.74	
۲	تعداد کل ویبریوها CFU/ml	میانگین	1241.90	1022.86	658.57	319.05	27.62	14.76	16125.00	
		± SD [2]	838.73	834.51	545.90	283.41	22.34	12.09	6394.33	
۳	تعداد ویبریوها سوکرز مثبت CFU/ml	میانگین	934.44	773.33	438.67	267.83	19.44	13.89	12308.33	
		± SD [2]	568.68	558.24	341.63	243.64	15.23	10.92	5115.12	
۴	تعداد ویبریوها سوکرز منفی CFU/ml	میانگین	408.10	338.57	270.19	83.38	10.33	2.38	3816.67	
		± SD [2]	416.40	332.19	233.05	68.27	10.09	5.39	2121.25	
۵	دمای محیطی °C	میانگین	36.67	36.67	36.67	36.67	36.67	36.67	36.67	
		± SD [2]	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	2.28	
۶	دمای آب °C	میانگین	33.00	35.71	32.14	32.14	32.14	32.14	35.25	
		± SD [2]	4.62	3.86	4.82	4.82	4.82	4.82	1.54	
۷	شوری ppt	میانگین	40.00	40.17	40.17	40.17	40.17	40.17	41.00	
		± SD [2]	0.00	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.00	
۸	pH	میانگین	7.93	7.93	7.93	7.93	7.93	7.93	8.15	
		± SD [2]	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.05	
۹	اکسیژن محلول mg/l	میانگین	4.92	4.27	4.27	4.18	4.18	4.18	4.81	
		± SD [2]	0.09	0.38	0.38	0.23	0.23	0.23	0.31	

۱) میانگین حاصل از هفت نوبت نمونه برداری که هر نوبت نمونه برداری دارای سه نمونه (سه تکرار) بوده است بعبارت صحیح تر میانگین ۲۱ نمونه.

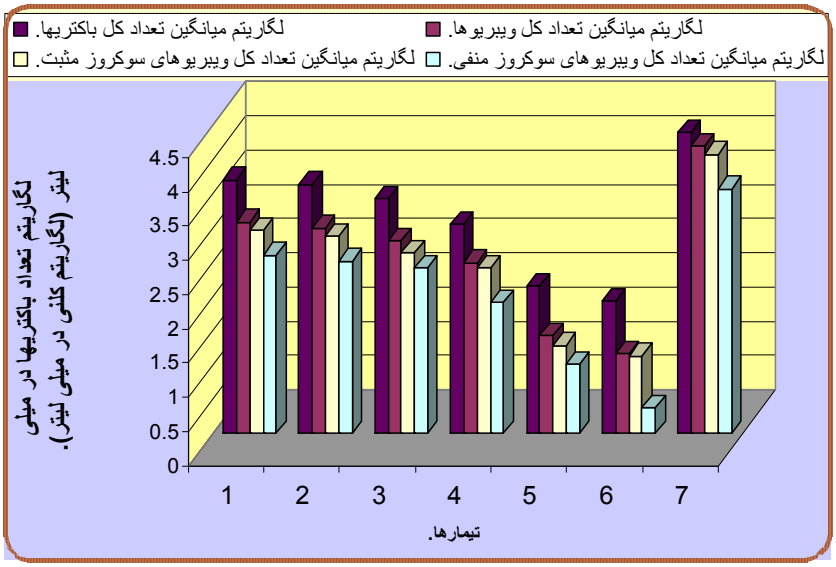
2) SD: Standard deviation.

جهت تفسیر بهتر نتایج حاصل از کل پروژه نمودارهای شماره ۱-۳ و ۲-۳ ارائه شده اند. نمودار ۲-۳ همان اعداد و ارقام و تیمارهایی، را نشان می دهد که در نمودار ۱-۳ ارائه شده اند اما در مقیاس لگاریتمی. استفاده از لگاریتم مخصوصا در طی بررسی تاثیر عوامل ضد میکروبی به تفسیر بهتر نتایج کمک می نماید.

نمودار ۱-۳ تعداد کل باکتریها، تعداد کل ویبریوها، تعداد کل ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز و سوکروز منفی را در تیمارهای مختلف نشان می دهد. نتایج این نمودار حاصل از دادهایی است که در کل طول پروژه به دست آمده است. این نمودار نشان می دهد که با جمع بندی همۀ تیمارها (نتایج) میتوان نتیجه گرفت که تعداد ویبریوهای تخمیری و سوکروز منفی تابعی از تعداد کل ویبریوها و تعداد کل ویبریوها تابعی از تعداد کل باکتریها است. از سوی دیگر مشخص می شود که سرجمع، تعداد کل باکتریها و تعداد کل ویبریوها از تیمار شماره ۱ تا ۶ روندی نزولی داشته است. با بررسی این نمودار مشخص می شود که تاثیر استخر آرامش و فیلتر شنی بر کاهش تعداد باکتریها اندک اما تاثیر کلر و پرتوی فرابنفش زیاد بوده است و بالاخره مشخص میشود که به کارگیری همزمان کلر و پرتو فرابنفش به شدت بر تعداد باکتریها اثر می گذارد و آنها را کاهش می دهد. اما در تیمار شماره ۷ تعداد کل باکتریها و در نتیجه، تعداد کل ویبریوها به صورت ناگهانی افزایش نشان می دهد. به طور مثال میانگین کل باکتریها از ۵۱۸۷ عدد در هر میلی لیتر به ۲۵۸۳۳ عدد در هر میلی لیتر میرسد و عملاً ۵ برابر می شود. که علل احتمالی آن در قسمت بحث مورد بررسی قرار گرفته است.



نمودار شماره ۱-۳: مقایسه میانگین تعداد کل باکتریها و گروههای مختلف باکتریها در تیمارهای مختلف در کل دوره آزمون (تیمار۱=آب دریا، تیمار ۲=آب استخر آرامش، تیمار۳=آب بعد از فیلتر شنی، تیمار ۴=آب بعد فیلتر شنی و UV، تیمار ۵=آب بعد فیلتر شنی و کلرزنی، تیمار ۶=آب بعد فیلتر شنی- کلرزنی و UV ، تیمار ۷= آب تانکهای میگو)، هر ستون نماینده میانگین تعداد باکتریها در ۲۱ نمونه است.



نمودار شماره ۲-۳: مقایسه لگاریتم میانگین تعداد کل باکتریها و گروههای مختلف باکتریها در تیمارهای مختلف در کل دوره آزمون (تیمار۱=آب دریا، تیمار ۲=آب استخر آرامش، تیمار۳=آب بعد از فیلتر شنی، تیمار ۴=آب بعد فیلتر شنی و UV، تیمار ۵=آب بعد فیلتر شنی و کلرزنی، تیمار ۶=آب بعد فیلتر شنی- کلرزنی و UV ، تیمار ۷= آب تانکهای میگو)، هر ستون نماینده میانگین تعداد باکتریها در ۲۱ نمونه است.

۲-۳- نتایج حاصل از شناسایی جنس و گونه ویبریوها :

در جدول شماره ۲-۳ نتایج حاصل از شناسایی ویبریوها جداسازی شده آورده شده است. در طی این پروژه جمعا ۱۲۳ کلنی مربوط به ویبریوها که بر روی محیط TCBS رشد یافته بودند و شامل ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز و ویبریوهای سوکروز منفی بودند مورد آزمایش قرار گرفتند، تا جنس آنها تایید و گونه آنها شناسایی شود. بر این اساس ۱۶ گونه ویبریوی مختلف شناسایی و معرفی شدند که فراوانی هر گونه به طور مجزا در جدول مذکور آورده شده است. فراوانترین گونهٔ شناسایی شده ویبریو ناتریجنس بود و ویبریو کامپبلی، و.نرئیس، و. پروتئولیتیکوس و و.اسپلندیدوس جز گونه های نادر بودند. حدود ۲۰% از کل کلنی ها یعنی ۲۴ کلنی از ۱۲۳ کلنی ویبریو جز گونه های مشکوک (شناسایی نشده) تلقی شدند. این کلنی ها به عنوان گونه هایی از باکتریهای متعلق به جنس ویبریو (*Vibrio Spp.*) معرفی شدند، ولی علی رغم انجام آزمون ها، امکان شناسایی آنها در حد گونه میسر نشد و ظاهراً برای شناسایی آنها نیاز به امکانات وسیع تری بود. لذا تنها به عنوان گونه ای از جنس ویبریو معرفی شدند.

جدول شماره ۲-۳: جنس و گونه ویبریوهای شناسایی شده.

