وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان :

مطالعه برخی ازعوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی دربرخی از استانهای کشور

مجری مسئول :
ابوالفضل سپهداری

شماره ثبت
٤٧٥٥٥

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور

عنوان طرح : مطالعه برخی ازعوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی دربرخی از استانهای کشور

شماره مصوب طرح : ۹۰۰۱-۱۲-۱۲۵۲-۱۳٤

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : ابوالفضل سپهداری

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : ابوالفضل سپهداری

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : ابوالفضل سپهداری

نام و نام خانوادگی همکار(ان) : علی اصغر سعیدی – حسین عصائیان – حسن نظام آبادی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : علیرضا باهنر – عیسی شریف پور – مصطفی شریف روحانی – کاظم عبدی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -

محل اجرا : استان مازندران

تاریخ شروع : ۹۰/۳/۱

مدت اجرا : ۲ سال و ٦ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار : سال۱۳۹۵

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح : مطالعه برخی ازعوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی دربرخی از استانهای کشور

کد مصوب : ۹۰۰۱-۱۲-۱۲۵۲-۱۳۴

شماره ثبت (فروست) : ۴۷۵۵۵ تاریخ : ۹۴/۵/۲۷

با مسئولیت اجرایی جناب آقای ابوالفضل سپهداری دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بهداشت و بیماریهای آبزیان می‌باشد.

طرح توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان در تاریخ ۹۴/۵/۷ مورد ارزیابی و رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای طرح ، مجری در :

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- کلیات ۳
۱-۱-ماهی قزل آلای رنگین کمان ۳
۱-۲- میزان تولید ماهی قزل آلا در جهان ، ایران و فارس ۴
۲- مقدمه ۶
۲-۱- عوامل باکتریایی استرپتوکوکوزیس در ماهیان ۶
۲-۲- میزبان های حساس ۷
۲-۳- ویژگی های عامل بیماریزا ۸
۲-۴- علائم کلینیکی و آسیب شناسی ناشی از استرپتوکوکوزیس ۱۰
۲-۵- تلفات و خسارتهای اقتصادی ناشی از استرپتوکوکوزیس ۱۱
۲-۶- تاریخچه استرپتوکوکوزیس در ایران ۱۲
فصل ۱ : مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس
در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در استان فارس ۱۴
فصل ۲ : مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس
در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در شرق استان مازندران (رودخانه هراز) ۵۶
فصل ۳ : مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس
در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در غرب استان مازندران (منطقه تنکابن) ۱۰۲
فصل ۴ : بحث و نتیجه گیری کلی ۱۴۰
پیشنهادها ۱۴۷
چکیده انگلیسی ۱۴۹

چکیده

استرپتوکوکوزیس یک بیماری عفونی باکتریایی است که دراکثر مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی (قزل آلای رنگین کمان) کشور ما مشاهده شده است . این بیماری دارای این قابلیت است که به شکل همه گیر مزارع ماهیان سردابی ما را در اقلیم های مختلف تهدید نماید و خسارتهای اقتصادی زیادی را به صنعت آبزی پروری وارد نماید. در بروز ، گسترش و اپیدمی شدن این بیماری عوامل تاثیر گذاری از جمله : درجه حرارت ، فصول ، سن ، وزن ، نقل انتقال تخم و بچه ماهی ،منابع آب مشترک ، »منابع آب (چشمه ، چاه و رودخانه) و ..... نقش دارند . به منظور شناسایی و تعیین عوامل موثر در اپیدمی شدن بیماری در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی پس از هماهنگی با اداره کل شیلات استانهای مازندران،فارس و وتعاونی ماهیان سردآبی و با هماهنکی اداره کل دامپزشکی آستانهای مذکور و با توجه به طرحهای آماری استاندارد مزارع تکثیر و پرورش این استانها زیر پوشش پروژه قرار گرفت و در یک برنامه زمانی منظم اقدام به ثبت ا طلاعات مربوط به عوامل اپیدمیولوژیک در قالب پرسشنامه و نمونه برداری و ارسال نمونه ها به آزمایشگاه های تخصصی جهت تشخیص شد.کلیه آزمایشات مربوط به جداسازی باکتری استرپتوکوک براساس دستورالعملهای مربوطه و کلیه روش های آزمایشگاهی توصیه شده در مورد باکتری استرپتوکوک در جهت تشخیص استفاده شد.

عملیات اجرایی پروژه در مزارع منتخب در شرق استان مازندران (محدوده رودخانه هراز) توسط پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و باهمکاری اداره کل دامپزشکی استان مازندران از تیر ماه سال ۱۳۹۰ تا مرداد ماه سال ۱۳۹۱ با تلاش وهمکاری صمیمانه به اتمام رسید.

عملیات مشابه از خرداد ماه سال ۱۳۹۰ الی تیر ماه سال ۱۳۹۱ با مجری گری مرکز تحقیقات ماهیان سردابی (تنکابن) و باهمکاری اداره کل دامپزشکی استان مازندران به مرحله اجرا درآمد.

عملیات اجرایی پروژه در استان فارس بواسطه عدم تامین اعتبار در سال ۱۳۹۰ متوقف گردید که با پیگیری ها و هماهنگی های بعمل آمده اعتبار مورد نظردر مهر ماه سال ۱۳۹۱ تامین ونمونه برداری ها از مزارع منتخب از تاریخ مذکور شروع و درمهر ماه شال ۱۳۹۲ به اتمام رسید .

در نگاهی اجمالی به نتایج بدست آمده از اجرای طرح موضوعات ذیل می تواند مورد توجه قرار گیرد :

- ابتلا به بیماری در تمامی دوره های سنی ماهی قزل آلای رنگین کمان مشاهده شده و میزان ابتلا در ماهیان جوان از شدت بالاتری برخوردار است.
- مشاهده بیماری حتی در مزارع سر چشمه که که ورودی آب از مزارع بالا دست ندارند موید امکان انتقال بیماری از طریق ماهیان انتقالی به مزارع ویا منابع دامی و انسانی آلوده باشد .
- گزارش جداسازی استرپتوکوکوک یوبریس برای اولین بار از ماهیان آلوده در استان مازندران (منطقه هراز) ، لزوم تاکید بیشتر بر جابه جایی مسئولانه آبزیان زنده و ایجاد پست های فعال قرنطینه جهت کنترل جابه جایی ها در محدوده مرزهای داخلی راگوشزد می نماید.

- مشاهده علائم بیماری ، بدون امکان جداسازی عوامل باکتریایی بیماری زا ، موئد مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در مزارع پرورشی است. طبعا ارائه آموزش هاو تدوین دستورالعمل های اجرایی لازم در این رابطه جهت جلو گیری از ایجاد سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک و ایجاد باقیمانده های دارویی در محصول نهایی باید مد نظر باشد.

- بروز بیماری در مناطق تحت مطالعه از برخی از عوامل محیطی از جمله : درجه حرارت ، میزان نیتریت ،نیترات و...،تاثیر پذیر بوده و مدیریت عوامل مذکور می تواند در کاهش احتمال بروز بیماری موثر باشد.

- میزان شیوع بیماری و خسارات ناشی از آن در مناطق مورد مطالعه نسبت به سنوات گذشته از کاهش قابل ملاحظه ای برخوردار بوده است. انجام واکسیناسیون در سنوات گذشته ، ارائه خدمات نظارتی و اطلاع رسانی در کنار بومی شدن بیماری از جمله عواملی است که میتواند در روند مذکور موثر بوده باشد.

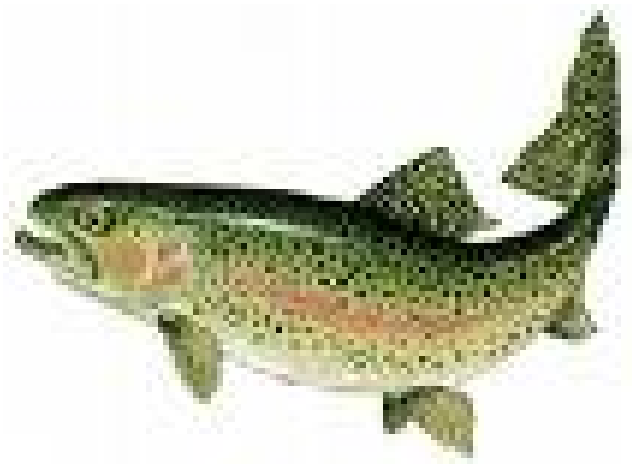
- گزارش بیماری یرسینیوز در برخی از مزارع تحت مطالعه در کنار استرپتوکوکوزیس موید این مطلب است که تقریبا با یک بار مشاهده یرسینیوزیس ، ۲/۱۷ برابر در احتمال وقوع بیماری استرپتوکوکوزیس تغییر ایجاد می شود(استان فارس) .این موضوع اهمییت بالایی داشته و باید با دقت بیشتری مورد مطالعه قرار گیرد.

- برقراری پست های قرنطینه درون مرزی ، پایش مستمر بیماری در مناطق واستانهای مهم پرورش دهنده قزل آلای رنگین کمان ،تدوین مقررات و دستورالعمل های اجرایی بهداشتی ، ارائه آموزش ها و اطلاع رسانی هدفمند ، واکسیناسیون واستفاده بهینه از تقویت کننده های سیستم ایمنی از جمله اقداماتی هستند که در کنار مدیریت بهداشتی مناسب و کنترل عوامل خطر ساز محیطی ، خسارات ناشی از این بیماری را به حد اقل خواهند رساند.

نتایج و دستاوردهای حاصل از ارزیابی های انجام شده به تفکیک مناطق عملیاتی در گزارش حاضر آمده است.

۱ - کلیات

جایگاه قزل الای رنگین کمان در صنعت آبزی پروری جهان و ایران



شکل ۱ : ماهی قزل آلای رنگین کمان

۱-۱-ماهی قزل آلای رنگین کمان

قزل آلای رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* ، ازخانواده Salmonidae و جنس Oncorhynchus است. این ماهی دارای یک نوار پهن به صورت رنگین کمان در هر طرف بدن می باشد. بر روی سر، بدن، پشت، باله چربی و باله دمی این ماهی لکه های تیره رنگ دیده می شوند. این ماهی بومی سواحل غربی شمال آمریکاست و از سال ۱۸۸۰ به سایر نقاط دنیا انتقال یافت. امروزه ماهی قزل آلای رنگین کمان به صورت ماهی شماره یک اکثر کارگاه های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بیشتر نقاط جهان درآمده است. از خصوصیاتی که این ماهی را مورد توجه قرار داده، سازش خوب آن با شرایط پرورش متراکم است از طرف دیگر این ماهی در انتخاب غذا زیاد سخت گیر نیست و به راحتی از غذای دستی مصنوعی استفاده می‌کند و از سرعت رشد خوبی نیز برخوردار می باشد (وثوقی و مستجیر،۱۳۷۹). در برابر تغییرات محیطی نظیر تغییر در مقدار O_2 و CO_2 محلول در آب، آلودگی های کم و درجه حرارت، مقاوم و از سرعت رشد مناسبی برخوردار است ،در دهان این ماهی بر روی فک ها، سقف و زبان، دندان های تیز و به عقب برگشته ای وجود دارد که تنها برای گرفتن و هدایت طعمه به دستگاه گوارش کاربرد دارند (۹۲، ۵۳، ۲۴، ۵).

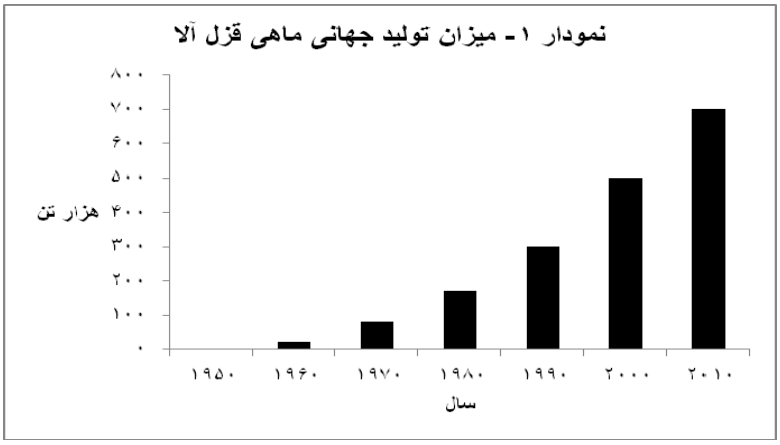
خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب زیستگاه ماهی قزل آلای رنگین کمان :

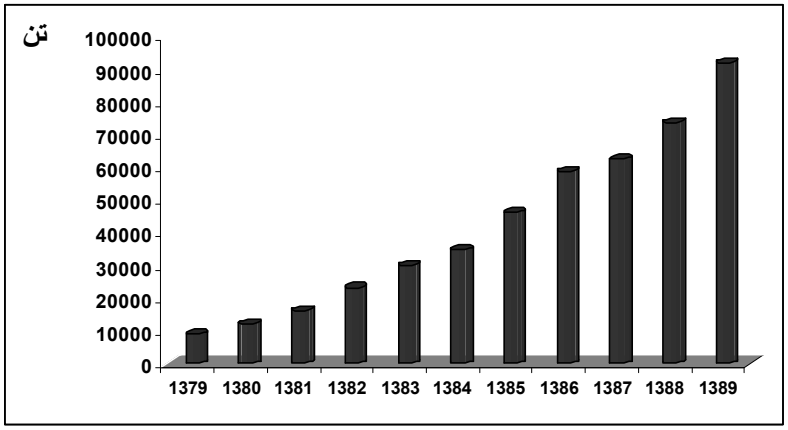
از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب ، برای ماهی قزل آلای رنگین کمان ، مناسب ترین درجه حرارت برای پرورش ، دامنه حرارتی ۱۴ -۱۷ وتخم ریزی دامنه حرارتی ۱۴ – ۹ درجه سانتی گراد ، حداکثر دمای قابل

تحمل برای ماهی قزل آلا حدود ۲۵ درجه سانتی گراد (Klantz,1993,Hvet,1994,) ، فرزانفر ،۱۳۸۴ وعمادی ،۱۳۸۶), حد مطلوب اکسیژن محلول آب در محدوده ۱۱-۹ میلی گرم در لیتر (لاوسون ، ۱۳۸۰), pH مناسب در دامنه ۸-۶/۵ (Robert,2005) , میزان آمونیاک در استخرهای پرورش کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر (Robert,2005)، نیتریت کمتر از ۰/۱ میلی گرم در لیتر (لاوسون ، ۱۳۸۰)، نیترات ۳-۲میلی گرم در لیتر (Robert,2005)، CO_2 محلول در آب بین ۰- ۱۰ میلی گرم در لیتر (Boyd,1982,Slickney, 2005، عمادی، ۱۳۸۶)، قلیائیت تام در حدود ۱۰-۴۰۰ میلی گرم در لیتر، دامنه سختی مناسب ۴۰۰-۱۲۰ میلی گرم در لیتر بر حسب کربنات کلسیم (Slickney, 2005، Robert,2005، فرزانفر، ۱۳۸۴)، درجه شوری حدود ۶-۳ قسمت در هزار(Slickney, 2005، Pillay,2005 ، فرزانفر ، ۱۳۸۴)، سرعت جریان آب در کانال ها ۳-۲ سانتیمتر در ثانیه (Slickney, 2005 ، فرزانفر ، ۱۳۸۴ ، عمادی ، ۱۳۸۶) می باشد.