ردیف	نام باکتری	تعداد کلنی شناسایی شده	در صد کلنی هر باکتری به کل کلنیهای شناسایی شده (درصد فراوانی).
۱	*Vibrio alginolyticus*	4	3.3
۲	*V. costicola*	4	3.3
۳	*V. fischeri*	4	3.3
۴	*V. fluvialis I*	5	4.1
۵	*V. fluvialis II*	3	2.4
۶	*V. harveyi*	3	2.4
۷	*V. natriegens*	48	39.0
۸	*V. nigripulchritudo*	4	3.3
۹	*V. parahaemolyticus*	3	2.4
۱۰	*V. plagius I*	3	2.4
۱۱	*V. vulnificus*	12	9.8
۱۲	*V. anguilarum I*	2	1.6
۱۳	*V. campbellii*	1	0.8
۱۴	*V. nereis*	1	0.8
۱۵	*V. proteolyticus*	1	0.8
۱۶	*V. splendidus*	1	0.8
۱۷	Unknown *Vibrio spp.*	24	19.5
	جمع کل:	123	100

۳-۳- بررسی آماری تراکم تعداد ویبریوها در مقایسه با سایر باکتریهای آب دریا:

یکی از یافته های جنبی این پروژه آن بود که درصد تراکم ویبریوها نسبت به تعداد کل باکتریهای موجود در آب دریا مشخص شد. با بررسی ۲۱ نمونه (۷ نوبت آزمایش ۳ تکراره) که در زمان اجرای پروژه بعمل آمد مشخص شد که تعداد کل ویبریوها و تعداد کل باکتریهای هتروتروف هوازی در آب دریا بترتیب ۸۳۸±۱۲۴۱

و ۲۱۳۷±۵۱۸۷ عدد در هر میلی لیتر بود بنابراین می توان چنین نتیجه گیری نمود که قریب ۲۴% کل باکتریهای آب دریا ویبریوها هستند. البته این مقدار بطور میانگین است و می تواند از دیدگاه آماری بین ۶% تا ۶۸% در تغییر باشد از نظر عملی و با بررسی داده های حاصل از پروژه و مقایسه تک تک داده ها نیز مشخص شد که این مقدار بین ۴.۹% تا ۵۲% در تغییر بوده است.

۴-۳-نتایج حاصل از شناسایی کل باکتریها :

یکی از اهداف پروژه شمارش کل باکتریها در نمونه ها و تیمارهای مختلف بود تا از طریق آن مقایسه بین عملکرد روش های مختلف تصفیه آب صورت پذیرد. بر این اساس شمارش تعداد کل باکتریها در نمونه ها و تیمارهای مختلف انجام شد و نتایج حاصل از شمارش ها پیش تر ارائه شد. در ادامهٔ اجرای پروژه سعی گردید تا نه تنها باکتریهای رشد یافته بر روی محیط TCBS بلکه باکتریهای رشد یافته بر روی محیط TSA نیز شناسایی شوند. لذا در این قسمت، نتایج حاصل از شناسایی کل باکتریها ارائه می گردد. همانطور که اشاره شد این باکتریها بر روی محیط TSA رشد یافته بودند و جز باکتریهایی محسوب می شدند که در شمارش کل منظور شده بودند.

جهت شناسایی آنها تلاش بسیار وافری به عمل آمد چون طیف وسیعی از باکتریها (جنس ها و گونه های مختلف) را شامل می شدند. در کل ۹۶ کلنی مورد بررسی و شناسایی واقع شد. باکتریهای شناسایی شده متعلق به خانواده ها و جنس های متفاوتی بودندکه بعضا هیچ گونه قرابتی با یکدیگر نداشتند. بنابراین انجام آزمونهای متعددی برای شناسایی آنها ضروری بود.

اسامی جنس این باکتریها در جدول شماره ۳-۳ آورده شده است. همچنین درصد فراوانی هر گونه در این جدول منظور شده است حدود ۲۸% از باکتریهای رشد یافته بر روی محیط TSA متعلق به خانواده ویبریو ناسه بودند و حدود ۳۰% از کلنی ها شناسایی نشدند چرا که تعیین جنس و گونه این باکتریها با امکانات متداول آزمایشگاهی و تست های معمول و رایج امکان پذیر نبود. در کل مشخص گردید که باکتریهای موجود در آب دریا طیف وسیعی از باکتریها را در بر میگیرند که گونه های بسیار متعددی را شامل می شوند. اما رایج ترین باکتریهای آب دریا در حقیقت متعلق به خانواده ویبریوناسه ها است.

جدول شماره ۳-۳: جنس و گونه باکتریهای شناسایی شده پس از فرآیند شمارش کل باکتریها.

ردیف	نام باکتری (جنس)	تعداد کلنی شناسایی شده	در صد کلنی هر باکتری به کل کلنیهای شناسایی شده (فراوانی).
۱	*Acinetobacter spp.*	3	3.13
۲	*Aeromonas spp.*	4	4.17
۳	*Alcaligenes spp.*	3	3.13
۴	*Bacillus spp.*	7	7.29
۵	*Borkholderia sp.*	1	1.04
۶	*Enteroacteriacea spp.*	2	2.08
۷	*Flavobacterium sp.*	1	1.04
۸	*Micococcus spp.*	2	2.08
۹	*Proteus spp.*	2	2.08
۱۰	*Pseudomonas spp.*	7	7.29
۱۱	*Serratia spp.*	2	2.08
۱۲	*Staphylococcus spp.*	3	3.13
۱۳	*Streptococcus spp.*	3	3.13
۱۴	*Vibrio spp.*	27	28.13
۱۵	Unknown	29	30.21

جمع کل:	96	100

۵-۳-مقایسه های آماری نتایج:

مقایسه آماری داده های حاصل از پروژه به کمک نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون یکطرفه ANOVA انجام شد. نتایج نهایی حاصل از این مقایسه در ادامه و بصورت جدول اراه شده است. در جداول ۴-۳ تا ۱۲-۳ ، مقایسه آماری فاکتورهای مختلف شامل تعداد کل باکتریها، تعداد کل ویبریوها، تعداد ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز، تعداد ویبریوهای سوکروز منفی، دمای محیط، دمای آب، شوری، pH و اکسیژن محلول با تیمار شاهد (آب دریا) آورده شده است و میزان معنی دار بودن رابطه تیمارها ((Significance (sig.) به طور دقیق ذکر شده است. اگر داده های حاصل از دو تیمار دال بر شباهت دو تیمار با یکدیگر باشد عدد ستون (sig) بیش از ۰.۹۵ است. هر چقدر این عدد به۱ نزدیک شود دال بر شباهت بیشتر دو تیمار است ولی اگر دو تیمار با یکدیگر تفاوت داشته باشند این عدد کمتر از ۰.۹۵ است و اگر مقدار آن ۰.۰۵ و یا کمتر باشد تفاوت دو تیمار غیر قابل اغماض است.

جدول ۴-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر تعداد کل باکتریها (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	تعداد کل باکتریها	۰.۹۸۱
	آب فیلتر شنی	تعداد کل باکتریها	۰.۰۹۴

	آب پرتو گرفته (UV)	تعداد کل باکتریها	۰.۰۰۰
	آب کلرینه شده	تعداد کل باکتریها	۰.۰۰۰
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	تعداد کل باکتریها	۰.۰۰۰
	آب تانکهای میگو	تعداد کل باکتریها	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۵-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر تعداد کل ویبریوها (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	تعداد کل ویبریوها	۱.۰۰۰
	آب فیلتر شنی	تعداد کل ویبریوها	۰.۹۵۸
	آب پرتو گرفته (UV)	تعداد کل ویبریوها	۰.۷۱۲
	آب کلرینه شده	تعداد کل ویبریوها	۰.۳۸۷
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	تعداد کل ویبریوها	۰.۳۷۳
	آب تانکهای میگو	تعداد کل ویبریوها	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۶-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر تعداد کل ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۱.۰۰
	آب فیلتر شنی	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۰.۹۶۵
	آب پرتو گرفته (UV)	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۰.۸۶۵

	آب کلرینه شده	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۰.۵۹۲
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۰.۵۸۵
	آب تانکهای میگو	ویبریوهای تخمیر کننده سوکروز	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۷-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر تعداد کل ویبریوهای سوکروز منفی (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	ویبریوهای سوکروز منفی	۱.۰۰۰
	آب فیلتر شنی	ویبریوهای سوکروز منفی	۰.۹۹۴
	آب پرتو گرفته (UV)	ویبریوهای سوکروز منفی	۰.۶۸۰
	آب کلرینه شده	ویبریوهای سوکروز منفی	۰.۴۳۷
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	ویبریوهای سوکروز منفی	۰.۴۱۲
	آب تانکهای میگو	ویبریوهای سوکروز منفی	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۸-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر دمای محیطی (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	دمای محیط	۱.۰۰۰
	آب فیلتر شنی	دمای محیط	۱.۰۰۰
	آب پرتو گرفته (UV)	دمای محیط	۱.۰۰۰
	آب کلرینه شده	دمای محیط	۱.۰۰۰
	تیماری که کلر و پرتو	دمای محیط	۱.۰۰۰