۲-۱-میزان تولید ماهی قزل آلا در جهان ، ایران و فارس

تولید قزل آلای رنگین کمان بطور تصاعدی از دهه ۱۹۵۰ خصوصا در اروپا و اخیراً در شیلی افزایش داشته است. این مسئله می تواند مربوط به تولید فزاینده این ماهی در آبهای داخلی در کشورهایی مانند فرانسه، ایتالیا، دانمارک، آلمان و اسپانیا، ایالت متحده آمریکا، آلمان، بریتانیا و ایران جهت استفاده در بازارهای محلی و یا پرورش آنها در قفس در نروژ و شیلی برای صادرات باشد. میزان تولید این ماهی در سال ۲۰۱۰ بیش از ۷۰۰ هزارتن بوده است (http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en) (نمودار۱). در صنعت آبزی پروری ایران نیز این ماهی اهمیت به سزایی داشته و طی چند سال گذشته میزان تولید آن از رشد چشمگیری برخوردار بوده است، بطوریکه آمار بدست آمده از سال ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۹ نشان داده است که تولید قزل آلای رنگین کمان در کشور از ۴۹۹۴ تن در سال ۱۳۷۷ به ۹۲۰۰۰ تن در سال ۱۳۸۹ رسیده است و این به معنی یک افزایش ۱۸/۵ برابری تولید طی ۱۲ سال گذشته است (آمار شیلات ایران ۱۳۸۹، ذریه زهرا، ۱۳۸۴)





نمودار ۲ – مقایسه میزان تولید قزل آلای رنگین کمان طی سالهای ۱۳۸۹ – ۱۳۷۷ در کشور

۲- مقدمه

یکی از مهمترین بیماریهای عفونی باکتریایی که بیش از دو دهه موجب بروز خسارات اقتصادی فراوان در صنعت آبزی پروری شده است، عفونتهای استرپتوکوکوسی است که یکی از بیماریهای اصلی سپتسمی دهنده عمده مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بسیاری از کشورهای دنیا و از جمله در ایران معرفی شده است و تخمین زده شده که این بیماری موجب خسارات اقتصادی شدید و جبران ناپذیر (بیش از ۱۵۰ میلیون دلار در سال) در دنیا می گردد(Beack و همکاران ۲۰۰۶، Romald و همکاران ۲۰۰۸،Garcia, *et al.*,2006 ، Shoemaker, *et al.*,2008 و Romalde, *et al.*,2008). این بیماری اولین بار از کشور ژاپن گزارش گردید (Hoshina و همکاران ۱۹۵۸) لیکن بتدریج گزارشات متعددی از بروز آن در کشورهای مختلف مانند: سنگاپور(Foo و همکاران ۱۹۸۵)، آفریقای جنوبی (Bragg و Broere ۱۹۸۶)، استرالیا (Carson و همکاران ۱۹۹۳)، اسپانیا (Toranz و همکاران ۱۹۹۴)، آمریکا (Perera و همکاران ۱۹۹۴)، اسرائیل (Eldar و همکاران ۱۹۹۵)، ایتالیا (Ghittion و همکاران ۱۹۹۵)، فرانسه (Michel و همکاران ۱۹۹۷)، کویت (Evans و همکاران ۲۰۰۲)،کره جنوبی (Beack و همکاران ۲۰۰۶)، برزیل (Filho و همکاران ۲۰۰۹)، ایتالیا (Elder *et al* 1997)، در بین ماهیان Red Sea bream و کفال در کویت (Evans *et al* , 2002)، در ماهیان دریایی واقع در خلیج مکزیکو (Plumb *et al* , 1974)، خلیج چیساپیک در آمریکا (Baya *et al,* 1990)، در آزاد ماهی کوهو، مارماهی ژاپنی، ماهی آیو و تیلاپیا (Austin and Austin, 1993)، در گربه ماهی (Chang et al 1996)، در ماهی کپور معمولی (Bunch et al, 1997) و در ایران نیز این بیماری در بین مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران (قیاسی و همکاران، ۱۳۷۹)، استان فارس، در ماهی قزل آلا(آذری تاکامی، ۱۳۷۶)، ماهی هامور در استان خوزستان (مظلومی، ۱۳۸۲) شناسایی و گزارش گردیده، که نشان دهنده بروز این بیماری در تمام قاره های دنیا است.

۲-۱- عوامل باکتریایی استرپتوکوکوزیس در ماهیان

اصولاً استرپتوکوکوزیس ناشی از حضور عوامل باکتریایی کوکسی شکل گرم مثبت است که آنها را به عنوان جنس استرپتوکوکوس می شناسند. لیکن طی دهه گذشته تغییرات زیادی در طبقه بندی عوامل ایجاد کننده این بیماری رخ داده است. با ایجاد روش‌های تشخیصی جدید بر پایه خصوصیات ژنوتیپی، طبقه بندی جدید ایجاد شده و جنسهای انتروکوکوس، لاکتوکوکوس، واگوکوکوس و کارنوباکتریوم به جنس استرپتوکوکوس افزوده شده است (Venderell و همکاران ۲۰۰۶)، (Romalde و همکاران ۲۰۰۸)، (Yanong and Floyd, 2002)، (Austin and Austin, 1993)، (Austin and Austin, 1999) ، (pasnike et al, 2006).

- *Enterococcus faecalis*
- *Entrococcus faecium*
- *Streptococcu agalactiae*
- *Streptococcus dysgalactia*
- *Streptococcus equi*
- *Streptococcus equisimilis*
- *Streptococcus pyogenes*

- *Streptococcus zooepidermicus*
- *Streptococcus iniae*
- *Lactococcus piscium*
- *Lactococcus garvieae = Entrococcus seriolicida*
- *Streptococcus milleri*
- *Streptococcus parauberis*
- *Streptococcus difficilis*
- *Vagococcus salmoninarum*
-*Streptococcus phocae*
- *streptococcus ictaluri*

۲-۲- میزبانهای حساس (ماهیان)

استرپتوکوکوزیس در بسیاری از گونه های ماهیان دریایی (Romalde *et al*,2000 Colorni *et al*, ; Eldar *et al*,1999 2002) و ماهیان آب شیرین (Yanong and Floyed ,2002) هم در ماهیان پرورشی و هم ماهیان وحشی (Baya *et* (Colorni et al ,2002 ; Zlotkin *et al.*, 1998 ; *al.*,1990 گزارش شده است. اسامی این ماهیان در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: میزبان های حساس (ماهیان) به استرپتوکوکوزیس

منبع	باکتری	نام علمی ماهی	نام ماهی
Evans *et al*, 2002	*Streptococcus agalactia*	*Liza klunzingeri*	Wild mullet
Evans *et al*, 2002	*Streptococcus agalactia*	*Sparus auratus*	Sea bream
Russo *et al*, 2006	*Streptococcus iniae*	*Epalzeorhynchos bicolor*	Red-Tail Black Shark
Russo *et al*, 2006	*Streptococcus iniae*	*Epalzeorhynchos erythrurus*	Rainbow Shark
Zarauela *et al*,2005	*Vagococcos salmoninarum*	*Oncorhynchus mykiss*	Rainbow trout
Yanong and Floyd, 2002	*Streptococcus iniae*	*Hyphessobrycon sp*	ماهیان تترا
Yanong and Floyd, 2002	*Streptococcus iniae*	*Ninbochromis sp* *Pelvicachromis sp*	سیچلیدهای آفریقایی
Bowser *et al* , 1998	*Streptococcus iniae*	*Oreochromis nilloticus*	تیلاپیای نیل
Nomoto *et al*, 2004; Kusuda *et al*, 1976	*Streptococcus dysgalactiae*	*Seriola quinqueradiata*	Yellow tail
Nomoto *et al*, 2004	*Streptococcus dysgalactiae*	*Seriola dumerili*	Amberjack
Shen *et al*., 2005	*Streptococcus iniae*	*Sciaenops occellatus*	Red drum
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Micropogon undulates*	کروکر آتلانتیک
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Pomatomus saltatrix*	Blue fish
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Notemigonous chrysoleuca*	Golden shiner
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Arius felis*	گربه ماهی دریایی
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Brevoortia patronus*	منهادن
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Lagodon rhomboids*	Pin fish
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Dasyatis sp*	Stingray
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Morone saxatilis*	باس راه راه
Shoemaker *et al*., 2001	*Streptococcus sp .*	*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*	باس راه راه هیبرید
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Leiostomus xanthurus*	Spot
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Cynoscion regalis*	قزل آلای دریایی

Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Cynoscion nothus*	قزل آلای نقره ای
Baya *et al,* 1990	*Streptococcus sp .*	*Mugil cephalus*	کفال راه راه
Yuniarti., 2005; George *et al* , 1999	*Streptococcus sp .*	*Inia geoffrensis*	دلفین آب شیرین آمازون
سلطانی،۱۳۷۵	*Streptococcus sp .*	*Anguilla japonica*	مارماهی ژاپنی
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Plecoglossus altivelis*	ماهی آیو
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Oncorhynchus rhodurus*	ماهی آزاد آماگو
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Lates calcarifer*	Barramundi
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Anisotrenus sp*	Black marget
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Arothron hispidus*	Puffer fish
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Ocyunus chrysurs*	Snapper
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Sparisoma aurofrenatum S. viridae*	Parrot fish
ستاری و روستایی ،۱۳۷۷	*Streptococcus sp .*	*Lepomis cyanellus*	خورشید ماهی سبز
Sako, 1998	*Streptococcus sp .*	*Trachurus japonicus*	جک ماکرل
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Paralichthys olivaceus*	ژاپنی کفشک
Russo *et al* , 2006	*Streptococcus sp .*	*Danio rerio*	Zebra danio
Russo *et al* , 2006	*Streptococcus sp .*	*Danio albolineatus*	Pearl danio
Russo *et al* , 2006	*Streptococcus sp .*	*Botia macracanthus*	دلقک ماهی
Russo *et al* , 2006	*Streptococcus sp .*	*Barbus conchonius*	Rosy barb
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Cromileptes altivelis*	Brramundi cod
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Epinephalis tauvina*	Gold spot cod
Agnew and Barnes, 2007	*Streptococcus iniae*	*Siganus sp*	Rabbit fish
Agnew and Barnes, 2007 Eldar and Ghittino,1999 Zarauela *et al*, 2005	*Streptococcus sp .*	*Oncorhynchus mykiss*	قزل آلای رنگین کمان

۳-۲- ویژگی های عامل بیماریزا

۱-۳-۲- واگوکوکوس (Vagococcus)

باکتریهای گرم مثبت کروی، تخم مرغی و یا میله ای کوتاه هستند که به صورت منفرد، جفت و یا زنجیره های کوتاه دیده می شوند (MacFaddin., 2000). ابعاد آنها ۲/۰ – ۰/۵ ×۱/۲ – ۰/۵ میکرو متر بوده، بدون تشکیل اسپوراند، از برخی از قندها تولید اسید می نمایند، کاهنده نیترات نیستند و حرارت بهینه برای آنها ۲۵ – ۳۵ درجه سانتی گراد است. تحرک در آنها متغییر و معمولاً مثبت است. برخی گونه ها در لانسفیلد گروه N هستند (MacFaddin., 2000).

۲-۳-۲- انتروکوکوس (Enterococcus)

باکتری های گرم مثبت کروی شکل که در محیط مایع به صورت جفت، زنجیره کوتاه و یا به صورت منفرد با ابعاد ۲/۵ – ۰/۶ ×۲/۰ – ۰/۶ میکرومتر دیده می شوند (Holt *et al.*, 1994). بدون تشکیل اسپور بوده وکاتالاز منفی‌اند (MacFaddin., 2000). گاه دارای حرکت به وسیله تاژکهای کم هستند، بدون کپسولهای واضح و

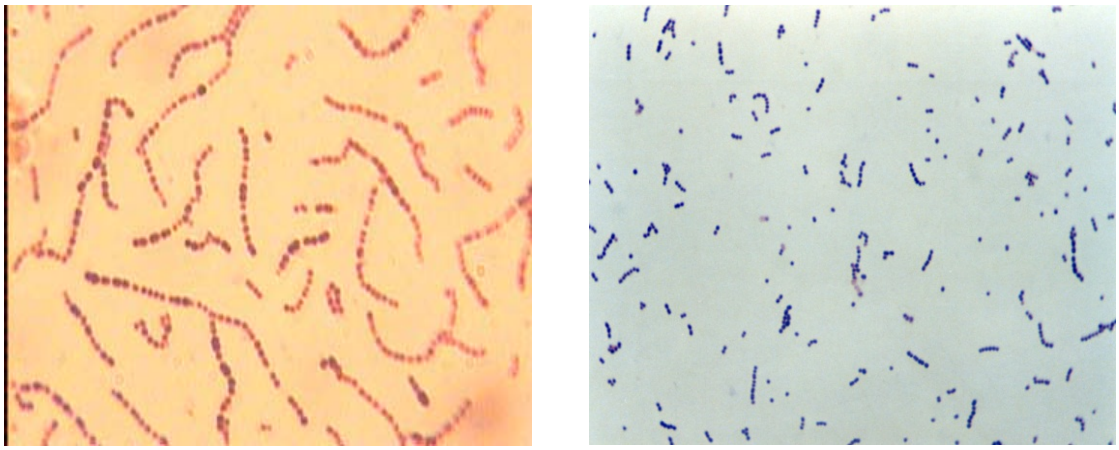
آشکاراند، معمولاً در دمای ۱۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد (دمای بهینه ۳۷ درجه سانتی گراد)، pH =9/6، NaCl= 6/5 ppt و صفرای 40% رشد می‌کنند (Holt *et al.*, 1994). معمولاً لانسفیلد گروه D هستند (MacFaddin, 2000) مقدار زیادی از قندها را تخمیر کرده و به ندرت تولید نیترات می کنند(Holt *et al.*, 1994).