	فرابنفش گرفته		
	آب تانکهای میگو	دمای محیط	۱.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۹-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر دمای آب (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	دمای آب	۰.۴۳۳
	آب فیلتر شنی	دمای آب	۰.۹۹۶
	آب پرتو گرفته (UV)	دمای آب	۰.۹۹۶
	آب کلرینه شده	دمای آب	۰.۹۹۶
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	دمای آب	۰.۹۹۶
	آب تانکهای میگو	دمای آب	۰.۸۰۶

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۱۰-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از شوری (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	شوری	۰.۰۹۹
	آب فیلتر شنی	شوری	۰.۰۹۹
	آب پرتو گرفته (UV)	شوری	۰.۰۹۹
	آب کلرینه شده	شوری	۰.۰۹۹
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	شوری	۰.۰۹۹
	آب تانکهای میگو	شوری	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۱۱-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر pH (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	pH	۱.۰۰۰
	آب فیلتر شنی	pH	۱.۰۰۰
	آب پرتو گرفته (UV)	pH	۱.۰۰۰
	آب کلرینه شده	pH	۱.۰۰۰
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	pH	۱.۰۰۰
	آب تانکهای میگو	pH	۰.۰۰۰

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

جدول ۱۲-۳ : مقایسه آماری تیمارهای مختلف با آب دریا از نظر اکسیژن محلول (بروش Anova یکطرفه).

تیمار شاهد	تیمار آزمون	عامل متغیر	Sig.*
آب دریا	آب استخر آرامش	اکسیژن محلول	۰.۰۰۰
	آب فیلتر شنی	اکسیژن محلول	۰.۰۰۰
	آب پرتو گرفته (UV)	اکسیژن محلول	۰.۰۰۰
	آب کلرینه شده	اکسیژن محلول	۰.۰۰۰
	تیماری که کلر و پرتو فرابنفش گرفته	اکسیژن محلول	۰.۰۰۰
	آب تانکهای میگو	اکسیژن محلول	۰.۹۱۴

* مقدار .Sig کمتر از ۰.۹۵ دال بر آن است که تفاوت معنی داری بین دو تیمار وجود دارد.

فصل چهارم
"بحث و نتیجه گیری نهایی"

۴-بحث و نتیجه گیری (فصل پنجم بحث و نتیجه گیری):

در این مطالعه در هر تیمار اثر یک عامل (مثلا تاثیر پرتو فرابنفش) مورد بحث و بررسی قرار گرفت لذا نتایج حاصل از بررسی هر عامل (فاکتور) مستقلا ذکر شده است. همچنین، در این فصل داده های مربوط به هر تیمار با سایر تیمارها مقایسه شده است، برای این منظور داده ها ی پروژه ابتدا در برنامه MS-Excel ذخیره سازی شد و بررسی های اولیه آماری مثل میانگین گیری و تهیه نمودارها به کمک آن انجام گردید. بررسی های دقیقتر آماری به کمک نرم افزار SPSS صورت گرفت. نتایج حاصل از بررسی آماری داده ها در جداول ۴-۳ تا ۳-۱۲ فصل قبل آورده شده است. در ادامه دست آورد حاصل از اجرای کل پروژه به بحث گذاشته شده است.

۱-۴-نتیجه گیری از بررسی تعداد کل باکتریها در تیمارها:

بر اساس یافته های مذکور مشخص گردید که میانگین تعداد کل باکتریها در طول اجرای پروژه (۷ نوبت آزمایش ۳ تکراری- جمعاً ۲۱ نمونه) برابر با ۵۱۸۷ باکتری در هر میلیمتر آب دریا بوده است این در حالی

بود که این تعداد در آب استخر آرامش ۴۴۴۹ عدد در میلیمتر بود. با بررسی نتایج به دست آمده مشخص شد که تعداد باکتریها در آب استخر آرامش ۷۳۸ عدد در میلی متر کمتر از آب دریا بوده است به عبارتی دیگر ذخیره سازی آب دریا در استخر آرامش کلاً سبب کاهش ۱۴درصدی در تعداد کل باکتریها شده بود. هر چند که افت تعداد باکتریها توسط آن چندان رضایت بخش نبود اما بنظر می آید نقش استخر آرامش مثبت چون به هر حال از تعداد باکتریها کاسته بود. بررسی دقیقتر داده ها نشان داد نمونه های معدودی از آب استخر آرامش وجود داشتند که تعداد کل باکتری های آنها بیش از تعداد کل باکتریها آب دریا بود اما به کمک میانگین گیری مشخص گردید که در کل میانگین تعداد کل باکتریها در آب استخر آرامش کمتر از آب دریا بوده است. شاید یکی از دلایلی که برای آن بتوان ذکر کرد آن باشد که در آب استخر آرامش به دلیل سکون آب، تابش مستقیم نور خورشید و تغییرات دمایی و همچنین رسوب یافتن ذرات معلق و مواد آلی و حتی رسوب برخی از باکتریها، تعدا باکتریها در مقایسه با آب دریا اندکی (۱۴٪) کمتر بوده است. اما مهم آن است که علی رغم کاهش ۱۴٪ در کل تعداد باکتریها، با بررسی آماری داده ها مشخص شد که آب دریا با آب استخر آرامش تفاوت معنی داری ($P< 0.05$) از نظر تعداد کل باکتریها نداشته است.

بررسی آماری داده ها که به کمک نرم افزار SPSS و روش آنوای یک طرفه (ANOVA) انجام شد نشان داد که آب دریا با استخر آرامش از نظر تعداد کل باکتریها تفاوت چشمگیری نداشته و بین این دو تیمار از نظر تعداد کل باکتریها تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P<0.05$). در حقیقت از دیدگاه آماری نمونه آب استخر آرامش با آب

دریا یکسان طلقی شد. البته همانگونه که ذکر گردید میزان کل باکتریهای آب استخر آرامش معادل ۸۶% از کل باکتریهای آب دریا بود اما این کاهش سبب ایجاد تفاوت معنی داری بین این دو تیمار نمی شد. این موضوع از دیدگاه علمی نیز قابل استناد بود چرا که در استخر آرامش هیچگونه فرآیند ضد عفونی و پالایش انجام نمی شد و تنها بدلیل سکون آب مقداری اندکی از ذرات معلق ته نشین می شدند. در طی این مطالعه آب دریا بعنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد و سایر تیمارها با آن مقایسه می شد اما بعد از بررسیهای آماری و بدلیل عدم تفاوت معنی دار تیمار شاهد با آب استخر آرامش تصمیم بر آن شد تا آب استخر آرامش بعنوان شاهد دوم انتخاب شود. بر این اساس جهت ارائه مقایسه ها و نمودارها تصمیم بر آن شد تا تمامی تیمارها مورد آزمون، با دو تیمار (آب دریا و آب استخر آرامش) قیاس شود. بطور مثال در برخی از نمودارهای فصل قبل تعداد باکتریها در هر تیمار با تیمار شاهد (آب دریا – بعنوان شاهد اصلی) و آب استخر آرامش مورد مقایسه قرار گرفت.

با بررسی سایر تیمار ها از نظر تعداد کل باکتریها با آب دریا (جدول ۸ فصل ۳) مشخص گردید که تعداد کل باکتریها در آب فیلتر شده (با فیلتر شنی)، آب پرتو دهی شده (با اشعه فرابنفش UV)، آب کلرزده (۱۰ ppt هیپو کلریت کلسیم) و آبی که همزمان تحت تاثیر اشعه فرابنفش (UV) و کلر قرار گرفته بود به ترتیب ۲۷۸۲، ۱۱۶۴، ۱۴۳ و ۸۷ عدد در میلی متر بود به عبارت دیگر تیمارهای مذکور به ترتیب سبب ۴۶، ۷۷، ۹۷ و ۹۸ درصد کاهش در تعداد کل باکتریهای آب دریا شدند. بنابراین فی ما بین هر یک از تیمارهای مذکور با آب

دریا تفاوت معنی داری وجود داشت ($P<0.05$). ضمنا با بررسی داده ها مشخص شد که سه تیماری که بیشترین تاثیر را بر کاهش تعداد باکتریها داشتند به ترتیب اولویت عبارت بود از :

۱-تیماری که در آن به طور همزمان از دو فرآیند پرتو دهی و کلر زنی استفاده شده بود.

۲-تیماری که از کلر به عنوان عامل ضدعفونی کننده استفاده شده بود.

۳-تیماری که از پرتو فرابنفش به عنوان عامل ضدعفوتی کننده استفاده شده بود.

در کل چنین می توان نتیجه گیری نمود که فیلتر شنی، کلر، اشعه فرابنفش و کاربرد توام کلر و اشعه فرابنفش بترتیب سبب شد تنها ۵۴، ۲۳، ۳ و ۲ درصد از باکتریها زنده باقی بمانند و بقیه از سیستم حذف شدند.

مقایسه آب تانک ها حاوی میگو با سایر تیمارها نشان داد که آب این تیمار نه تنها با آب تصفیه شده تفاوت چشمگیری دارد بلکه تعداد باکتریهای آن به مراتب بیش از آب دریا است. لذا چنین بنظر می رسید که شرایط محیطی تانکهای پرورش میگو جهت رشد و تکثیر باکتریها مناسب است چرا که میانگین تعداد کل باکتریها در آب تانکهای میگو ۲۵۸۳۳ عدد در میلی متر بود که مقایسه این عدد با آب دریا نشان می دهد تعداد کل باکتریها در آب تانک های حاوی میگو تقریبا ۵ برابر بیش از آب دریا و ۲۹۶ برابر بیش از تیماری بود که به کمک کلر و پرتو فرابنفش ضد عفونی شده بود. این تفاوت حداقل به سه دلیل بدیهی و قابل توجیه بود:

۱- اولاً میگو در دستگاه گوارش خود باکتریها را نگه داری می کند. همچنین مواد دفعی میگو که تعداد فراوانی باکتری و مواد آلی دارد مستقیما وارد آب

تانک ها می شد لذا میزان مواد آلی تانک ها زیاد بود که این خود سبب رشد باکتریها می شد.

۲- غذای میگو به جهت تغذیه میگوها به تانکها افزوده می شد این امر سبب افزایش تراکم انواع مواد آلی مثل پروتئین، چربی و قندها در آب تانکها می شد بنابراین بسیار بدیهی است در آب چنین تانکهایی تراکم باکتریها بسرعت افزایش یابد. بسیار بدیهی است که باقیمانده های غذایی سبب تسهیل رشد باکتریها می شد. بطور مثال تاکار ۲۰۰۳، که تحقیقاتی در خصوص پرورش میگو در سیستم مدار بسته شده انجام داده است. اظهار می‌دارد که غذاي میگو سبب افزایش نیتروژن و فسفر آب می‌شود (Thakur,2003).

۳- تعداد باکتریها در آب تصفیه شده ای که به تانکها افزوده می شد به صفر نمی رسید بنابراین تعداد اندکی از باکتریها از طریق آب تصفیه شده و در هنگام آبگیری و یا تعویض آب وارد تانک های میگو می شد. این باکتریها در نتیجه وجود مواد آلی به سرعت رشد نموده و بر جمعیت آنها افزوده می شد. در هر حال مقایسه آماری آب تانک های حاوی میگو با سایر تیمارها تفاوت معنی داری وجود داشت ($P<0.05$). این تفاوت از نظر عددی بسیار واضح بود و نشان می داد که تعداد باکتریها در آب تانکهای میگو بیش از سایر تیمارها است و با کلیه تیمارها تفاوت معنی داری ($P<0.05$) داشته است.

۲-۴-تاثیر فیلتر شنی:

بررسی ها نشان داد تیماری که آب آن از فیلتر شنی عبور داده شده بود با آب دریا تفاوت داشت، این موضوع در ۷ نوبت نمونه برداری (هر نوبت ۳ تکرار) قابل اثبات و استناد بود. میانگین تعداد کل باکتریها در آب دریا و در آب فیلتر شنی بترتیب معادل ۵۱۸۷ و ۲۷۸۲ سلول در میلی لیتر و میانگین تعداد کل ویبریوهای آنها بترتیب معادل ۱۲۴۱ و ۶۵۸ عدد در هر میلی لیتر بود. تفاوت دو تیمار مذکور از نظر تعداد کل باکتریها و تعداد کل ویبریوها و از دیدگاه آماری نیز معنی دار ($P<0.05$) بود (جداول ۴-۱۱ و ۴-۱۲ فصل قبل). بنابراین چنین می توان استنباط نمود که نقش فیلتر شنی مثبت و سبب کاهش بار باکتریایی آب دریا می شد این نقش غیر قابل اغماض بود یعنی نمی توان نقش فیلتر شنی را نادیده گرفت و آنرا از سیستم حذف نمود. چرا که فیلتر شنی باعث شده بود تعداد کل باکتریها از ۵۱۸۷ عدد در هر میلی لیتر به ۲۷۸۲ عدد در هر میلی لیتر کاهش یابد بعبارت دیگر فیلتر شنی مذکور ۴۶% از جمعیت باکتریایی را کاسته بود و تعداد باکتریها را تقریبا به نصف تقلیل داده بود. اگر کاهش باکتریها را در مقیاس لگاریتمی مورد ارزیابی قرار دهیم جمعیت باکتریایی توسط فیلتر شنی بمیزان ۰.۲۷ لوگ کاهش یافته بود. هر چند که کاهش تعداد باکتریها توسط فیلتر شنی بسیار چشمگیر می نمود اما آب فیلتر شده توسط آن، هنوز با شرایط مطلوب مورد نظر و قابل انتظار فاصله بسیار داشت. بنابراین بسیار بدیهی بود که فیلتر شنی به تنهایی و بمنظور کاهش جمعیت باکتریها نتیجه رضایت بخش نداشت هر چند بکارگیری آن کاملا ضروری و مطلوب بود. نهایتا می توان چنین عنوان نمود که بایستی آب دریا پس

از عبور از فیلتر شنی و کاهش ۴۶% در تراکم باکتریایی آن، توسط سایر روشهای ضد عفونی که موثرترند ضد عفونی گردد.

۳-۴-تاثیر پرتو فرابنفش (UV):

آب پرتو دهی شده با اشعه فرابنفش از نظر تعداد کل باکتریها و همچنین تعداد کل ویبریوها مورد بررسی قرار گرفت و با آب دریا مقایسه شد. بررسی ها نشان داد تیمارهایی که آب آن به کمک اشعه فرابنفش پرتودهی شده بود با آب دریا تفاوت داشت، این تفاوت در ۷ نوبت آزمون انجام شده قابل استناد بود. میانگین تعداد که باکتریها در پرتودهی شده با با اشعه فرابنفش ۱۱۶۴ سلول در میلی لیتر بود، این در حالی بود که تعداد کل باکتریها در آب دریا ۵۱۸۷ سلول در میلی لیتر تعیین شده بود. میانگین تعداد کل ویبریوها در آب پرتودهی شده با اشعه فرابنفش و آب دریا بترتیب معادل ۳۱۹ و ۱۲۴۱ سلول در میلی لیتر بود. تفاوت دو تیمار مذکور از نظر تعداد کل باکتریها و تعداد کل ویبریوها و از دیدگاه آماری معنی دار ($P<0.05$) بود (جداول ۴-۱۱ و ۴-۱۲ فصل قبل). مشخص گردید که پرتو فرابنفش سبب حذف ۷۷ درصد از باکتریهای موجود در آب دریا می شد. چرا که تعداد کل باکتریهای آب دریا از ۵۱۸۷ سلول در میلی لیتر به ۱۱۶۴ سلول در میلی لیتر کاهش یافته بود. اگر کاهش باکتریها را در مقیاس لگاریتمی مورد ارزیابی قرار دهیم مشخص می شود که پرتو فرابنفش سبب شده که ۰.۶۵ لوگ تعداد باکتریها کاهش یابد.

۴-۴-تاثیر کلر:

بررسی ها نشان داد تیماری که به آن کلر زده شده بود با آب دریا تفاوت داشت. این تفاوت هم از نظر تعداد کل باکتریها و هم از نظر تعداد کل ویبریوها معنی دار بود. میانگین تعداد کل باکتریها در آب دریا و در آب کلر زده شده بترتیب معادل ۵۱۸۷ و ۱۴۳ سلول در میلی لیتر و میانگین تعداد کل ویبریوهای آنها بترتیب معادل ۱۲۴۱ و ۲۷ عدد در هر میلی لیتر بود. تفاوت دو تیمار مذکور از نظر کاهش تعداد کل باکتریها و تعداد کل ویبریوها از دیدگاه آماری معنی دار ($P<0.05$) بود. مقایسه دو تیمار مذکور نشان داد که فرآیند کلر زنی نقش موثری بر کاهش تعداد باکتریها داشته بطوری که سبب حذف ۹۷.۲% از جمعیت کل باکتریها و ۹۷.۸% از جمعیت کل ویبریوها شده است. نقش کلر در ضد عفونی آب بسیار چشمگیر بود و بکارگیری آن بمنظور ضد عفونی آب اکیدا توصیه می شود البته لازم است پس از کلر زنی تدابیر لازم بمنظور دفع کلر اضافی و کاهش باقیمانده آن در آب انجام شود چرا که کلر برای آبزیان بشدت سمی است و لازم است قبل از تعویض آب به این نکته توجه شود. بررسی دادها در مقیاس لگاریتمی نشان داد که کلر سبب می شود جمعیت کل باکتریها بمیزان ۱.۵۵ لوگ کاهش یابد. کلر سبب شده بود تا جمعیت کل باکتریها در آب ضد عفونی شده ۳۶ برابر کمتر باشد بطوری که تنها ۲.۷ درصد از باکتریها پس از اعمال فرآیند کلر زنی زنده باقیمانده بودند.