۳-۳-۲- لاکتوکوکوس (Lactococcus)

باکتریهای گرم مثبت کروی تا تخم مرغی شکل به ابعاد ۱/۵ – ۰/۵ ×۱/۲ – ۰/۵ میکرومتر بوده که در محیط مایع به صورت جفت و یا زنجیره کوتاه دیده می شوند. بدون حرکت و بدون کپسول‌اند، یک تعدادی از قندها را تخمیر می‌کنند. اکسیداز و کاتالاز منفی هستند. بهترین درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد است. در ۱۰ درجه سانتی گراد رشد می کنند اما در۴۵ درجه سانتی گراد رشد نمی کنند (Holt *et al.*, 1994).

۴-۳-۲- استرپتوکوکوس (Streptococcus)

باکتریهای کروی یا تخم مرغی شکل گرم مثبت که به صورت جفت یا زنجیره ای دیده می‌شوند (MacFaddin, 2000). قطر آنها ۰/۵ تا ۲ میکرو متر بوده، بدون تحرک، فاقد اسپور، اکسیداز و کاتالاز منفی، بی هوازی اختیاری، شیمیوارگانوتروف و نیازمند به محیط غذایی غنی جهت رشد و گاه با ۵ ٪ CO_2 هستند. متابولیسم تخمیر کننده دارند و تولید لاکتوز می‌کنند، اما گاز SH_2 تولید نمی‌کنند. معمولاً به گلبولهای قرمز حمله می‌کنند و دارای همولیز های نوع α و β و بدون همولیز نیز می باشند . در دمای ۲۵ – ۴۵ درجه سانتی گراد رشد کرده اما حرارت بهینه برای آنها ۳۷ درجه سانتی گراد است (Holt *et al.*, 1994) .از لحاظ O/F glucose ، F (Fermentative) هستند و از لحاظ تبدیل و کاهش نیترات ، منفی هستند(MacFaddin, 2000).



شکل ۲ : باکتری کروی و تخم مرغی شکل استرپتوکوکوس

این ارگانیسم ها غیراسیدفست‌اند و درصد سیتوزین+گوانین در DNA آنها برابر ۴۶- ۳۴ مول می‌باشد (سلطانی، ۱۳۸۰).

برخی گونه های استرپتوکوک دارای آنتی ژنهای پلی ساکاریدی ویژه‌ای‌اند که به گروه های مشخص (گروه-های لانسفیلد ۱) اختصاص پیدا می کنند و بر اساس حضور این گروه های آنتی ژنی مخصوص به گروه های A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N) وO) طبقه بندی می‌شوند. که گروه‌های B و D لانسفیلد در ماهی‌های بیمار گزارش شده است. گروه استرپتوکوکسی D، کلنی هایی شبیه استافیلوکوکسی تولید می کنند (Austin and Austin, 1993).

یکی از مهمترین خصوصیات باکتری استرپتوکوک تجزیه گلبولهای قرمز خون (Hemolytic) است، که بر اساس آن به سویه های مختلف α – hemolytic ، β–hemolytic و یا غیر همولیز تقسیم می گردند، که یکی از عوامل یکسان نبودن بیماریزایی آنهاست. اگر چه برخی مانند *Streptococcus agalactiae* می‌توانند هم سویه α – hemolytic و هم β–hemolytic را داشته باشند (Austin and Austin, 1993).

گونه‌های زیادی از استرپتوکوکوس می‌تواند در ماهی بیماریزا باشند، اما اطلاعات کافی برای تعیین اینکه کدام گونه از استرپتوکوکوس بیماریزایی بیشتری دارد وجود ندارد(Yanong and Floyd, 2002).

در زمان های مختلف، بیماریزایی استرپتوکوهای ماهی می‌تواند متفاوت باشد پس می‌توان فرض کرد که بیماری استرپتوکوکوزیس سندرمی است که بیش از یک گونه باکتری عامل آن است. البته تفاوتهای جغرافیایی نیز در آن موثرند که در نقاط مختلف جهان گونه های متفاوتی عامل ایجاد بیماری اند (Eldar *et al.*, 1999).

۴-۲- علائم کلینیکی و آسیب شناسی ناشی از استرپتوکوکوزیس

ماهیان مبتلا ممکن است یک یا بیشتر از یک علامت را نشان دهند، با توجه به گونه ماهی این علائم شامل : شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خون‌ریزی داخل یا اطراف چشم‌ها، صفحه آبششی، پایه باله‌های شکمی و مخرجی، بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست، اتساع محوطه بطنی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب مشاهده می شود. علاوه بر اینها زخم‌های خونریزی دهنده نیز در سطح بدن ممکن است مشاهده شود (Yanong و Floyed ۲۰۰۲، Salvador و همکاران ۲۰۰۵). در برخی موارد ممکن است که ماهی قبل از مرگ علائم آشکاری را نشان ندهد.

شکل ۳ : تلفات و علائم مختلف مشاهده شده در ماهیان مبتلا به استرپتوکوکوزیس

تغییرات عمده آسیب شناسی باکتری استرپتوکوک در ماهی شامل پانوفتالمی و مننژیت می‌باشد. در دیگر اندامها تغییرات آسیب شناسی ناچیز می باشد (Eldar and Ghittino, 1999).

۵-۲- تلفات و خسارتهای اقتصادی ناشی از استرپتوکوکوزیس

عفونتهای استرپتوکوکی می‌تواند سبب مرگ و میر بالایی (بیش از ۵۰ ٪) طی یک دوره ۳ تا ۷ روزه (Yanong and Floyd., 2002) و گاه حتی بیش از ۷۵ ٪ می شود (Eldar *et* al., 1997و Bromage *et al.*, 1999)).

خسارت اقتصادی حاصله از تنها گونه *Streptococcus iniae* در آبزی پروری بیش از ۱۰۰ میلیون دلار در سال تخمین زده شده است (Xu *et al.* , 2007). گزارش بیماری از ایالات متحده آمریکا توسط plumb و همکاران در سال ۱۹۷۲ با تلفات بیش از ۵۰٪ درسواحل فلوریدا و خلیج مکزیکو صورت گرفت. پس از آن بیماری بصورت انفرادی یا همه‌گیری از ماهیان آب شیرین و دریایی در بسیاری مناطق از جمله آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس و نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره اتفاق افتاده است (Deok-Chan Lee,*et al.*,2001). در ژاپن از سال ۱۹۷۴ به بعد موجب بروز خسارات فراوان اقتصادی بر صنعت گیش دم زرد (Seriola quinqueradita) پرورشی شده است. باکتری استرپتوکوکوس دارای قدرت تهاجمی بوده و در یک مطالعه آزمایشگاهی، ماهیان

زینتی دانیوس راه راه را با غلظت زیادی از باکتری در آب وارد نموده و باعث مرگ ۱۰۰٪ ماهیان در عرض ۲ تا ۴ روز گردیدند.

در سالهای گذشته این بیماری در اغلب استانهای کشور (لرستان، مازندران، فارس، چهار محال و بختیاری، کرمانشاه، کهگیلویه و بویر احمد و گیلان) در ماهیان سردآبی پرورشی یک بیماری غالب بوده است و یکی از مشکلات جدی که منجر به خسارتهای سنگین اقتصادی در صنعت آبزی پروری می‌شد، این بیماری بود Akhlaghi and Keshavarzi2002,,; Soltani *et al.*, 2005, 2008; Saeedi *et al.*, 2009; Pourgholam *et al.*, 2010

به جهت اهمیت بیماری استرپتوکوکوزیس در صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی و خسارتهای اقتصادی ناشی از آن و گاه بسته شدن مزرعه به جهت انجام مقررات بهداشتی (قرنطینه) به وسیله واحدهای بهداشتی و نظارتی (سازمان دامپزشکی کشور) و گسترش و بروز آن در همه اقلیمهای سطح کشور، با شدت و حدت های مختلف ما را بر آن داشت تا در قالب یک طرح ملی (استانهای فارس، مرکزی، غرب و شرق استان‌های مازندران) یک تصویری از عوامل تأثیرگذار بر بروز این بیماری داشته باشیم و با کنترل این عوامل بتوانیم نسبت به پیشگیری آن و با حداقل خسارت بر نامه ریزی داشته باشیم.

۶-۲- تاریخچه استرپتوکوکوزیس در ایران

وجود بیماری استرپتوکوکوزیس در ایران برای اولین بار با عاملیت باکتری *S. fecium* از یکی از مراکز تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان منطقه هراز در استان مازندران گزارش گردید (قیاسی و همکاران ۱۳۷۹) و بعد از آن بیماری با عاملیت *S. iniae* در استان فارس گزارش شد(اخلاقی و کشاورزی ۱۳۸۱) و بتدریج نه تنها بروز بیماری بلکه شیوع و تنوع عوامل ایجاد کننده آن نیز افزایش یافت. قلی پور کنعانی و همکاران (۱۳۸۶)، بروز استرپتوکوکوزیس را با جداسازی باکتری *S. fecium* از استان خراسان گزارش کرده است. در مطالعه دیگری در استان مازندران جداسازی *S. fecium* گزارش شده است (قیاسی و زاهدی۱۳۸۶). سلطانی و نیکبخت بروجنی (۱۳۸۶) طی یک مطالعه اپیدمیولوژیکی دو ساله نشان دادند که استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه دو باکتری بسیار مهم در برخی از مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان استانهای مطرح در تولید این ماهی در ایران هستند. موسوی (۱۳۸۶) طی یک بررسی یک ساله از ۱۲ مزرعه تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران مبادرت به شناسایی باکترهای گرم مثبت بیماریزا پرداخت. در این بررسی پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی باکتریهای *S. milleri*، *S. agalactiae*، *S. iniae*، *Enterococcus fecalis* شناسایی شدند. در مطالعه‌ای دو ساله بر روی عوامل رایج استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در استان فارس از ۴ مزرعه ۶۰۰ عدد ماهی واجد علائم بالینی نمونه برداری و از کلیه، مغز و کبد آنها کشت تهیه گردید. در مجموع ۴۸۰ پرگنه بدست آمد که از این تعداد ۳۹۰ نمونه *S. iniae* و ۹۰ نمونه *L. garvieae* شناسایی شدند (Soltani & Tarahomi ۲۰۰۹). در بررسی تعداد دیگری در استان اصفهان ۷۲ عدد ماهی با وزن ۲۰۰ – ۱۵۰ گرم واجد علائم بالینی از

۶ مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان نمونه برداری و در آزمایشگاه از کلیه و کبد آنها کشت میکروبی انجام دادند. از تمام نمونه های فوق باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد (Mohammadi Arani و Moghadas ۲۰۰۹). در بررسی علل تلفات ایجاد شده در سه مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان با علایم بالینی مشکوک به استرپتوکوکوزیس در منطقه سندگان استان چهار محال و بختیاری پس از کشت و خالص سازی باکتری با استفاده از روش PCR و دو پرایمر pLG_1 و pLG_2 مشخص شد باکتری عامل بیماری *L. garvieae* بوده است (Fadaeifard و همکاران ۲۰۰۹). در بررسی دیگری بروز بیماری و تلفات در قزل آلای رنگین کمان پرورشی ناشی از باکتری استرپتوکوکوس از استان همدان گزارش شده است (Habibipour و Bayat ۲۰۰۹). هوشمند و حقیقی (۱۳۸۸) در بررسی علل تلفات یک مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان در غرب استان گیلان توانستند باکتری *S. disgalacteae* را جداسازی و شناسایی نمایند. در تحقیق دیگری وضعیت بیماری استرپتوکوکوزیس در استان کرمانشاه مورد بررسی قرار گرفت که طی آن از ۱۰۲ مزرعه پرورش ماهیان قزل آلای رنگین کمان ۲۲ مزرعه واجد ماهیانی بودند که علائم بیماری را داشته و در بررسی‌های باکتری شناسی وجود باکتری استرپتوکوس اثبات شد (Shahbazian و همکاران ۲۰۱۰).

Heydarynezhad و همکاران (۲۰۱۰) در یک ارزیابی در بر پایه تکنیک‌های PCR و هیستوپاتولوژی به شناسایی عامل بروز استرپتوکوکوزیس در شهر ایلام پرداختند. در این بررسی بر پایه متد مولکولی باکتری بیماریزا در سه مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان در این شهرستان *L. garvieae* شناسایی شد. در یک مطالعه اپیدمیولوژی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در مراکز تکثیر و پرورش قزل آلا در ایران تعداد ۱۰۸ نمونه کوکسی گرم مثبت از ماهیان بیمار قزل آلای رنگین کمان ۷ استان کشور طی سالهای ۲۰۰۹ – ۲۰۰۸ جمع آوری گردید. در بررسی اولیه از تستهای تفریقی و بیوشیمیایی ۴۹ نمونه (۴۵/۳۷٪) *S. iniae* و ۳۷ نمونه(۳۵/۲٪) *L. garvieae* و ۲۲ نمونه نیز استرپتوکوکوس با گونه نامشخص شناسایی گردید. لیکن در بررسی با روش PCR برای یافتن باند اختصاصی ۵۰۰bp ، ۶۴ نمونه(۵۹/۲٪) S. iniae و ۴۴ نمونه(۴۰/۸٪) *L. garvieae* شناسایی شدند (Haghighi Khiabania و همکاران ۲۰۱۰).

فصل ۱ :

مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در استان فارس

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱۶
۱-۱-مقدمه ۱۷
۱-۲-مواد و روش کار ۱۸
۱-۲-۱- روش تجزیه تحلیل داده ها ۱۸
۱-۳- نتایج ۲۳
۱-۴- بحث ۳۸
پیشنهادها ۴۲
منابع ۴۳
پیوست ۵۰

چکیده

استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis)یکی از بیماری های عفونی باکتریایی است که در صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی،عامل مرگ و میر و خسارتهای اقتصادی جبران‌ناپذیر می‌باشد. درسال‌های اخیر این بیماری در تعدادی از مزارع ماهیان سردآبی استان‌های کشور گسترش پیدا کرده و گزارش گردیده است.

استان فارس به تولید سالانه حدود ۷۰۰۰ تن ماهیان سردآبی در کشور مبادرت ورزیده وبه علت گزارش بیماری استرپتوکوکوز در سال ۱۳۸۱ و اقدامات انجام شده طی ده سال وخسارات وارده در استان ارمحل این بیماری به تولید ماهی قزل‌آلا، ارزیابی عوامل خطر در بروز ا ستریتوکوکوزیس در این استان در دستور کار قرار گرفت.