۵-۴-تاثیر توام کلر و پرتو فرابنفش (UV):

مقایسه آماری نتایج حاصل از بررسی تیمار کلر زنی شده، تیمار پرتودهی شده با نور فرابنفش (UV) و

تیماری که همزمان از کلر و پرتو فرابنفش استفاده شده بود هر کدام مستقلا و از نظر تعداد کل باکتریها با تیمار شاهد (آب دریا) تفاوت معنی داری داشتند ($P<0.05$) یعنی کلر، اشعه فرابنفش و تاثیر توام آن دو سبب می شد تا تعداد باکتریها کاهش یابد. بررسی های آماری نشان داد تیماری که تنها تحت فرآیند کلر زنی قرار گرفته بود و تیماری که همزمان از کلر و پرتو فرابنفش استفاده شده بود با هم تفاوت معنی داری نداشتند ($P<0.05$) اما از نظر عددی مشخص شد که تاثیر همزمان کلر و پرتو فرابنفش بیش از تاثیر کلر به تنهایی است حتی از نظر آماری مشخص شد که .Sig آندو با هم تفاوت دارد. اما تیماری که تنها تحت فرآیند پرتودهی با نور فرابنفش (UV) قرار گرفته بود با تیماری که همزمان از کلر و پرتو فرابنفش استفاده شده بود با هم تفاوت معنی داری داشتند ($P<0.05$). نهایتا چنین می توان نتیجه گیری نمود که بهترین حالت برای تصفیه آب استفاده همزمان از پر تو فرابنفش و ماده ضد عفونی کننده کلر است. اما اگر امکان به کارگیری همزمان این دو فرآیند امکان نداشته باشد استفاده از کلر بهترین گزینه خواهد بود. استفاده از پرتو فرابنفش هر چند موثر است اما به اندازه تاثیر توام کلر و اشعه فرابنفش و یا تاثیر کلر به تنهایی نمی باشد. استفاده از پرتو فرابنفش به تنهایی نتیجه ایده آلی نمی دهد. چرا که به کار گیری این اشعه تنها ۷۷٪ از کل باکتریهای آب دریا را از بین می برد و ۲۳٪ از باکتریها در آب دریا زنده باقی می ماندند این در حالی بود که کلر ۹۷٪ از کل باکتریها را از بین می برد و تنها ۳٪ از باکتریها در آب دریا زنده می ماندند و بالاخره تاثیر توام کلر و اشعه فرابنفش به

قدری بود که ۹۸% از کل باکتریها از بین رفته بودند و تنها ۳% از باکتریها در آب دریا زنده باقیمانده بودند. در خصوص تاثیر اشعه فرابنفش به تنهایی باید اذعان نمود تاثیر تنهایی این اشعه رضایت بخش نبود، با توجه به اینکه حجم آب مصرفی در کارگاه های تکثیر میگو زیاد است و تاثیر این اشعه سبب می شد که ۲۳% از باکتریها همچنان در آب زنده بمانند لذا چنین مقداری غیر قابل اغماض بود و به کار گیری اشعه UV به تنهایی نمی توانست رضایت کامل حاصل آورد. در هر حال مقایسه تیمارها نشان داد که تاثیر دو فاکتور کلر و اشعه فرابنفش UV به طور همزمان بهترین نتیجه را می دهد بطوری که تعداد کل باکتریها به میزان ۱.۷۸ لوگ کاهش داشت. بعبارت بهتر تعداد باکتریها در آب دریا که تحت تاثیر دو فرآیند کلرزنی و اشعه فرابنفش بطور همزمان قرار گرفته بود حدود ۶۰ برابر کاهش یافته بود.

۶-۴-مقایسه آب تانکهای حاوی میگو با آب تصفیه شده:

مقایسه آب تانکهای حاوی میگو دال بر افزایش ناگهانی تعداد کل باکتریها و تعداد کل ویبریوها بود. جهت آبگیری یا تعویض چنین تانکهایی از آب تصفیه شده استفاده می شد. اما آزمونها نشان داد تعداد باکتریهای مذکور در آب تانکها بمراتب بیش از آب تصفیه شده است. تعداد کل باکتریها در آب دریا، آب استخر ارامش، آب فیلتر شده (فیلترشنی)، آب پرتو دهی شده با اشعه فرابنفش، آب کلر زده شده و آب تیمار شده به کمک فرآیند توام کلر و اشعه فرابنفش بترتیب معادل ۵۱۸۷، ۴۴۴۹، ۲۷۸۲، ۱۱۶۴، ۱۴۳، ۸۷ سلول در میلی لیتر است حال آنکه تعداد کل باکتریها در آب تانکهای حاوی میگو

۲۵۸۳۳ سلول در میلی لیتر بود. بدین ترتیب نه تنها از دیدگاه آماری بین آب تانکهای پرورش میگو و سایر تیمارها از جمله آب دریا تفاوت معنی داری ($P<0.05$) وجود داشت بلکه این تفاوت از نظر عددی تفاوت بسیار چشمگیری داشت و مشخص شد تعداد کل باکتریها در آب تانکهای میگو بترتیب ۵، ۶، ۹، ۲۲، ۱۸۰ و ۲۹۶ برابر بیش از تیمارهای مذکور بود. این در حالی بود که تعداد باکتریها در آب تانک های حاوی میگو در مقایسه با آب دریا، آب استخر آرامش، آب فیلتر شده (فیلترشنی)، آب پرتو دهی شده با اشعه فرابنفش، آب کلر زده شده و آب تیمار شده به کمک فرآیند توام کلر و اشعه فرابنفش به ترتیب ۰.۶۹ ، ۰.۷۶ ، ۰.۹۶ ، ۱.۳۴ ، ۲.۲۵ و ۲.۴۷ لوگ افزایش نشان می داد. لذا چنین نتیجه گیری شد که عوامل حاکم بر تانکهای حاوی میگو سبب افزایش تراکم باکتریها در آب تصفیه شده می شد.

۷-۴-باکتریهای شناسایی شده:

باکتریهای شناسایی شده در این پروژه بر اساس جداول ۹ و ۱۰ فصل ۴ معرفی شده اند. این مطالعه نشان داد طیف وسیعی از باکتریها در آب دریا وجود دارد. و عمل ضد عفونی با کلر همراه با پرتو فرابنفش این توانایی را داشته است تا ۹۸ درصد از باکتریها را از بین ببرد.

آستین ۱۹۸۱، در طی نمونه برداریهای خود از آب شور و در هچری توانست باکتریهای باسیلوس، اروینیا، میکروکوک و ویبریو را شناسایی نماید (Austin,1981).

همچنین در تحقیقی دیگر از هچری میگو باکتریهای آلکالیجنس، سودوموناس، ائرومونـاس، فلاوباکتر و ویبریو

جداسازی شد (Hameed,1993). در این مطالعه طیف وسیع تری از باکتریها شناسایی شد که باکتریهای فوق الذکر رانیز شامل می شد. بررسی نمونه ها نشان داد که از نمونه آب ضد عفونی شده هیچ یک از باکتریهای مهم بیماریزا برای میگوی پرورشی بوشهر (لیتوپنوس وانامی) همچون ویبریو هاروی و ویبریو آنگوئیلاروم جداسازی نشده.

۵ - پیشنهادات :

۱- آنچه که در خصوص ضد عفونی آب دریا پیشنهاد می گردد آن است که اولا مدیریت و استعمال آب سالم در صنعت تکثیر و پرورش میگو بسیار حیاتی و نکته قابل تامل است. ثانیا آنکه جهت پالایش آب از عوامل باکتریایی از جمله عوامل بیماریزای باکتریایی توصیه می شود از دو روش توام کلر زنی و استعمال اشعه فرابنفش پس از فیلتر شدن آب توسط فیلتر شنی استفاده شود.

۲- اندازه گیری میزان حساسیت میگو در مراحل مختلف لاروی، پست لاروی، جوانی و مولد به مقادیر مختلف مواد

ضد عفونی کننده مثل کلر گازی، هیپو کلریت کلسیم و دی اکسید کلر یکی از تحقیقات کاربردی و ضروری می تواند باشد. ضمنا اندازه گیری غلظتی از مواد ضد عفونی کننده مختلف برای از بین بردن باکتریهای بیماریزای مختلف و حتی برخی ویروسها مثل لکه سفید از جمله تحقیقات پیشنهادی است.

۳ – تکثیر کنندگان و پرورش دهندگان نبایستی تنها به سالم بودن میگوی خود در فاز پرورش قانع باشند چرا که میگوی بخشی از غذای انسانها را تشکیل می دهد و سلامت انسان در گرو سلامت غذای اوست.

قوانین جدید سازمان تجارت جهانی، شامل توسعه و تدوین استانداردهای ملی کشورهای عضو در راستای سلامت و امنیت مواد غذایی، حمایت از حقوق مصرف کنندگان، تسریع در تجارت بین المللی مواد غذایی و بهبود و ارتقاء رشد اقتصادی کشورهاست. از این رو، ایجاد امنیت مواد غذایی و افزایش کیفیت سیستمهای نظارتی موجب بهبود وضعیت مدیریت بهینه تولید (GMP) خواهد شد (مطلبی،۱۳۸۴). لذا نه تنها برای حفظ سلامت میگو بلکه برای حفظ سلامت مصرف کننده و برای توسعه پایدار صنعت میگو شایسته است که کلیه استانداردها و ضوابط بهداشتی از ابتداء تا سر سفره مصرف کننده مورد توجه قرار گیرد که این مهم در اصول HACCP منظور شده است. و نه تنها آب بلکه بایستی خوراک میگو نیز به نحوی باشد که نه تنها سلامت میگو بلکه سلامت مصرف کننده را تضمین نماید. همچنین دست اندرکاران صنعت میگو اعم از تکثیر کننده، پرورش دهنده، تولیدکنندگان خوراک و داروهای میگو و فرآوری کنندگان بایستی بدانند که این مصرف کننده است که با خرید خود از آنها حمایت می نماید و در صورتی که اعتماد

مصرف کننده از بین برود صنعت میگو نیز لطمه خواهد خورد.

۴ - برخی از جلبکهای تک سلولی مضر هستند و حتی با تولید متابولیتهای سمی، محیط را برای سایر آبزیان نامساعد می سازند (Seymour,1980). استفاده از کلر و یا پرتو فرابنفش و یا سایر روشهای ضد عفونی بر کاهش تعداد جلبکها های آب دریا موثر است و می تواند جمعیت آنها را تقلیل دهد. این موضوع می تواند عنوانی برای تحقیقات آتی باشد.

۵ – امروزه محققان در تلاش اند تا پیش بینی وضعیت آب یک اکوسیستم را مدل سازی نمایند تا بتوانند وضعیت آنرا برای ۱ الی ۲ روز بعد پیش بینی نمایند. بدین منظور از حسگرهای مختلف و مدلهای رایانه ای بهره می گیرند (Hatzikos,2008). شاید از این الگو بتوان برای بهره برداری بهینه از آب دریا در مناطق آبزی پروری ایران نیز بهره گرفت.

۶ – طراحی و ساخت دستگاه پرتوفرابنفش در ایران مقدور است لذا می توان براحتی از آن جهت ضد عفونی آب در صنایع مختلف بهره گرفت حتی پیشنهاد می گردد برای بالابردن کارائی، بهتر است که آب مکررا و طی چند نوبت توسط دستگاههای فرابنفش ضد عفونی شود. البته در چنین شرایط لازم است تدابیری جهت برطرف سازی مواد مضر حاصل شده در آب در اثر اشعه اتخاذ شود.

۷- با توجه به اینکه تحقیق نشان داد که گونه غالب از ویبریوهای دریایی باکتری *V.natriegens* است و با توجه به اینکه مهمترین خصوصیت این باکتری در مقایسه با سایر ویبریوها، توانایی تخمیر قند رامنوز است. لذا توصیه می شود اولین قدم جهت شناسایی ویبریوهای جداسازی شده

از آب دریا انجام آزمون تجزیه قند رامنوز باشد، با این عمل در وقت و هزینه صرفه جویی می شود.

۶ - منابع:

- استکی، ع.، غ.ع. اکبرزاده، م. ابراهیمی، ف. سراج، ک. اجلالی، م. سلیمی. ۱۳۸۴. بررسی مستمر اثرات متقابل زیست محیطی ناشی از فعالیت و توسعه پرورش میگو در منطقه تیاب. موسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان. ایران. ۶۴ صفحه.

- افشارنسب، م. ؛ م. سلطانی.، ۱۳۵۶. روشهای تشخیص بیماریهای میگو. وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی، تهران، ایران. ۱۷۵ صفحه.

- امیدی، م. نوری نژاد، ع. آلبوشریف، خ. آیین جمشید، آ. حق شناس، ع.ر. مرزبان. ۱۳۸۳. بررسی اثرات آبزی پروری بر محیط زیست در مناطق حله و مند بوشهر. موسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده میگوی کشور. ایران. ۸۹ صفحه.

- امیدی، م. نوری نژاد، س.، م. میربخش، ب. قائدنیا، آ. نجدیان، ع. آلبوشریف، ف. اسماعیلی، م. سلطانی. ۱۳۸۶. بررسی اثرات زیست محیطی ناشی از فعالیت و توسعه پرورش میگو در مناطق حله و دلوار بوشهر. موسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده میگوی کشور. ایران. ۹۸ صفحه.

- حسن نیا، م.ر.، م. سلطانی، ع. متین فر، س.حسامیان، و. یگانه، م.س. گنجور، ۱۳۸۶. بررسی تاثیر باکتریها (پروبیوتیکها) بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت در مراحل تکثیر و پرورش. موسسه تحقیقات شیلات ایران. تهران. ۸۴ صفحه.

- حسینیان، س.م.، ۱۳۷۷. اصول طراحی تصفیه خانه های فاضلاب شهری و پساب صنعتی. انتشارات آینده سازان، تهران. ۳۵۴ صفحه.

- زمانی، ج.، ر. روستا آزاد،. ۱۳۸۰. بیوتکنولوژی برای مهندسین. انتشارات ارکان، اصفهان، ایران. ۴۹۲ صفحه.

- شریعت پناهی، م. ۱۳۷۱. اصول کیفیت و تصفیه آب و فاضلاب. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۱۹۶ صفحه.

- گنجور، م.س.، ۱۳۷۶. بررسي علل فساد پنير سفيد ايراني و ارائه راه حلهاي عملي در بالابردن كيفيت آن. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم ، ایران.

- گنجور، م.س. ۱۳۸۰ الف. مجموعه روشهای شمارش گروههای مهم میکروبی در نمونه های آب مراکز تکثیر و پرورش. پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران. ۱۲ صفحه.

- گنجور، م.س. ۱۳۸۰ ب. گزارش نهائی ارزیابی و تعیین تراکم ویبریوهای میگوی پرورشی سفید هندی منطقه دلوار - بوشهر. پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران. ۱۶ صفحه.

- گنجور، م.س. ۱۳۸۲. روش عملی شمارش تعداد کل باکتریهای هوازی در نمونه آب دریا و استخر های پرورش میگو. پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران. ۱۰ صفحه.

- گنجور، م.س.، ۱۳۸۳. کنترل بیماری ها در پرورش میگو به وسیله باکتریهای پروبیوتیک. پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران. ۱۴ صفحه.

- گنجور، م.س.، ۱۳۸۶. خلاصه آمار صید و پرورش از سال ۱۹۵۰ الی ۲۰۰۵ مربوط به کل جهان، آسیا و ایران. پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران.

- گنجور، م.س.، ۱۳۸۹ الف. روشهای نوین تشخیص بیماریها در آبزیان. فصلنامه دنیای آبزیان، تهران، ایران. شماره ۱۹، صفحات ۳۶-۴۳.

- گنجور، م.س.، ۱۳۸۹ ب. مروری بر باکتریشناسی آبزیان (کتاب الکترونی). پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران. ۵۵ صفحه.

- گنجور، م.س. ۱۳۹۰ الف. معرفی رایجترین میگوهای پرورشی جهان. فصلنامه دنیای آبزیان، تهران، ایران. شماره ۲۰، صفحات ۳۶-۴۳.

- گنجور، م.س. ۱۳۹۰ ب. تعیین فراوانی گونه ای باکتریهای جنس ویبریو در آب استخرهای پرورش میگوی منطقه دلوار بوشهر. همایش منطقه ای شیلات و علوم آبزیان، بوشهر، ایران.

- مجدی نسب، ف.، ۱۳۷۶. مدیریت بهداشت در استخرهای پرورش میگو. (اثر: پ.کان راچاکول، جی.اف.ترنبال، اس.فونجی، و اسمیت.سی.لیم سوان). شرکت سهامی شیلات ایران، مدیریت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج. ۱۸۰ صفحه.

- مجیدی نسب، ا.، ۱۳۷۷. بیماریهای میگوهای پرورشی. انتشارات نور بخش، تهران، ایران. ۲۰۸ صفحه.

- مخیر، ب. ؛ ز. مخیر.، ۱۳۸۵. کتاب راهنمای بیماری شناسی و روشهای تشخیص بیماریهای میگوهای پنه

اید.(اثر:د. و. لایتنر). انتشارات دانشگاه تهران، ایران. ۵۳۶ صفحه.