در این مطالعه از ۵۸۶ قطعه ماهی پرواری بیمار (واجد علائم بالینی) مورد بررسی، ۲۳۰ مورد (۳۹/۲۴ درصد) باکتری استرپتوکوک و ۱۵۶ مورد (۲۶/۶۲ درصد)باکتریهای گرم منفی جدا گردیدند.از ۷۵۴ قطعه ماهی پرواری و بچه ماهی سالم (فاقد علائم بالینی) ۱۰ مورد(۱/۳۲ درصد) به باکتری استرپتوکوک و ۶۰ مورد(۷/۹۵ درصد) به باکتریهای گرم منفی (یرسینیا راکری،پسودوموناس و انتروباکتریاسه)آلوده بودند.باکتری استرپتوکوک جداسازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی لاکتوکوکوس گارویه (*Lactococcus garvieae*)و استرپتوکوکوس اینیائی(*Streptococcus iniae*)و استرپتوکوکوس (*Streptococcus sp*) شناسایی گردید وبرخی پارامتریهای فیزیکوشیمیایی وتعداد باکتریهای هوازی آب مزارع منتخب اندازه گیری وتاثیر تغییرات آنان با روش رگرسیون لجستیک بر بروز بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت .

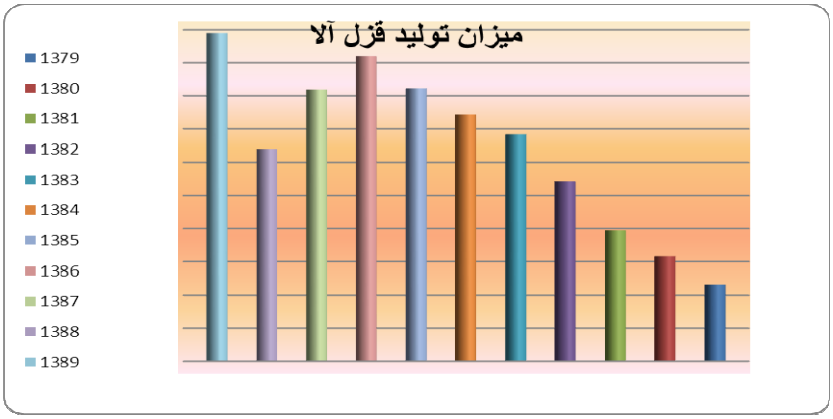
لغات کلیدی : استرپتوکوکوزیس – استان فارس –عوامل خطر – قزل آلای رنگین کمان

۱-۱- مقدمه

دنیای امروز با سه چالش عمده یعنی فقدان آب شیرین در جهان .کمبود غذا و تخریب محیط زیست مواجه است. روزانه هزاران نفر به واسطه کمبود مواد غذایی می میرند و نرخ مرگ و میر ناشی از کمبود غذا با افزایش جمعیت شدت می یابد. برای مقابله بااین چالش بزرگ. بشر می بایست شیوه های جدیدی را بکار گیرد تا میزان تولید مواد غذایی را افزایش دهد. دریاها در حدود ۷۵٪ سطح کره زمین را اشغال نموده اند و براساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) صید از دریاها به حدی رسیده که با شیوه های کنونی نمی توان تولید بیشتری را انتظار داشت .

استحصال آبزیان(ماهی ، سخت پوستان ، نرم تنان) از طریق صید از دریاها و آبزی پروری انجام می شود . بر اساس آمار FAO آبزی پروری جهان در سال ۲۰۱۰ نشان می دهد که تولید جهانی ماهی از طریق آبزی پروری بین سال های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۸ بیش از ۶۰ درصد رشد کرده و از ۳۲/۴ میلیون تن به ۵۲/۵ میلیون تن رسیده است. در این گزارش پیش بینی شده است در سال ۲۰۱۲ بیش از ۵۰ درصد مصرف ماهی جهان از طریق آبزی پروری تامین شود. با توجه به رکود صنعت ماهیگیری و افزایش جمعیت، آبزی پروری به عنوان صنعتی که بیشترین پتانسیل را برای تولید ماهی و پاسخ به تقاضای در حال رشد غذای دریایی با کیفیت و سالم دارد، شناخته می شود و به طور آشکاری در بسیاری از نقاط جهان به کاهش فقر و بهبود امنیت غذایی کمک کرده است.

استان فارس با مساحت ۱۲۳۰۰۰ کیلو متر مربع ۷/۵ درصد مساحت کل کشور را تشکیل می دهد و با ۳۰ شهرستان حدود ۴/۴ میلیون نفر، ۶/۳درصد جمعیت کشور را دارد . استان فارس دارای ۱۵۰۰۰۰ هکتار منابع آبی شور و لب شور شامل : دریاچه های بختگان ، طشک، مهارلو، هیرم و همچنین ۲۳۰۰۰ هکتار منابع آبی شیرین شامل دریاچه های کافتر ، پریشان ، سد درودزن ، هیرم و تالاب ارژن و . . . بوده و عموماً جزء مناطق نیمه خشک محسوب می گردد و حجم نزولات جوی بالغ بر ۴۰ میلیارد متر مکعب است همچنین علاوه بر منابع آبی فوق استان دارای رودخانه ها و منابع آبی زیر زمینی با حجم تخلیه سالانه ۷/۵ میلیارد متر مکعب بوده که در مجموع زمینه مساعدی در امر آبزی پروری با توان تولید بالایی را ایجاد میکند .



نمودار تولید ماهی قزل آلای استان فارس طی سال های ۸۹- ۱۳۷۹ (تن)

۲-۱- مواد و روش کار

ایستگاه‌های منتخب (مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان)

استان فارس در سال ۹۱ دارای تعداد ۷۵ مزرعه فعال ماهیان سردآبی می باشد که در این بررسی ۱۲ مزرعه انتخاب شد، که مختصات جغرافیایی آنها به ترتیب از بالا به پایین در جدول ۲ و تصاویر ماهواره‌ای مزارع (شکل‌های الف ۱ تا ۱۰) به پیوست آمده است.

جدول ۲ : نام مزارع منتخب و مختصات جغرافیایی آن‌ها

نام مزرعه	تنگ تیزاب	تعاونی ۲۲ بهمن	رودشیر	نی سایه	سراب بیضا	ملوسجان	مارون	آسپاس	نوری	بهشت گمشده	فارس قزل	شایانی
ارتفاع از سطح دریا (متر)	۲۱۱۸	۲۳۲۲	۲۱۳۲	۱۷۰۵	۱۷۰۵	۱۶۷۸	۲۰۷۸	۲۱۵۹	۲۳۵۰	۱۸۱۹	۱۷۹۹	۲۱۸۵
طول جغرافیایی	۵۱.۷۹۲۴	۵۲.۰۶۴۷	۵۱.۹۱۰۴	۵۲.۳۵۷۶۹	۵۲.۳۵۷۰۵۹	۵۲.۴۷۰۱۵	۵۲.۲۸۷۹۱	۵۲.۴۷۷۶۲	۵۲.۶۶۶۷۱	۵۲.۰۹۶۹۶	۵۲.۱۷۷۴۹	۵۱.۸۷۵۹۹
عرض جغرافیایی	۳۰.۳۷۰۳	۳۰.۲۴۵	۳۰.۲۱۰۵	۲۹.۹۶۲۱۳	۲۹.۹۶۲۰۶۹	۲۹.۸۷۳۲	۳۰.۶۶۷۸۴	۳۰.۴۹۷۴۴	۳۰.۶۵۷۴۱	۳۰.۲۰۲۰۹	۲۹.۵۴۷۱۳	۳۰.۱۹۹۱۱
شماره مزارع	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲

۱-۲-۱- نمونه برداری

نمونه برداری از ماهی

نمونه برداری از ماهیان پیش پرواری و پرواری با دامنه وزنی (۳۰۰-۵۰ گرم) به تعداد ۱۳۱۰ قطعه و بچه ماهیان با دامنه وزنی (۵۰-۱۰ گرم) به تعداد ۳۰ قطعه،جمعا" به تعداد ۱۳۴۰ قطعه که شامل ماهیان بیمار (همراه با علائم) و ماهیان به ظاهر سالم (بدون علائم) از ۱۲ مزرعه پرورش ماهی سردآبی منتخب، به شکل ماهیانه (مدت ۱۲ ماه) و هر ماه ۱۲۰ عدد ماهی (هر مزرعه ۱۰ عدد) به شکل زنده و تصادفی جمع آوری شد و مورد بررسیهای آزمایشگاهی (کشت باکتریایی) قرار گرفت.

انجام کشت و تشخیص اولیه باکتری

پس از جمع آوری نمونه ها به شکل زنده، ماهیان از نظر علائم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و در شرایط استریل کالبدگشایی و پس از شکافتن محوطه بطنی، علائم داخلی ثبت شدند و سپس با استفاده از آنس استریل از بافت‌های کبد وکلیه در محیط تریپتوکیز سوی آگار (TSA) کشت خطی، جهت جداسازی باکتری انجام

گردید (Austin و Austin ،۱۹۹۹) و پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴ الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در گرمخانه کالیبره شده، قرار گرفتند و پس از مشاهده رشد پرگنه‌های باکتری استرپتوکوک در محیط کشت، تشخیص اولیه و افتراقی آن از باکتری استافیلوکوکوس با استفاده از رنگ آمیزی به روش گرم و دیدن کوکسی های گرم مثبت و سپس تست کاتالاز (آزمایش افتراقی باکتری استرپتوکوک از استافیلوکوک) انجام گردید.

پس از جمع آوری نمونه ها به شکل زنده، ماهیان از نظر علائم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و در شرایط استریل کالبدگشایی و پس از شکافتن محوطه بطنی، علائم داخلی ثبت شدند و سپس با استفاده از آنس استریل از بافت کلیه در محیط بلاد آگار (BA) کشت خطی، جهت جداسازی باکتری انجام گردید (Austin و Austin ،۱۹۹۹) و پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴ الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد در گرمخانه کالیبره شده، قرار گرفتند و پس از مشاهده رشد پرگنه‌های باکتری استرپتوکوک در محیط کشت، تشخیص اولیه و افتراقی آن از باکتری استافیلوکوکوس با استفاده از رنگ آمیزی به روش گرم و دیدن کوکسی های گرم مثبت و سپس تست کاتالاز (آزمایش افتراقی باکتری استرپتوکوک از استافیلوکوک) انجام گردید.

جهت تشخیص افتراقی استرپتوکوکهای جداسازی شده از روش MacFaddin, J.F. 2000استفاده شد .

مشخصات بیوشیمیایی گونه های مختلف استرپتوکوک های جداسازی شده

	St. faecium	St. uberis	St. agalactiae	St. dysgalactiae	St. iniae
Gram - staining	+	+	+	+	+
Catalase production	-	-	-	-	-
haemolysis	α	-	-	+	+
Swarming	v	-	-	-	-
Production of ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-
Production of lysine decarboxylase			-		
Production of arginine dihydrolase			-		
Motility test	+	+	+	+	+
Nitrate reduction			-		-
Indole production	-		-		
Citrate utilization	-		-		
Urease production	-			-	
Methyl red			+		-
Vogesproskauer reaction	+	+	+	-	-
Aesculin hydrolases	+	+	-	v	+
Degradation of gelatin	-		-		-
Onpg production	+	-	-		-
Oxidative-fermentative test	F	F	F	F	F
Acid production from arabinose	+	-	-	-	-
Acid production from glucose	+	+	+	+	+
Acid production from inositol	-	-	-		-

ادامه جدول :

	St. faecium	St. uberis	St. agalactiae	St. dysgalactiae	St. iniae
Acid production from maltose	+	+	+		+
Acid production from manitol	+	+	-	-	+
Acid production from mannose	+	+	+		+
Acid production from salicin	+	+	-	v	+
Acid production from sorbitol	-	+	-	-	-
Acid production from trehalose	+	+	+	+	+
Acid production from xylose	-	-	-		-
Growth at macconkey			-		
Temperature	10^{oC} -50^{oC}	10^{oC} -37^{oC}	25^{oC} -37^{oC}	25^{oC} -37^{oC}	10^{oC} -37^{oC}
Growth on NaCl	0-%6.5	0-%6.5	0-%3	0-%4	2-%4
Hipporatesudium	+	+	+	-	-

۲-۲-۱- انجام آزمایشات مولکولی

استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از کیت Roche با درجه خلوص بالا با شماره ۱۱۷۹۶۸۲۸۰۰۱ انجام گردید.بدین ترتیب که از کلونی های مشکوک به استرپتوکوک به اندازه یک لوپ کامل به درون میکروتیوب حاوی ۲۰۰ میکرولیتر PBS ریخته شد که پس از هضم باکتریها توسط لیزوزیم و روش (SOP) کیت Roche استخراج DNA تکمیل گردید.

مرحله PCR

Master mix تهیه شده به همراه ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده به میکروتیوب اضافه گردیده و سپس پرایمرهای مربوط به استرپتوکوک گارویه و استرپتوکوک اینیائی به میکروتیوبهای مذکور اضافه شد و به چاهکهای دستگاه ترمال سایکلر منتقل گردید. برنامه حرارتی شامل مرحله پیش حرارتی با دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ سیکل حرارتی شامل مرحله واسرشته شدنDenaturation با دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله الحاق Annealing با دمای ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط Extension با دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه در نظر گرفته شد.

در نهایت محصول PCR بر روی ژل اکریل امید الکتروفورز برده شد که پس از نیم ساعت در زیر نور UV باندهای مورد نظر بررسی گردید و بوسیله دوربین از ژل عکس تهیه شده و در کامپیوتر ثبت گردید.

۳-۲-۱-نمونه برداری از آب

آزمایشات فیزیکی وشیمیایی آب

قبل از نمونه‌برداری از آب با استفاده از دستگاه دیجیتال آنالیز آب، درجه حرارت، پ هاش و میزان اکسیژن محلول آب ورودی مزارع منتخب، اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. ماهیانه درطی ۱۲ ماه از آب ورودی هر مزرعه یک نمونه آب در ظرف پلاستیکی به حجم ۲۵۰ سی سی اخذ و پس از ثبت اطلاعات اولیه (تاریخ، نام مزرعه و درجه حرارت)، در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل می‌گردید و پارامترهایی مثل نیتریت به روش برن اشنایدر و رابینسون با اضافه نمودن محلول‌های سولفانیل آمید و N– (۱– فنیل) اتیلن دی‌آمین دی هیدروکلراید، یون نیتریت موجود ایجاد کمپلکس رنگی نمود که میزان جذب آن در طول موج ۵۴۳ نانومتر اندازه گیری شد. نیترات به روش ستون کاهشی کادمیوم اندازه‌گیری شد (آرسترونگو–ریچادمو، ۱۹۶۸). ابتدا با عبور نمونه از ستون کاهشی کادمیوم، یون نیترات به نیتریت تبدیل گردید و سپس طبق روش اندازه‌گیری یون نیتریت، انجام و در انتها میزان بدست آمده از غلظت NO_2 اولیه کم شد. مقدار اسیدیته آب، به کمک pH متر پرتابل با الکترود حساس مدل 320-WTW تعیین گردید، آمونیوم به روش فنات اندازه گیری شد (سیرژی_سولورزانو، ۱۹۶۹). یون +NH4 موجود در نمونه مورد نظر با اضافه نمودن محلول‌های فنل و هیپو کلریت کلسیم ایجاد کمپلکس پایداری به رنگ آبی می‌نماید که جذب آن در طول موج ۶۳۰nm قرائت گردید. کدورت (کل مواد جامد محلول (TDS) به روش دستگاهی مدل HACH اندازه گیری شدو اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری گردید.نمونه مورد نظر در محل و در داخل شیشه‌های وینکلر جمع‌آوری گردیده و با افزودن محلول‌های یدور قلیایی وکلرور منگان تثبیت شدند. سپس با انحلال رسوب حاصل توسط اسید سولفوریک محلول توسط نمک دی‌سدیک EDTA در مجاورت چسب نشاسته تیتر و اندازه گیری شد ودمای آب با استفاده از ترمومتر جیوه ای بر حسب سانتی گراد ا ندازه گیری شد.