- مطلبی مغانجوقی، ع.، و. رضویلر، ح. یزدانپناه، ع.م. حسنی طباطبایی، ف. شجاعی. ۱۳۸۴. بررسی باقیمانده داروها، سموم و آلاینده های زیست محیطی در میگوهای پرورسی ایران در استانهای هرمزگان، بوشهر، تهران و سیستان و بلوچستان. موسسه تحقیقات شیلات ایران. تهران. ۹۴ صفحه.

- ملک زاده، ف.، م.ر. صعودی، ش.ملک زاده،. ۱۳۸۰. بیوتکنولوژی میکروبی.(جلد ۱). انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۵۲۴ صفحه.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران – شماره ۲۳۴۷. روش نمونه برداری آب. چاپ اول.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران – شماره ٤۲۰۷. کیفیت آب-شمارش میکروارگانیسم ها در آب با استفاده از روش کشت-راهنما. ۴۶ صفحه.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران – شماره ۱-۸۹۲۳ . آماده سازي آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت هاي اعشاري براي آزمون هاي میکروبیولوژي- قسمت اول: مقررات کلي براي آماده سازي سوسپانسیون اولیه و رقت هاي اعشاري. چاپ اول. ۷ صفحه.

- نادری نسب، م.، راشد، ط. و ناظم، م.، ۱۳۷۵. باکتریشناسی آزمایشگاهی. انتشارات آستان قدس رضوی، ایران. ۴۶۴ صفحه.

- Arimoto, M., Sato, J., Maruyama, K., Mimura, G., Furusawa, I., 1996. Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). Aquaculture 143, 15–22. (www.elsevier.com/locate/aqua-online).

- Austin, B., D.A. Allen, 1981. MICROBIOLOGY OF LABORATORY-HATCHED BRINE SHRIMP *(ARTEMIA). Aquaculture, 26. pp:* 369-383.

- Bahgat, M., A. Dewedar, and A. Zayed, 1999. SAND-FILTERS USED FOR WASTEWATER TREATMENT: BUILDUP AND DISTRIBUTION OF MICROORGANISMS. Wat. Res. Vol. 33, No. 8, pp. 1949-1955.

- Baron, E. J., L. R. Peterson and S. M. Finegold., 1994. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby-Year Book. 900 pages.

- Benson, H.J., 2002. Microbiological Application – Laboratory Manual in General Microbiology. 8th ed. McGrawHill, USA. 478 pages.

- Bitton, G., 2005. Wastewater Microbiology. 3rd ed. A John Willey and Sons, Inc., Publication. NJ, USA.

- Bomo, A. M., A. Husby, T. K. Stevik, and J. F. Hanssen, 2003. Removal of fish pathogenic bacteria in biological sand filters. Water Research 37, pp:2618–2626.

- Brown, C. and D. J. Russo, 1979. ULTRAVIOLET LIGHT DISINFECTION OF SHELLFISH HATCHERY SEA WATER I. ELIMINATION OF FIVE PATHOGENIC BACTERIA. Aquaculture, 17, pp:17-23.

- Bullock, G.L., Summerfelt, S.T., Noble, A.C., Weber, A.L., Durant, M.D., Hankins, J.A., 1997. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system: I. Effects on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria. Aquaculture 158, 43–55.

- Cabaj, A., R. SOMMER, and D. SCHOENEN, 1996. BIODOSIMETRY: MODEL CALCULATIONS FOR u.v. WATER DISINFECTION DEVICES WITH REGARD TO DOSE DISTRIBUTIONS . *Wat. Res.* Vol. 30, No. 4, pp. 1003-1009.

- Campos, L. C., M.F.J. Su, N.J.D. Graham, and S.R. Smith, 2002. Biomass development in slow sand filters. Water Research 36, 4543–4551.

- Chan, K.-Y., Woo, M.L., Lam, L.Y. & French, G.L., 1989. *Vibrio parahaemolyticus* and other halophilic *Vibrio*s associated with seafood in Hong Kong. *Journal of Applied Bacteriology* 66, 57-64.

- Chang, P.-S., Chen, L.-J., Wang, Y.-C., 1998. The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus. Aquaculture 166, 1 –17.

- Chanratchakool, P., Pearson, M., Limsuwan, C., Roberts, R.J., 1995. Oxytetracycline sensitivity of *Vibrio* species isolated from diseased black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. J. Fish Dis. 18, 79–82.

- Clark, R.B., 1992. Marine Pollution. 3rd ed. Clarendon Press, OXFORD, UK. 172 Pages.

- Clesceri, L.A., A.E. Greenberg, R.R. Trussell., 1989. Standard methods for the examination of water & wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C., USA.

- Collee, J.G., J.P. Duguid, A.G. Fraser, and B.P. Marion., 1989. Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology. 13th ed. CHURCHILL LIVINGSTONE, UK. 910 pages.

- Davis, B.D., R. Dulbecco., H.N. Eisen., H.S. Ginsberg., et al. 1990. Microbioology. 4th ed. J. B. Lippincott Co. 1215 pp.

- Diao, H.F., X.Y. Li, J.D. Gu, H.C. Shi, Z.M. Xie, 2004. Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and Fenton reaction. Process Biochemistry 39, pp:1421–1426.

- Dizer, H., W. Bartochia, H. Bartel, K. Seidel, J. Manual, L. Pila and A. Grohmann, 1993. *Wat. Res.* Vol. 27, No. 3, pp. 397—403.

Egidius, E., 1987. *Vibrio*sis : pathogenicity and pathology. A review. *Aquaculture* 67, 15-28.

- Ellis, K. V., 1987. SLOW SAND FILTRATION AS A TECHNIQUE FOR THE TERTIARY TREATMENT OF MUNICIPAL SEWAGES. *War. Res.* Vol. 21, No. 4, pp. 403-410.

- FAO, 2007. 'FISHSTAT: Aquaculture production (December 2007)'. Data and Statistics Unit, Fisheries Department, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome. (http://www.fao.org/).

- Frerichs, G.N., Tweedie, A., Starkey, W.G., Richards, R.H., 2000. Temperature, pH and electrolyte sensitivity, and heat, UV and disinfectant inactivation of sea bass (Dicentrarchus labrax) neuropathy nodavirus. Aquaculture 185, 13–24.

- Franson, M.N., L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, A.D. Eaton, and et al., 1998. Standard Methods FOR THE Examination of Water and Wastewater. 20th ed. United Book Press, Inc, Baltimore, Maryland, USA. [ISBN: 0-87553-235-7 ; ISSN: 55-1979].

- Gross MJ, Logan BE., 1995. Influence of different chemical treatment on transport of Alcaligenes paradoxus in porous media. Appl Environ Microbiol 61. pp:1750–6.

- Hameed, A.S., 1993. A study of the aerobic heterotrophic bacterial flora of hatchery-reared eggs, larvae and post-larvae of *Penaeus indicus*. Aquaculture 117, 195–204.

- Hatzikos E. V., G. Tsoumakas, G. Tzanis, N. Bassiliades and I. Vlahavas, 2008. An empirical study on sea water quality prediction. Knowledge-Based Systems 21, pp:471–478.

- Hurst, C.J., R.L. Crawford, G.R. Knudsen, M.J. MacInerney, L.D. Stetzenbach, and et al., 2002. MANUAL OF Environmental Microbiology. 2nd ed. ASM Press, USA. 1138 pages. [ISBN: 1-55581-199-X].

- Inouye, K., Ikeya, F., Yamazaki, T., Hara, T., 1990. Virucidal activities of various germicidal to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). Fish Pathol. 25, 81–86.

- Jacobson, P. & Liltved, H. (1988) Thermal disinfection of sea water for aquaculture purpose. *Aquaculture Engineering* 7, 443-447.

- Jorquera, M.A., G. Valencia, M. Eguchi, M. Katayose, and C. Riquelme, 2002. Disinfection of seawater for hatchery aquaculture systems using electrolytic water treatment. Aquaculture 207, pp:213–224.

- Junli, H., W. Li, R. Nenqi, L. X. LI, S. R., Fun and Y., Guanle, 1997. DISINFECTION EFFECT OF CHLORINE DIOXIDE ON VIRUSES, ALGAE AND ANIMAL PLANKTONS IN WATER. *Wat. Res.* Vol. 31, No. 3, pp. 455-460.

- Karunasagar, In., M.M. Shivu, S.K. Girisha, G. Krohne, Id. Karunasagar., 2007. Biocontrol of pathogens in shrimp hatcheries using bacteriophages. Aquaculture 268, pp:288–292.

- Krieg, N.R., J.G. Holt, and et al., 1984. Bergy's manual of systematic bacteriology. 1st ed. Vol: 1. Williams and Wilkins. Baltimore, MD. USA. pp:516-550.

- Lantagne, D. S., 2008. Sodium hypochlorite dosage for household and emergency water treatment. E-Journal AWWA (American Water Works Association), Volume 100, Issue 8. (http://www.awwa.org/ , 2011)

- Lavilla-Pitogo, C.R., Baticados, M.C.L., Cruz-Lacierda, E.R., de la Pena, L.D., 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. Aquaculture 91, 1–13.

- Ledo, A., Gonzales, E., Barja, J.L. & Toranzo, A. E. (1983) Effect of depuration systems on the reduction of bacteriological indicators in cultured mussels (*Mytilus edulis* Linnaeus). *Journal of Shellfish Research* 3, 59-64.

- Lightner, D.V., 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisian, USA.

- Liltved, H., Cripps, S.J., 1999. Removal of particle-associated bacteria by prefiltration and ultraviolet irradiation. Aquacult. Res. 30, 445– 450.

- Martinez-Martinez L, Pascual A, Perea EJ., 1991. Kinetics of adherence of mucoid and non-mucoid Pseudomonas aeruginosa to plastic catheters. J Med Microbiol 34. pp:7–12.

- Mitra, A., K. Banerjee, 2004. Marine Microbiology. Narendra Publishing House (NPH), DELHI, India.

- Munro, P.D., Henderson, R.J., Barbour, A., Birkbeck, T.H., 1999. Partial descontamination of rotifers with ultraviolet radiation: the effect of changes in the internal bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot. Aquaculture 170, 229– 244.

- Murray, P.R., W.L. Drew, G.S. Kobayashi and J.H. Thompson., 1990. Medical Microbiology. The C.V. Mosby Co. 725Pages.

- Pascho, R.J., Landolt, M.L., Ongerth, J.E., 1995. Inactivation of Renibacterium salmoninarum by free chlorine. Aquaculture 131, 165– 175.

- Pasharawipas, T., Thaikua, S., S. Sriurairatana, L. Ruangpang, S. Direkbusarakum, J. Manopvisetecharean, and T.W. Flegel., 2005. Partial characterization of novel bacteriophage of Vibrio harveyi isolated from shrimp culture ponds in Thailand. Virus Research 114, pp:63-69.

- Paul, J.H., 2001. Methods in Microbiology. Vol:30. Academic Press. Kent, UK. 666 pp.

- Prayitno, S.B., Latchford, J.W., 1995. Experimental infections of crustaceans with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*. Effect of salinity and pH on infectiosity. Aquaculture 132, 105–112.

- Prescott, L.M., J.P. Harley, D.A. Clein., 2002. Microbiology. 5th ed. McGraw Hill Co. 1026 Pages.

- Puente, M. E., F. Vega-Villasante, G. Holguin and Y. Bashan., 1992. Susceptibility of the brine shrimp *Artemia* and its pathogen *Vibrio parahaemolyticus* to chlorine dioxide in contaminated sea-water. *Journal of Applied Bacteriology* 73, pp:465-471.

- Ruangpan, L., Kitao, T., 1991. Vibrio bacteria isolated from black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. J. Fish Dis. 14, 383–388.

- Sako, H., Yshida, N., Maeno, Y., Sorimachi, M., 1988. Bactericidal activities of five disinfectants on Aeromonas salmonicida, Vibrio anguillarum, and V. ordalli. Fish Pathol. 23, pp:219–229.

- Singh, S., Ebeling, J., Wheaton, F., 1999. Water quality trials in four recirculating aquacultural system configurations. Aquacult. Eng. 20, 75-84.

- Smith M.S., Thomas GW,White RE, Ritonga D., 1985. Transport of Escherichia coli through intact and disturbed columns. J Environ Qual 14. pp:87–91.

- Summerfelt, S.T., Hankins, J.A., Weber, A.L., Duran, M.D., 1997. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system II. Effects on microscreen filtration and water quality. Aquaculture 158, 57–67.

- Thakur, D.P., and C. K. Lin., Water quality and nutrient budget in closed shrimp (Penaeus monodon) culture systems. Aquacultural Engineering 27, pp:159-176.

- Toranzo, A.E., B. Magarinos, J.L. Romalde., 2005. A review of main bacterial fish disease in mariculture systems. Aquaculture 246, pp:37-61.

- Vandenberghe, J., Y. Li, L. Verdonck, J. Li, P. Sorgeloos, H.S. Xu, J. Swings, 1998. Vibrios associated with *Penaeus chinensis*_Crustacea: Decapoda/ larvae in Chinese shrimp hatcheries. Aquaculture 169. pp:121–132.

- Vanderzant, C., Nickelson, R. & Parker, J.C. (1970) Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from gulf coast shrimp. *Journal of Milk and Food Technology* 33, 161-162.

- Vinod, M.G., M.M. Shivu, K.R. Umesha, B.C. Rajeeva, G. Krohne, In. Karunasagar, and Id. Karunasagar, 2006. Isolation of *Vibrio harveyi* bacteriophage with a potential for biocontrol of luminous vibriosis in hatchery environment. Aquaculture, 255 pp:117-124.

- Whipple, M.J., Rohovec, J.S., 1994. The effects of heat and low pH on selected viral and bacterial fish pathogens. Aquaculture 123, 179–189.

Internet:

www.ardairan.com , 2011

www.fao.org/fishery/topics/16140 , 2009

www.lenntech.com , 2011

www.neospark.com , 2011

Abstract:

The project of "Assessment of different methods of water treatment on decreasing pathogenic bacteria in shrimp hatcheries" achieved by mean of reviewing the effectiveness of various methods on the water treatment to reduce bacterial load of sea water. The project performed in Bandargah region of Bushehr province in order to checking the effect of different methods on the sea water and bacterial population. This project has been done over a year. In this study a total of 138 samples was collected during seven times and was evaluated as well as 7 treatments. In this study, the comparison of the effect of each factors (sand filter, chlorine, ultra violet ray, chlorine combined with ultra violet ray) was analyzed on the sea water by means of disinfection. During this study, other environmental factors such as water temperature, dissolved oxygen, pH and salinity was measured till we can ensure that they don't have any negative impact on the treatments. Results showed that the density of total bacteria in sea water (Control) was averagely 5187 CFU/ml, this was done while the total density of bacteria in the sea water, reservation pool sample, sand filter water, water that irradiated with ultraviolet rays, chlorinated water and the water that was influenced by both chlorine and ultra violet ray was respectively 5187±2137, 4449±2042, 2782±1335, 1164±692, 143±104, 87±76 CFU/ml. Therefore, reservation pool, sand filter, ultra violet ray, chlorine, chlorine-ultra violet ray each of them was reduce respectively 14, 46, 77, 97, 98 percent of the density of total bacteria or in other words they reduced 0.06, 0.27, 0.65, 1.56, 1.77 log of the total population of bacteria in water. Moreover, the results from the total count of *vibrios* showed that reservation pool, sand filter, ultra violet ray, chlorine, chlorine-ultra violet ray each of them was reduce respectively 17, 47, 74, 98, 99 percent of the density of total *vibrios* or in other words they reduced respectively 0.08, 0.27, 0.59, 1.66, and 1.95 log of the total population of *vibrios* in sea water.

Also the bacteria that isolated from each treatment were identified with the use of biochemical methods that totally were includes a wide range of bacteria, the identified vibrios were:

Vibrio alginolyticus, V. costicola, V. fischeri, V. fluvialis I, V. fluvialis II, V. harveyi, V. natriegens, V. nigripulchritudo, V. parahaemolyticus, V. plagius I, V. vulnificus, V. anguilarum I, V. campbellii, V. nereis, V. proteolyticus, V. splendidus, and Unknown V. spp.

Other identified bacteria belonging to the following genus:

Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Bacillus, Borkholderia, Eschricia, Enteroacter, Flavobacterium, Micococcus, Proteus, Pseudomonas, Serratia, Staphaphylococcus, Streptococcus, and Unknown Bacteria spp.

By comparing the results, we concluded that the best result was related to treatment that the sea water had been disinfected after the combined effects of chlorine and ultraviolet ray. It was determined that this process in compared with other treatments, had been reduced the total number of bacteria, the total number of *Vibrios*, the number of sucrose fermentative *vibrios*, and the number of non-sucrose fermentative *vibrios* respectively 98, 99, 98, 99 percent. In other words, the number of bacteria was reduced respectively 1.77, 1.94, 1.82, 2.23 log. So in this study, the applied method was introduced as the most effective way of disinfecting sea water. Meanwhile, none of pathogenic bacteria for shrimp including *Vibrio harveyi* was isolated by using this treatment. Comparing the results showed that the combined effects of chlorine and ultraviolet radiation is the most effective applied method for disinfecting sea water.

M.S. Ganjoor.
2012 A.D.

Key Words:

Shrimp, Water treatment, Sea water, Bacteria, Hatchery