شمارش کلی باکتریهای داخل آب

نمونه برداری از آب ورودی هر مزرعه با استفاده از ظروف پلاستیکی استریل درب دار با حجم ۷۰ میلی لیتر صورت گرفت. نمونه ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند. بعد از تهیه رقتهای سریالی(10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}) به روش پورپلیت در محیط TSA (Merck آلمان) کشت به عمل آمد. پلیتها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند (گرمخانه کالیبره شده با استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵) . پس از این مدت شمارش کلی باکتریها انجام گردید. جهت تشخیص جنس باکتری استرپتوکوکوس در پلیتهای فوق، ابتدا از پرگنه‌های تیپیک نمونه‌برداری و به روش خطی در محیط آگار خوندار (BA) (Merck آلمان) کشت خالص به عمل آمد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ – ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند و پس از طی این مدت از کلنی های تک بدست آمده رنگ آمیزی گرم انجام گردید. بعد از این مرحله و تأیید

کلنی‌های استرپتوکوکسی و شباهت آن با استافیلوکوک ها در نوع رنگ پذیری و شکل، تست افتراقی کاتالاز گذاشته شد و همه آنهایی را که کاتالاز منفی بودند، به عنوان استرپتوکوک پذیرفته شد (Buller ۲۰۰۴).

۳-۱- روش تجزیه وتحلیل داده ها

داده‌ها و آمار توصیفی با برنامه SPSS تحلیل و پردازش گردیدند. از آزمونهای ANOVA و برای مقایسه از آزمون دانکن استفاده شد. از تست‌های ناپارامتریک مثل آزمون کای مربع، مقایسه‌ی نسبت‌ها نیز استفاده گردید. همچنین از آزمون Kruskal Wallis و Logestic Regresion استفاده شده است. میزان معنی‌دار بودن در سطح $P<0.05$ ارائه شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

۳-۱- نتایج

نتایج ارزیابی عوامل خطر در بروز استرپتوکوکوزیس در ماهیان سردآبی (ماهی قزل‌آلا) در استان فارس به ترتیب به ۱- علائم خارجی و داخلی مشاهده شده (قبل از باز کردن و بعد از باز کردن ماهی) ۲- برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب (عوامل خطر) در بروز استرپتوکوکوزیس ۳- تعداد کلی باکتری های داخل آب ۴- ارزیابی عوامل خطر در بروز استرپتوکوکوزیس اشاره می‌گردد.

۱-۳-۱- علائم مشاهده شده در ماهیان مورد بررسی

در ماهیان مورد بررسی تنوعی از علائم غیر طبیعی مشاهده گردید که بعضاً این موارد به صورت مشترک در ماهیان بیمار دیده نشده است و این علائم عبارت بودند از : شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بی اشتهایی، بیرون‌زدگی یک یا دو طرفه چشم، کدورت قرنیه، خون-ریزی اطراف چشم‌ها، صفحه آبششی، پایه باله‌های شکمی و مخرجی، بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست، اتساع محوطه بطنی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خون‌ریزی در سطح کبد و قلب مشاهده شد.

شکل ۵ : تیرگی و بیرون زدگی چشم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

از بافت کلیه ۳۹/۲۴ درصد از ۵۸۶ عدد ماهی پرواری بیمار (واجد علائم)باکتری استرپتوکوک و ۲۶/۶۲ درصد آنها باکتریهای گرم منفی و بقیه نمونه ها یعنی ۳۴/۱۴ درصد عاری از باکتری بودند. و ۱/۳۲ درصد از ۷۵۴ عدد ماهی پرواری و بچه ماهی سالم(بدون علائم) باکتری استرپتوکوک جداسازی گردید و ۷/۹۵ درصد آنها باکتریهای گرم منفی جداسازی شد و باقیمانده یعنی ۹۰/۷۳ درصد آنها عاری از باکتری بوده اند.

جدول ۴ : درصد آلودگی بچه ماهیان سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد بچه ماهی بیمار در هر مزرعه	بچه ماهی بیمار (۰)		تعداد بچه ماهی سالم در هر مزرعه	بچه ماهی سالم (۳۰)	
		درصدآلودگی به استرپ	درصد عدم آلودگی به استرپ		درصد آلودگی به استرپ	درصد عدم آلودگی به استرپ
۱	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۲	۰	۰	۱۰۰.۰	۱۰	۰	۱۰۰.۰
۳	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۴	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۵	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۶	۰	۰	۱۰۰.۰	۱۰	۰	۱۰۰.۰
۷	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۸	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۹	۰	۰	۱۰۰.۰	۱۰	۰	۱۰۰.۰
۱۰	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۱۱	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
۱۲	۰	۰	۱۰۰.۰	۰	۰	۱۰۰.۰
درصد کل	۰	۰	۱۰۰.۰	۳۰	۰	۱۰۰.۰

بچه ماهیان سالم نمونه برداری شده از مزارع شماره ۲ و ۶ و ۹ جمعا" به تعداد ۳۰ قطعه فاقد آلودگی به باکتری استرپتوکوک و باکتریهای گرم منفی بودند.

جدول ۵ : درصد آلودگی ماهیان پرواری بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد ماهی پرواری بیمار در هر مزرعه	ماهی پرواری بیمار (۵۸۶)		تعداد ماهی پرواری سالم در هر مزرعه	ماهی پرواری سالم (۷۲۴)	
		درصدآلودگی به استرپ	درصد عدم آلودگی به استرپ		درصدآلودگی به استرپ	درصد عدم آلودگی به استرپ
۱	۴۰	۰	۱۰۰.۰	۸۰	۰	۱۰۰.۰
۲	۰	۰	۱۰۰.۰	۱۱۰	۰	۱۰۰.۰
۳	۵۰	۰	۱۰۰.۰	۷۰	۰	۱۰۰.۰
۴	۸۰	۵۰	۵۰	۳۰	۰	۱۰۰.۰
۵	120	16/66	83/34	0	0	100.0
۶	0	0	100.0	20	0	100.0

۷	100	90	10	20	0	100.0
۸	0	0	100.0	120	0	100.0
۹	50	0	100.0	60	16/66	83/34
۱۰	36	0	100.0	84	0	100.0
۱۱	80	100.0	0	40	0	100.0
۱۲	30	0	100.0	90	0	100.0
درصد کل	586	۳۹/۲۴	۶۰/۷۶	724	۱/۳۸	۹۸/۶۲

جدول ۶: درصد آلودگی ماهیان پرواری بیمار و سالم به باکتریهای گرم منفی

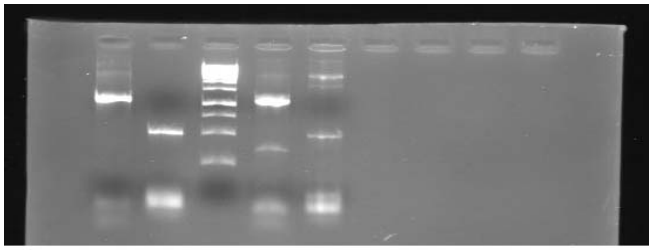
شماره مزرعه	تعداد ماهی پرواری بیمار در هر مزرعه	ماهی پرواری بیمار (۵۸۶)		تعداد ماهی پرواری سالم در هر مزرعه	ماهی پرواری سالم (۷۲۴)	
		درصدآلودگی به باکتری گرم منفی	درصد عدم آلودگی به باکتری گرم منفی		درصدآلودگی به باکتری گرم منفی	درصد عدم آلودگی به باکتری گرم منفی
۱	۴۰	۱۰۰.۰	۰	۸۰	۰	۱۰۰.۰
۲	۰	۰	۱۰۰.۰	۱۱۰	9.09	90.91
۳	۵۰	۶۰	۴۰	۷۰	۰	۱۰۰.۰
۴	۸۰	۰	۱۰۰.۰	۳۰	۰	۱۰۰.۰
۵	120	25	75	0	0	100.0
۶	0	0	100.0	20	0	100.0
۷	100	20	80	20	0	100.0
۸	0	0	100.0	120	0	100.0
۹	50	100.0	0	60	16.66	83.34
۱۰	36	72.22	27.78	84	4761	5239
۱۱	80	0	100.0	40	0	100.0
۱۲	30	0	100.0	90	0	100.0
جمع کل	۵۸۶	۲۶/۶۲	۳۸/۷۳	۷۲/۴	۲۸/۸	۷۲/۹۱

بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرواری بیمار به استرپتوکوک به ترتیب ۱۰۰ ، ۹۰، ۵۰ ، ۶۶.۱۶ درصد که در مزارع۱۱، ۷، ۴، ۵ مشاهده گردید و در ۸ مزرعه دیگر دیده نشد و بیشترین درصد آلودگی در ماهیان پرواری سالم ۶۶.۱۶ درصد بوده که در مزرعه شماره ۹ دیده شده است و در دیگر مزارع مشاهده نشده است.(جدول ۵).
بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرواری بیمار به باکتریهای گرم منفی به ترتیب ۱۰۰ ، ۱۰۰، ۷۲.۲۲ ، ۲۵ ، ۲۰ درصد که در مزارع۱، ۹، ۱۰، ۵ ، ۷ مشاهده گردید و در ۷ مزرعه دیگر دیده نشد و بیشترین درصد آلودگی در

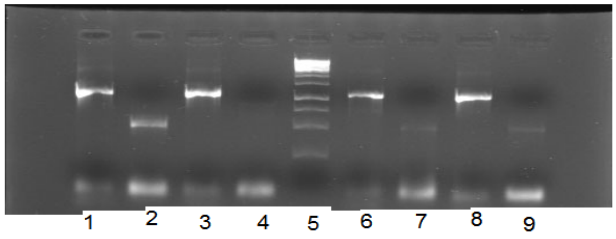
ماهیان پرواری و بچه ماهیان سالم ۴۷.۶۱ ، ۱۶.۶۶ ،۹.۰۹ درصد بوده که در مزرعه شماره ۱۰ و ۹ و ۲ دیده شده است و در دیگر مزارع مشاهده نشده است.(جدول ۶).

۲-۳-۱- نمونه هایی ازنتایج آزمایش های PCR جهت تشخیص گونه های باکتری های استرپتو کوک جداسازی شده از نمونه های ماهی

۹۲/۲/۲۸ (مزرعه مارون) تصویر ۱

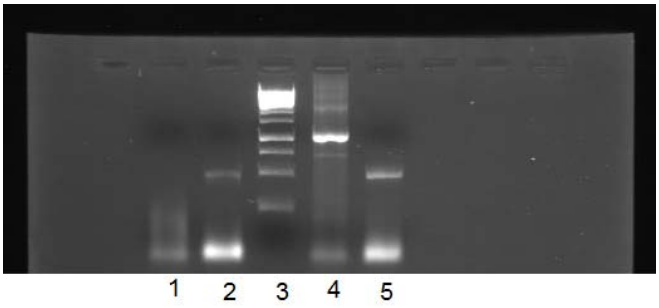


چاهک ۱=کنترل مثبت گارویه - چاهک دو= کنترل مثبت اینیه -# سه=مارکر - #
چهار= نمونه: گارویه مثبت # پنج= نمونه: اینیه مثبت



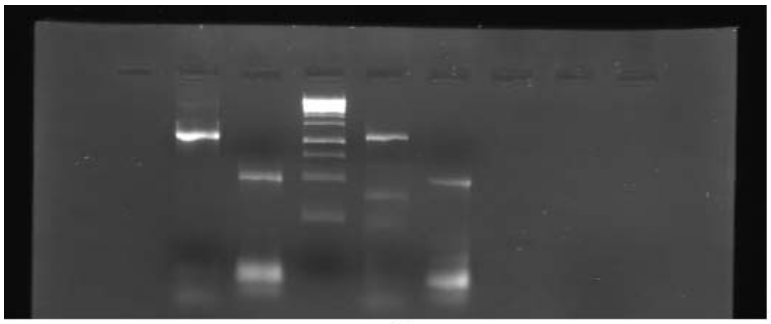
چاهک ۱= کنترل مثبت گارویه - # ۲ = کنترل مثبت اینیه - # ۳و۴ = نمونه فارس قزل: گارویه مثبت- اینیه منفی - # ۵ = مارکر - # ۶و۷ = نمونه تیراژه: گارویه مثبت – اینیه منفی
 # ۸و۹= نمونه مارون: گارویه مثبت- اینیه منفی

۹۲/۵/۲۶ مزرعه نی سایه (تصویر ۳)



چاهک ۱و۲= نمونه: اینیه مثبت- گارویه منفی - # ۳ = مارکر
 # ۴ = کنترل مثبت گارویه - # ۵ = کنترل مثبت اینیه

۹۲/۴/۳ مزرعه مارون تصویر ۴



چاهک ۱ = کنترل مثبت گارویه

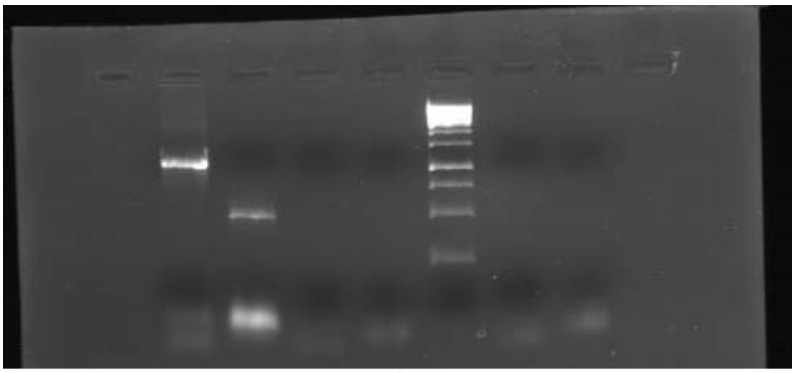
 # ۲ = کنترل مثبت اینیه

 # ۳ = مارکر

 # ۴ = نمونه: گارویه مثبت

 # ۵ = نمونه : اینیه مثبت

۹۲/۶/ مزرعه نوری –Strep.sp(unknown) تصویر ۵



چاهک ۱ = کنترل مثبت گارویه

چاهک ۲ = کنترل مثبت اینیه

 # ۳و۴ = نمونه : اینیه و گارویه هر دو منفی ------ چاهک۵= مارکر

جدول ۷: میانگین تعداد کلی باکتریهای هوازی در آب ورودی مزارع منتخب

فصل مزرعه	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
F1	۱۰۰۰	۱۶۵۰	۶۱۷	۴۶۷
F2	۵۸۳	۶۵۰	۱۱۶	۲۸۰
F3	۱۱۳۳	۹۶۷	۱۲۸	۳۶۰
F4	۱۶۳۳	۱۲۰۰	۴۴۸	۲۷۳
F5	۱۴۵۰	۱۷۲۷	۸۸۷	۵۶۷
F6	۰	۴۵۰	۵۵۰	۰
F7	۱۰۱۷	۱۴۶۷	۵۳۳	۶۱۷
F8	۶۹۷	۴۱۳	۲۸۰	۱۰۰
F9	۸۰۰	۴۱۰	۴۰۰	۶۰۷
F10	۱۷۵۰	۱۲۸۳	۱۵۳	۱۷۰
F11	۱۱۳۳	۱۳۶۷	۷۴	۲۷۰
F12	۲۱۶۷	۱۲۴۳	۱۷۶	۳۷۷

میانگین تعداد باکتریهای هوازی به ترتیب از فصل زمستان، پاییز، تابستان و بهار افزایش می‌یابد به طوریکه در فصل زمستان حداقل $۱۰^{۲}\times$ ۱ و حداکثر $۱۰^{۳}\times$ ۰.۶۱۷ ، فصل پاییز حداقل $۱۰^{۲}\times$ ۰.۷۴ و حداکثر $۱۰^{۳}\times$ ۰.۸۸۷ ، فصل تابستان حداقل $۱۰^{۳}\times$ ۰.۴۱و حداکثر $۱۰^{۳}\times$ ۱.۷۲۷ و فصل بهار حداقل $۱۰^{۴}\times$ ۰.۰۵۸۳ و حداکثر $۱۰^{۴}\times$ ۰.۲۱۶۷ شمارش گردید (جدول ۷).

جدول ۸ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
۸	۱۰/۶	۸/۹	۲۲۵/۲۲	۰/۴۱	۴/۳۲	۰/۳۱	بهار
۷/۸	۱۲	۸/۹	۲۲۷/۱	۰/۳۵	۲/۹	۰/۰۸	تابستان
۷/۸	۱۱/۱	۸/۷	۱۵۴/۶۳	۱/۰۱	۲/۱۶	۰/۰۰۷	پاییز
۸/۱	۱۲/۲	۸/۷	۲۰۱/۲۸	۰/۲۹	۳/۳۱	۰/۰۰۷	زمستان
۷/۹	۱۱/۲	۸/۸	۲۰۲/۰۵	۰/۵۱	۰/۱۷	۰/۱	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱ (اولین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۷ در فصل پاییز و زمستان و حداکثر ۰.۳۱ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار ، نیترات حداقل ۲.۱۶ در فصل پاییز و حداکثر ۴.۳۲ میلی‌گرم در بهار ، یون آمونیوم حداقل ۰.۲۹ در فصل زمستان و حداکثر ۱.۰۱ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۵۴.۶۳ در فصل پاییز، حداکثر ۲۲۵.۲۲ میلی گرم در فصل بهار ، اکسیژن حداقل ۸.۷ در فصل پاییز و زمستان ، حداکثر ۸.۹ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۰.۶ درجه سانتی‌گراد در بهار و حداکثر ۱۲ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و pH حداقل ۷.۸ در تابستان و حداکثر ۸.۱ در زمستان تعیین گردید (جدول ۸).

جدول ۹ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۲

pH	Temp. ($0^{\circ}C$)	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
7.8	**8.3**	**9.3**	**181.9**	**0.3**	**8.69**	**0.017**	بهار
7.8	**9.4**	**9.3**	**179.8**	**0.28**	**5.7**	**0.157**	تابستان
7.4	**10**	**8.5**	**129.5**	**2.5**	**5.7**	**0.011**	پاییز
7.9	**11.2**	**8.6**	**179.3**	**0.24**	**3.2**	**0.004**	زمستان
7.7	**9.7**	**8.9**	**167.6**	**0.8**	**5.8**	**0.047**	میانگین کل سال

و حداکثر ۸.۶۹ میلی‌گرم در بهار ، یون آمونیوم حداقل ۰.۲۴ در فصل تابستان و حداکثر ۲.۵ در مزرعه شماره ۲ (دومین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۱۱ در فصل پاییز و حداکثر ۰.۱۵۷ میلی‌گرم در لیتر در فصل تابستان ، نیترات حداقل ۳.۲ در فصل زمستان میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول

حداقل ۱۲۹.۵ در فصل پاییز، حداکثر ۱۸۱.۹ میلی گرم در فصل بهار ، اکسیژن حداقل ۸/۵ در فصل پاییز ، حداکثر ۹/۳ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۸/۳ درجه سانتی‌گراد در بهار و حداکثر ۱۱.۲ درجه سانتی-گراد در فصل زمستان و پ هاش حداقل ۷.۴ در پاییز و حداکثر ۷.۹ در زمستان تعیین گردید (جدول ۹).

جدول ۱۰ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۳

فصل	Nitrite (mg/l)	Nitrate (mg/l)	$NH4^+$ (mg/l)	TDS (g/l)	DO (mg/l)	Temperature (^0C)	pH
بهار	۰/۰۰۸	۴/۳۶	۰/۱۶	۲۰۴/۵	۸/۶	۱۲/۶	۷/۹
تابستان	۰/۰۱۱	۶/۱	۰/۱۳	۲۰۳/۴	۸/۱	۱۳	۸
پاییز	۰/۰۰۸	۶/۵۷	۲/۶	۱۳۶/۳	۷/۹	۱۲/۶	۷/۷
زمستان	۰/۰۰۵	۵/۳۲	۰/۲۲	۲۰۵	۸/۱	۱۲	۷/۸
میانگین کل سال	۰/۰۰۸	۵/۵۸	۰/۷۷	۲۳۸/۴	۸/۱	۱۲/۵۵	۷/۸

در مزرعه شماره ۳ (سومین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۸ در فصل بهار و پاییز و حداکثر ۰.۰۱۱ میلی‌گرم در لیتر در فصل تابستان ، نیترات حداقل ۴.۳۶ در فصل بهار و حداکثر ۶.۵۷ میلی-گرم در پاییز ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۳ در فصل تابستان و حداکثر ۲.۶ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۳۶.۳در فصل پاییز، حداکثر ۲۰۵ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن حداقل ۷.۹ در فصل پاییز، حداکثر ۸.۶ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۲ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۲.۶ درجه سانتی‌گراد در فصل پاییز و پ هاش حداقل ۷.۷ در پاییز و حداکثر ۸ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۰).

جدول ۱۱ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۴

فصل	Nitrite (mg/l)	Nitrate (mg/l)	$NH4^+$ (mg/l)	TDS (g/l)	DO (mg/l)	Temperature (^0C)	pH
بهار	۰/۰۰۶	۱۰/۷	۰/۲۴	۲۵۸	۷/۱	۱۷	۷/۶
تابستان	۰/۰۰۶	۱۰/۵۵	۰/۱۴	۲۳۹/۸	۷/۱	۱۷/۲	۷/۶
پاییز	۰/۰۰۹	۱۰/۵۷	۳/۶۱	۱۸۵/۳	۷/۶	۱۷/۳	۷/۵
زمستان	۰/۰۲۳	۸/۴۷	۰/۲۱	۲۳۹/۳	۷/۱	۱۷	۷/۶
میانگین کل سال	۰/۰۱۱	۱۰/۰۷	۱/۰۵	۲۴۴/۱	۷/۲	۱۷/۱	۷/۶

در مزرعه شماره ۴ (چهارمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۶ در فصل بهار و تابستان و حداکثر ۰.۰۲۳ میلی‌گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حداقل ۸.۴۷ در فصل زمستان و حداکثر ۱۰.۷ میلی‌گرم در بهار ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۴ در فصل تابستان و حداکثر ۳.۶۱ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۸۵.۳در فصل پاییز، حداکثر ۲۹۳.۸ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن حداقل ۷.۱ در فصل بهار و تابستان و زمستان ، حداکثر ۷.۶ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۷ درجه سانتی‌گراد در بهار و زمستان و حداکثر ۱۷.۳ درجه سانتی‌گراد در فصل پاییز و پ هاش حداقل ۷.۵ در پاییز و حداکثر ۷.۶ در بهار و تابستان و زمستان تعیین گردید (جدول ۱۱).

جدول ۱۲ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۵

فصل	Nitrite (mg/l)	Nitrate (mg/l)	$NH4^+$ (mg/l)	TDS (g/l)	DO (mg/l)	Temperature (^0C)	pH
بهار	۰/۰۰۷	۱۱/۳	۰/۲۵	۲۵۸/۲	۷/۴	۱۷/۲	۷/۵
تابستان	۰/۰۹	۱۱/۷	۰/۱۷	۲۷۷/۴	۷/۴	۱۷/۳	۷/۵
پاییز	۰/۰۱۱	۱۱/۲	۰/۱۱	۲۶۷	۷/۶	۱۶/۸	۷/۵
زمستان	۰/۰۴۱	۹/۴۵	۰/۱۹	۲۴۹/۲	۷/۴	۱۷	۷/۴
میانگین کل سال	۰/۰۳	۱۰/۹	۰/۱۸	۲۶۲/۹	۷/۴۵	۱۷/۰۷	۷/۴۷

در مزرعه شماره ۵ (پنجمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۷ در فصل بهار و حداکثر ۰.۰۹ میلی‌گرم در لیتر در فصل تابستان ، نیترات حداقل ۹.۴۵ در فصل زمستان و حداکثر ۱۱.۷ میلی-گرم در تابستان ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۱ در فصل پاییز و حداکثر ۰.۲۵ میلی‌گرم در فصل بهار ، مواد جامد محلول حداقل ۲۴۹.۲در فصل زمستان ، حداکثر ۲۷۷.۴ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن حداقل ۷.۴ در فصل بهار و تابستان و زمستان ، حداکثر ۷.۶ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۶.۸ درجه سانتی‌گراد در پاییز و حداکثر ۱۷.۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۷.۴ در زمستان و حداکثر ۷.۵ در بهار و تابستان و پاییز تعیین گردید (جدول ۱۲).

جدول ۱۳ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۶

pH	Temp. (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	بهار
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	تابستان
۷/۹	۱۸	۷/۵	۳۸۷/۸۵	۰/۰۸	۱۱/۶	۰/۰۰۹	پاییز
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	زمستان
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۶(ششمین مزرعه استان فارس)، به علت تعطیلی مزرعه بمنظور ساخت و ساز و مشکلات مدیریتی تنها در فصل پاییز نمونه برداری به عمل آمد.(جدول ۱۳).

جدول۱۴ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۷

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
۷.۱	15.1	7.7	234.3	0.51	6.89	0.004	بهار
7.1	14	8	224	0.1	8.12	0.006	تابستان
7.2	14	7.3	149.8	2.95	8.58	0.013	پاییز
7.1	13.9	8.3	244.9	0.21	8.99	0.01	زمستان
7.1	14.2	7.8	213.2	0.9	8.14	0.008	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۷ (هفتمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل 0.004 در فصل بهار و حداکثر 0.01 میلی‌گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حداقل ۶.۸۹ در فصل بهار و حداکثر ۸.۹۹ میلی‌گرم در زمستان ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱ در فصل تابستان و حداکثر ۲.۹۵ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۴۹.۸در فصل پاییز ، حداکثر ۲۴۴.۹ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن حداقل ۷.۳ در فصل پاییز ، حداکثر ۸.۳ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۳.۹ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۵.۱ درجه سانتی‌گراد در فصل بهار و پ هاش حداقل ۷.۱ در بهار و تابستان و زمستان و حداکثر ۷.۲ در پاییز تعیین گردید (جدول ۱۴).

جدول۱۵ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۸

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
8	13.8	9.1	236.3	0.11	6.82	0.006	بهار
7.4	14.3	7.7	254.3	0.1	8.6	0.005	تابستان
7.6	13.6	7.9	177.1	3.07	8.9	0.008	پاییز
8.1	13.8	9.1	215.2	0.2	8	0.008	زمستان
7.7	13.8	8.4	220.7	0.8	8.08	0.006	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۸ (هشتمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل 0.005 در فصل تابستان و حداکثر ۰/۰۰۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل پاییز و زمستان ، نیترات حداقل ۶.۸۲ در فصل بهار و حداکثر ۸.۹ میلی‌گرم در پاییز ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱ در فصل تابستان و حداکثر ۳.۰۷ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۷۷.۱در فصل پاییز ، حداکثر ۲۵۴.۳ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن حداقل ۷.۷ در فصل تابستان ، حداکثر ۹.۱ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۳.۶ درجه سانتی‌گراد در پاییز و حداکثر ۱۳.۸ درجه سانتی‌گراد در فصل بهار و زمستان و پ هاش حداقل ۷.۴ در تابستان و حداکثر ۸.۱ در زمستان تعیین گردید (جدول ۱۵).

جدول۱۶ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۹

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
7.1	15.5	8	267.8	0.11	6.02	0.004	بهار
7.3	15	7.6	238.5	0.2	7.34	0.009	تابستان
7.3	14.7	7.5	155	2.56	6.4	0.008	پاییز
7.1	14.2	8	297.5	0.13	6.16	0.007	زمستان
7.2	14.8	7.7	239.5	0.7	6.48	0.007	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۹ (نهمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل 0.004در فصل بهار و حداکثر 0.008 میلی‌گرم در لیتر در فصل پاییز ، نیترات حداقل ۶.۰۲ در فصل بهار و حداکثر ۷.۳۴ میلی‌گرم در تابستان ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۱ در فصل بهار و حداکثر ۲.۵۶ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۵۵در فصل پاییز ، حداکثر ۲۹۷.۵ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن حداقل ۷.۵ در فصل

پاییز ، حداکثر ۸ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۴.۲ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۵.۵ درجه سانتی‌گراد در فصل بهار و پ هاش حداقل ۷.۱ در بهار و زمستان و حداکثر ۷.۳ در تابستان و پاییز تعیین گردید (جدول ۱۶).

جدول۱۷ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱۰

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
7.4	13.3	8.1	261.6	0.2	4.97	0.005	بهار
7.6	11.9	8.4	281.6	0.12	3.96	0.008	تابستان
7.8	11.7	7.9	182.3	1.3	6.4	0.007	پاییز
7.1	10	8	241.15	0.18	3.9	0.006	زمستان
7.4	11.7	8.1	241.6	0.45	4.8	0.006	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱۰ (دهمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل 0.005 در فصل بهار و حداکثر 0.008 میلی‌گرم در لیتر در فصل تابستان ، نیترات حداقل 3.9 در فصل زمستان و حداکثر 6.4 میلی‌گرم در پاییز ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۲ در فصل تابستان و حداکثر ۱.۳ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۸۲.۳در فصل پاییز ، حداکثر ۲۸۱.۶ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن حداقل ۷.۹ در فصل پاییز ، حداکثر ۸.۴ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۰ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۳.۳ درجه سانتی‌گراد در فصل بهار و پ هاش حداقل ۷.۱ در زمستان و حداکثر ۷.۸ در پاییز تعیین گردید (جدول ۱۷).

جدول۱۸ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱۱

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^+$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
7.7	14.6	7.4	435.4	0.24	2.3	0.009	بهار
8.1	18.3	6.6	508.7	0.37	8.4	0.005	تابستان
7.4	14.7	7.2	334	4.4	1.4	0.005	پاییز
7.5	14.5	6.9	460.3	0.5	6.3	0.014	زمستان
7.6	15.5	7	434.6	1.3	4.6	0.008	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱۱ (یازدهمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۵ در فصل تابستان و پاییز و حداکثر ۰.۰۱۴ میلی‌گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حداقل ۱.۴ در فصل پاییز و حداکثر ۸.۴ میلی‌گرم در تابستان ، یون آمونیوم حداقل ۰.۲۴ در فصل بهار و حداکثر ۴.۴ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۳۳۴ در فصل پاییز ، حداکثر ۴۶۰.۳ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن حداقل ۶.۶در فصل تابستان ، حداکثر ۷.۴ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۴.۵ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۸.۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۷.۴ در پاییز و حداکثر ۸.۱ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۸).

جدول۱۹ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱۲

pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^{+}$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
8.1	13.1	9.1	240.6	0.19	5.5	0.005	بهار
8.2	13.7	7.6	236.7	0.13	5.4	0.006	تابستان
7.5	12.8	8.1	146.3	2.27	6.5	0.007	پاییز
8.3	12.2	8.1	250.5	0.19	5.8	0.005	زمستان
8.02	12.9	7.9	218.5	0.6	5.8	0.005	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱۲ (دوازدهمین مزرعه استان فارس)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰.۰۰۵ در فصل بهار و زمستان حداکثر ۰.۰۰۷ میلی‌گرم در لیتر در فصل پاییز ، نیترات حداقل ۵.۴ در فصل تابستان و حداکثر ۶.۵ میلی‌گرم در پاییز ، یون آمونیوم حداقل ۰.۱۳ در فصل تابستان و حداکثر ۲.۲۷ میلی‌گرم در فصل پاییز ، مواد جامد محلول حداقل ۱۴۶.۳در فصل پاییز ، حداکثر ۲۵۰.۵ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن حداقل ۷.۶ در فصل تابستان ، حداکثر ۸.۱ میلی‌گرم در لیتر، درجه حرارت حداقل ۱۲.۲ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۳.۷ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۷.۵ در پاییز و حداکثر ۸.۳ در زمستان تعیین گردید (جدول ۱۹).

جدول ۲۰ : میانگین سالانه میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی منتخب استان فارس

مزارع	pH	Temperature (^{0C})	DO (mg/l)	TDS (g/l)	$NH4^{+}$ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)
۱	7.9	11.2	8.8	202.05	0.51	3.17	0.1
۲	7.7	9.7	8.9	167.6	0.8	5.8	0.047
۳	7.8	12.5	8.1	238.4	0.77	5.58	0.008
۴	7.6	17.1	7.2	244.1	1.05	1.07	0.011
۵	7.47	17.07	7.45	262.9	0.18	10.9	0.03
۶	7.9	18	7.5	387.85	0.08	11.6	0.009
۷	7.1	14.2	7.8	213.2	0.9	8.14	0.008
۸	7.7	13.8	8.4	220.7	0.8	8.08	0.006
۹	7.2	14.8	7.7	239.5	0.7	6.48	0.007
۱۰	7.4	11.7	8.1	241.6	0.45	4.8	0.006
۱۱	7.6	15.5	7	434.6	1.3	4.6	0.008
۱۲	8.02	12.9	7.9	218.5	0.6	5.8	0.005

در بررسی آماری نتایج جهت بررسی تأثیرگذاری برخی از متغییرهای کمی از جمله نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی آب، شمارش کلی باکتریهای هوازی آب، بر بروز یا عدم بروز استرپتوکوکوزیس از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

رگرسیون لجستیک (Logistic Regression)

جهت بررسی تاثیرگذاری برخی از متغییرهای کمی از جمله نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن بر بروز یا عدم بروز بیماری از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

براساس نتایج بدست امده و با استناد به اینکه عدد (۱) برای وقوع بیماری و عدد (۰) برای عدم وقوع بیماری استرپتوکوک همراه بامدل Backward ; Wald در نظرگرفته شده بود، چنین به نظر میرسد که طبقه بندی انجام شده ۸۲.۱ درصد موارد را پوشش می دهد. نتایج آزمون های مختلف مستقلا و نیز به صورت کلی در انتها بررسی گردیدند. چنین بنظر می رسد که متغیرهای مستقل تعریف شده بر متغیر وابسته تاثیر داشته و آزمون مربوطه نشان دهنده برازش مناسبی از مدل در سطح معنی داری $\alpha=0.01$است (Wald: 455.39) . از طرفی دیگر مربع کای در سطح $\alpha=0.01$ برابر با ۱۷۴.۷۳ گردیده که برازش مناسبی را نشان می دهد. نتایج نشان می دهند که Nagelkereke R – square درمرحله ۴ برابر با ۲۰۱. گردیده است ، محتمل است تبیین تغییرات متغییر وابسته از روی متغییرهای مستقل در رگرسیون لجستیک حدود ۲۰.۱ درصد گردد. به عبارتی دیگر تنها ۲۰.۱این تغییرات

توسط مدل قابل بررسی است و احتمالا عوامل دیگر یا دیگری نیز دخیل هستند که میتوانند این درصد را افزایش دهند. حساسیت مدل در تفسیر تغییرات به صورت کلی ۸۲.۱٪ است.

در خاتمه و با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{P}{1-p}\right\} = -۱۲/۱۱ + ۱/۸۶۷\ \text{pH} + ۲/۱۷۲\ \text{Yersinia} + ۰/۳۰۰\ \text{TDS}$$

با توجه به نتایج فوق تاثیر گذاری حضور یرسینیوزیس در بروز استرپتوکوکوزیس بسیار بالا بوده وتقریبا با یک بار مشاهده یرسینیوزیس، ۲.۱۷ برابر در احتمال وقوع بیماری استرپتوکوکوزیس تغییر ایجاد می شود. به همین ترتیب به ازای هر یک درجه افزایش pH ، ۱.۸۶۷ درجه در بروز بیماری و به ازای هر یک واحد افزایش شفافیت ، ۰.۳۰۰ – درجه در میزان بروز بیماری تاثیر می نماید(کاهش مییابد).

لذا به طور کلی به نظر میرسد در بروز بیماری استرپتوکوک عوامل مدیریتی و بهداشتی در سطح مزرعه از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده و البته ارزیابی این فاکتورها نشان از اهمیت بالای حضور باکتری یرسینیوزیس است که به صورت تصادفی در تحقیق مشاهده شد. این موضوع همستگی تنگاتنگ حضور یرسینیا راکری در معادله لوجیت استرپتوکوکوزیس را نشان می دهد. به طوریکه با افزایش حضور یرسینیا بیماری استرپتوکوکوزیس محتمل تر خواهد شد.

لذا به طور کلی به نظر می‌رسد در بروز استرپتوکوکوزیس عوامل مدیریتی و بهداشتی در سطح مزرعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده وارزیابی آنان بسیار مهم است.

بطور کلی نتایج بدست آمده مؤید این مطلب است که عواملی از جمله میزان نیتریت، درجه حرارت و اکسیژن محلول در آب و نیز ماههای سال (فصول) که باز بیشتر به درجه حرارت مرتبط می‌شود به میزان ۲۰٪ بروز استرپتوکوکوزیس را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

۴-۱-بحث

استرپتوکوکوزیس از بیماریهای مهم باکتریایی است، هر چند که در لیست بیماریهای مهم اخطار کردنی سازمان OIE نیست (Eldar and Ghittino, 1999) ولی از چالش های بهداشتی و بیماری مهم صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی در سالهای اخیر بوده است بطوریکه در برخی مواقع سال (فصول گرم) موجب بروز تلفات دراغلب مراکز پرورش ماهیان سردآبی استانهای صاحب این صنعت (گیلان، مازندران، لرستان، فارس وکهگیلویه و بویراحمد و تهران) گردیده است (اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶ ؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷و Soltani et al., 2008 و pourgholam et al.1389) همچنین این بیماری به شکل همه‌گیر در ماهیان آب شیرین و دریایی در اکثر نقاط دنیا و از کشورهای مختلف شامل آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس، نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره گزارش شده است(Bromage& Owens 2002). این بیماری به عنوان بیماری ورشکستگی نامگذاری شده زیرا در فرم حاد می‌تواند تا ۷۰ درصد تلفات را در ماهیان مبتلا موجب گردد (۱۳۸۱ نامداری، سعیدی و همکاران۱۳۸۹،Bromage et al. 1999،Inlgis et al. 1993، Yanong & Floyd, 2002، Shoemaker, et al., 2006; Garcia, et al., 2008; Romalde, et al., 2008). طی این تحقیق مشخص شد که ۲۳۰ قطعه از ۵۸۶ قطعه ماهی دارای علائم بیماری (۳۹.۲۴ ٪) و ۱۰ قطعه از ۷۵۴ قطعه ماهی و بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۱.۳۲٪)، آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند و از طرفی ۱۵۶ عدد از ۵۸۶ عدد ماهی پرواری دارای علائم بیماری (۲۶.۶۲ ٪) و ۶۰ عدد از ۷۵۴ عدد ماهی پرواری و بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۷.۹۵٪)، آلوده به باکتریهای گرم منفی بودند.مقایسه نتایج این مطالعه با نتایج مطالعاتی که قبلا انجام شده است ، نشان می دهد که میزان و در صد آلودگی بسیار بیشتر شده است. در یکی از این مطالعات دکتر پورغلام (سالهای ۸۷ و ۸۸) در استان مازندران که از ۷۲ عدد ماهی واجد علائم بالینی، تنها از ۵ عدد (۷ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد و دکتر نامداری (۱۳۸۱) در استان فارس که از ۲۴۰ نمونه ماهی واجد علائم بالینی تنها از ۲۸ عدد ماهی (۱۳ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد، یک اختلاف درصدی بسیاری را نشان می دهد.ولی با تحقیق دکتر ترحمی و سلطانی همخوانی دارد.(در مطالعه‌ی دو ساله بر روی عوامل رایج استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در استان فارس، از ۴ مزرعه ۶۰۰ عدد ماهی واجد علائم بالینی نمونه-برداری و از کلیه، مغز و کبد آنها کشت تهیه گردید. در مجموع ۴۸۰ پرگنه مثبت به استرپتوکوکوزیس بدست آمد (۸۰ ٪) که از این تعداد ۳۹۰ نمونه S. iniae (۸۲ ٪) و ۹۰ نمونه L. garvieae (۱۸ درصد) شناسایی شدند و از طرفی کشت باکتریایی ۲۰ درصد ماهیان واجد علائم منفی بود (Soltani & Tarahomi ۲۰۰۹). در بررسی تعداد دیگری در استان اصفهان ۷۲ عدد ماهی با وزن ۲۰۰ – ۱۵۰ گرم واجد علائم بالینی از ۶ مزرعه پرورش قزل-آلای رنگین کمان نمونه‌برداری و در آزمایشگاه از بافت‌های ۱۰۰ درصد کلیه و کبد آنها کشت میکروبی انجام دادند. باکتری استرپتوکوکوس جداسازی شد (Mohammadi Arani وMoghadas ۲۰۰۹). به نظر می‌رسد این اختلاف درصد حضور بیماری استرپتوکوکوزیس دراستان فارس در سالهای قبل با سالهای ۹۱ و ۹۲ به دلایلی

مثل ،خشکسالی های چندین ساله ، درجه حرارت آب، برخی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب، عدم تغییر و هر گونه اصلاح در کیفیت آب مورد استفاده ، عدم استفاده از عوامل پیشگیرانه (محرک‌های ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی، اصلاح جیره غذایی، عدم اصلاح مدیریت جابجای تخم، لارو، بچه ماهی و ماهی پرواری و عدم قرنطینه مناسب و مدیریت پرورش در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس باشد و اختلاف درصد حضور بیماری استرپتوکوکوزیس در استان با مزارع استان‌های دیگر ، به نظر می‌رسد مربوط به درجه حرارت آب مورد استفاده باشد. از عوامل اصلی دیگر اختلاف می‌توان به کاهش دبی آب چشمه‌های مورد استفاده در فصول گرم سال و به دنبال آن کاهش میزان اکسیژن محلول در آب، تغییرات کیفی آب اشاره کرد (نامداری ۱۳۸۱). از نتایج دیگر این بررسی جداسازی یک باکتری باسیلی شکل گرم منفی از ۲۶.۶۲٪ درصد ماهیان پرواری واجد علائم بالینی و ۷.۹۵٪ ماهی و بچه ماهیان فاقد علائم بیماری بود که در شناسایی های بعدی جنس یرسینیا جداسازی گردید. نتیجه اینکه در مجموع از ۶۵.۸۶ درصد ماهیان بیمار دارای علائم و نشانه‌های بالینی عوامل باکتریایی جداسازی شد در حالیکه از ۳۴.۱۴ درصد ماهیان بیمار با علائم بالینی مشابه، کشت باکتریایی آنها منفی بود. در مجموع با بررسیهای کمی انجام شده از کل ۶۵.۸۶ درصد ماهیان واجد علائم بالینی که کشت باکتریایی آنها مثبت بود ، میزان ۳۹.۲۴ درصد آنها مبتلا به استرپتوکوکوزیس بودند و بیماری فوق به همراه بیماری یرسینیوزیس هنوز بعنوان یک تهدید کننده کلی سلامت در مزارع آبزی پروری استان می باشد. نکته دیگری که باید به آن اشاره کرد عدم جداسازی هر گونه باکتری بیماریزا از ۳۴.۱۴ درصد ماهیان پرواری دارای علائم بالینی بود و این امر باید بیشتر مورد توجه دامپزشکان مسئول بهداشت مزارع قرار گیرد، زیرا در نگاه اول با مشاهده علائم بالینی در ماهیان، ممکن است به اشتباه ما را در تشخیص به یک بیماری عفونی باکتریایی هدایت کند که نتیجه آن تجویز آنتی بیوتیک است که این کار نه تنها بیماری را کنترل نمی‌کند بلکه موجب افزایش مقاومت دارویی باکتریهای محیطی شده و نیز ضرر اقتصادی بیشتری به پرورش دهنده وارد می‌نماید. همچنین استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیکها و در پی آن باقی ماندگی دارویی در گوشت ماهی بهداشت انسانی را نیز تهدید می‌کند. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده ضروری است با مشاهده علائم بالینی حتماً اقدام به انجام آزمایشات باکتری شناسی شده و نیز سایر عوامل مثل کیفیت جیره مصرفی و یا فاکتورهای محیطی مورد بررسی قرار گیرد.

بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرواری واجد علائم بالینی به باکتری استرپتوکوک به ترتیب ۱۰۰ ، ۹۰ ، ۵۰ ، ۱۶.۶ درصد و در مزارع ۱۱ ، ۷ ، ۴ ، ۵ مشاهده گردید و در ۸ مزرعه دیگر دیده نشد (جدول ۵).

۱- استرپتوکوکوزیس در استان فارس در تمام مزارع منتخب مورد بررسی گردیده و تاثیر گذاری حضور یرسینیوزیس در بروز استرپتوکوکوزیس بسیار بالا بوده و تقریبا با یک بار مشاهده یرسینیوزیس ، ۲/۱۷ برابر در احتمال وقوع بیماری استرپتوکوکوزیس تغییر ایجاد می شود. به همین ترتیب به ازای هر یک درجه افزایش PH ، ۱/۸۷۶ درجه در بروز بیماری تاثیر دارد .

۲- ماهیان قزل‌آلای پرواری در مقایسه با بچه ماهیان حساسیت بیشتری نسبت به بیماری داشتند.
۳- با توجه به مشخص شدن آلودگی به استرپتوکوک در ماهیان پرواری و بچه ماهیان به ظاهر سالم بنظر میرسد که این گونه ماهیان به عنوان ناقل عمل کرده و مهمترین نقش را در انتقال بیماری از یک مزرعه به مزرعه دیگر بازی می‌کنند و متأسفانه این جابجائیها بدون انجام هرگونه تمهیدات بهداشتی در استان به کرات اتفاق می‌افتد.

در ماهیان واجد علائم بالینی طیف متنوعی از علائم غیرطبیعی مشاهده گردید که شامل:
شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خون‌ریزی در اطراف چشم، صفحه آبششی، قاعده باله‌های شکمی و مخرجی، اتساع محوطه بطنی، زخم در پوست، خون‌ریزی در دهان، خونریزی در عضلات، کیسه شنا، پرخونی کلیه و طحال رنگ‌پریدگی و بزرگ شدن کبد، آب‌آوردگی شکم و در مواردی بروز خون‌ریزی در سطح روده، کبد و قلب مشاهده شد. لیکن نمی‌توان به صراحت گفت که علائم اختصاصی استرپتوکوکوزیس کدام بوده است زیرا در این بررسی به غیر از باکتری استرپتوکوک، باسیل های گرم منفی (یرسینیا) از بافت کلیه جداسازی شد. همچنین باید در نظر داشت که ۳۴.۱۴ درصد ماهیان واجد علائم از نظر کشت باکتری منفی بودند، که باید علل ایجاد کننده این علائم را در مدیریت تغذیه و آب جستجو کرد. هرچند علائم بالینی مشاهده شده در بسیاری از مطالعات دیگر نیز آمده است (Yanong & Floyed ۲۰۰۲؛ Salvador و همکاران، ۲۰۰۵ ؛ Eldar et al.,۱۹۹۷ ؛ Bromage et al.,۱۹۹۹؛ Bromage & Owens, ۲۰۰۲؛ Pourgholam et al.,2010؛ Saeedi et al.,2009؛ Soltani et al.2005- 2008 ؛ Amal و Zamri-saad ۲۰۱۱. اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶ ؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ نامداری، ۱۳۸۱) لیکن نمی‌توان صرفاً بر اساس علائم بالینی به تشخیص قطعی استرپتوکوکوزیس رسید.

در این مطالعه از ۵۸۶ قطعه ماهی پرواری بیمار (واجد علائم بالینی) مورد بررسی، ۲۳۰ مورد (۳۹.۲۴درصد) و از ۷۵۴ قطعه ماهی پرواری و بچه ماهی سالم (فاقد علائم بالینی)، ۱۰ مورد(۱.۳۲ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند. باکتری استرپتوکوک جداسازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس اینیائی و *Strep.sp* شناسایی گردید.
یکی از عوامل مهم و تأثیر گذار در بروز بیماریهای باکتریایی ماهی وجود استرس است که می‌تواند ناشی از شرایط محیطی باشدکه از جمله می‌توان به درجه حرارت آب که متأثر از درجه حرارت هواست و تغییرات PH اشاره کرد. میانگین درجه حرارت آب مزارع منتخب (جدول ۲۰) که در چهار فصل مورد بررسی قرار گرفت که میانگین درجه حرارت آب در مزرعه شماره ۴ و ۵ بالاتر از ۱۷ درجه سانتیگراد و مزارع شماره ۷ و ۹ و ۱۱ بیش از ۱۴.۲ درجه سانتیگراد بوده و در کلیه این مزارع آلوده میانگین تغییرات PH نیز در بروز استرپتوکوکوزیس تاثیر داشته است. و بر اساس مدل لوجیت به ازای افزایش یک درجه افزایش PH ، ۱.۸۶۷ درجه در بروز بیماری تاثیر داشته است. همچنین مطالعات دیگر محققین نیز نشان داده است که درجه حرارت

بیش از ۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌تواند با افزایش تکثیر و قدرت بیماریزایی باکتری در انتشار و گسترش بیماری مورد نظر نقش داشته باشد (Eldar و Ghittino ۱۹۹۹). Inglis et al درمطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادکه بین استرس های محیطی به ویژه درجه حرارت آب و فصل که به درجه حرارت آب نیز مرتبط است و بروز استرپتوکوکوزیس، ارتباط معنی دار وجود دارد بطوریکه باعث تلفات ۵۰ درصدی در ماهی می‌گردد . Sepahi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی اثر درجه حرارت آب بر میزان بازماندگی ماهی قزل‌آلا در مواجهه با دزهای مختلف باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که پس از ۲ – ۳ روز علائم بالینی ظاهر شده و میزان بازماندگی با افزایش دز را تا ۱۳ درصد گزارش کردند و حال آنکه در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد میزان بازماندگی در مقایسه با دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد دارای اختلاف معنی‌دار بود و بین ۲ تا ۳ برابر در شرایط یکسان (دز مساوی) میزان ماندگاری ماهی در درجه حرارت ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیشتر است. Hamid و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که بین بروز و شیوع این بیماری با درجه حرارت آب (۱۸ درجه سانتی‌گراد) رابطه معنی‌دار وجود دارد. درجه حرارت آب نه تنها در ماهیان سردآبی موجب افزایش حساسیت به عفونت استرپتوکوکی می‌گردد، بلکه در ماهیان گرمابی نظیر تیلاپیا نیز افزایش درجه حرارت و در حرارت بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد بروز بیماری و تلفات ناشی ازآن بسیار بیشتر از حرارت زیر ۳۰ درجه سانتی‌گراد است (Rodkhum و همکاران ۲۰۱۱. و Blv و Clem ۱۹۹۲).

یکی دیگر از عوامل مستعد کننده این بیماری که با حرارت نیز در ارتباط است، اکسیژن محلول در آب و میزان نیتریت در آب نیز مهم می باشد. Inglis et al. درمطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادند که بین استرس های محیطی به ویژه کیفیت بد آب از نظر میزان نیتریت و آمونیاک رابطه معنی‌دار وجود دارد.، لذا به طور کلی به نظر می‌رسد در بروز استرپتوکوکوزیس عوامل مدیریتی و بهداشتی (رقم بندی و یا سورتینگ، آمونیاک غیریونیزه، تراکم، میزان رسوب کف استخر، سرعت آب داخل استخر، کیفیت غذای مصرفی، تعدا د باکتری استرپتوکوک در واحد حجم آب، جابجایی بچه ماهی، نگهداری ماهی در دو اقلیم متفاوت مثلاً دشت و کوهستان با درجه حرارت و کیفیت آب متفاوت، استفاده از ابزار مشترک در جابجایی، وسایل حمل و نقل، نوعی بچه ماهی وتفاوت در نوع جمعیت ماهی پرورشی و اندازه ماهی، نظافت استخر، عدم قرنطینه بچه ماهی و ... خریداری شده در زمان رها سازی) در سطح مزرعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده است ،که در مطالعه ما با توجه به حجم کار و تغییر وضعیت موجود و عدم ثبات پارامتر های مذکور در طول زمان بررسی مد نظر قرار نگرفت به رغم اینکه از نظر ارزیابی بسیار مهم بوده است. نتیجه آنکه استرپتوکوکوزیس در حال حاضر در استان فارس به همراه بیماری یرسینیوزیس، یکی از چالشهای مطرح در صنعت آبزی پروری استان فارس می باشد.

پیشنهادها

۱- درصد تلفات با نوع استرپتوکوک مشاهده شده در دیگر استانهای شیلاتی مثل چهار محال، یاسوج، کرمانشاه، لرستان و مازندران و آذربایجان بررسی گردد، تا براساس اهمیت نوع استرپتوکوک هرگونه برنامه ریزی های کنترلی انجام شود.

۲- اجرای برنامه های مدیریت های پرورش، مدیریت بهداشتی به ویژه اجرای قرنطینه در اولویت کنترل این بیماری قرار گیرد.

۳- به نظر می رسد ، استفاده از پروبیوتیک ها و دیگر محرک های ایمنی برای کنترل بیماری و جلوگیری از خسارتهای احتمالی زیاد ناشی از آن مؤثر می باشد.

۴- به صرف مشاهده علائم بالینی در ماهی، استفاده از آنتی‌بیوتیک حداقل تا ۵۰ درصد، نه تنها استفاده‌ای نخواهد داشت، بلکه ضرر نیز دارد.

۵- برگزاری جلسات و یا برگزاری کارگاههای آموزشی جهت انتقال یافته های این بررسی، برای کاربران اصلی (پرورش دهندگان ، کارشناسان شیلات و دامپزشکی استان فارس).

منابع

۱- آذری تاکامی،ق.، ۱۳۶۳. اصول تکثیر و پرورش ماهی، انتشارات روابط عمومی وزارت جهاد کشاورزی، ۱۵۲ صفحه – صفحه .۳۸

۲- آذری تاکامی ، ق . ۱۳۸۵. مدیریت بهداشتی و روشهای پیشگیری و درمان بیماریهای ماهی . انتشارات پریور. ویرایش دوم با ضمیمه بیماری استرپتوکوکوس . ۳۱۲ صفحه

۳- اخلاقی. مصطفی، محمد کشاورزی، ۱۳۸۱، وقوع استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش قزل آلای استان فارس، مجله تحقیقات دامپزشکی ایران، دانشگاه شیراز، دوره سوم، شماره دوم، ۱۹۰ – ۱۸۳

۴- اینگلیس،ر.ج . روبرت،ن.ر. و برومیج .?. بیماریهای باکتریایی ماهی .سلطانی، م . ۱۳۷۵ . انتشارات سازمان دامپزشکی کشور . ۵۳۱ صفحه

۵- پورغلام، رضا، علی مکرمی رستمی، علی اصغرسعیدی، عیسی‌شریف‌پور، احمد غرقی، حمزه پورغلام،۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بعضی از بافت‌ها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم، شماره ۲ ، ۱۸ – ۹

۶- جی . پست.؟. بهداشت ماهی .ستاری،م. و روستایی، م.، ۱۳۷۷ . انتشارات دانشگاه گیلان. ۲۸۴

۷- ستاری م. ماهی شناسی (۱). چاپ اول، انتشارات نقش مهر، ۱۳۸۱؛ ۱۸۶-.۱۶۲

۸- سلطانی، م . ، ۱۳۸۰ . بیماریهای آزاد ماهیان . انتشارات دانشگاه تهران.۴۴۴ صفحه

۹– سلطانی، مهدی و غلامرضا نیکبخت بروجنی، ۱۳۸۶، استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل آلای ایران، مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، ۲۵ – ۲۳ بهمن ۱۳۸۶، اهواز، ایران، ۴

۱۰- عمادی، حسین، ۱۳۸۴، تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا و آزاد، نشر آبزیان

۱۱- عمادی ح. تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا و آزاد. چاپ هشتم، انتشارات علمی آبزیان، ۱۳۸۶؛ ۸-.۱

۱۲- فریکس، ن . و میلر ، الف. ?. جداسازی و شناسایی عوامل بیماریزای باکتریایی در ماهی. سلطانی، م . شریف پور، ع . و قیاسی، م .۱۳۸۳ . انتشارات بین الملل شمس . ۹۴ صفحه

۱۳- فرزانفر ع. تکثیر و پرورش آزادماهیان. چاپ اول، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۸۴؛ ۶-۳ و ۵۱-.۳۲

۱۴- فقانی، ط.، ۱۳۸۵ . پایان نامه کارشناسی ارشد، اثر ارگوسان Aquavac Ergosan و واکسن Aquavac Garvetil بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، تحریک سیستم ایمنی و رویارویی با باکتری استرپتوکوک در قزل آلای رنگین کمان ، ۱۲۳ صفحه. صفحات ۱ و ۴.

۱۵- قلی پور کنعانی، حسنا، داور شاهسونی، احمد رضا موثقی، ۱۳۸۶، مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، ۲۵ – ۲۳ بهمن ۱۳۸۶، اهواز، ایران،۱۵

۱۶- قیاسی، مریم ، آذین زاهدی، حسینعلی خوشباور رستمی، ۱۳۷۹، بروز اپیدمی استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis) در ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان، اولین همایش بهداشت و بیماریهای آبزیان، ۲۷ – ۲۵ بهمن، اهواز، ایران، ۵۲

۱۷– قیاسی، مریم وآذین زاهدی، ۱۳۸۶، شناسایی عوامل بیماریزا در مزارع تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران، سمیتار ملی زیست شناسی، ۲۴ – ۲۶ اردیبهشت ۱۳۸۶، مرند، ایران، ۱۱۱

۱۸- لاوسون ت و جعفری باری م. اصول مهندسی آبزیان. چاپ اول، معاونت تکثیر وپرورش آبزیان،۱۳۸۰؛۳۱-۶۵

۱۹- لیف، م. و پیرس، ب. ؟. اطلس رنگی میکروبشناسی عملی.سعیدی اصل، م . صفری، ر. و میرزایی، ح. ۱۳۸۱. انتشارات نشر جهانکده . ۱۴۷ صفحه

۲۰- مظلومی، م.، ۱۳۸۲. استرپتوکوکوز، انتروکوکوز : بیماریهای مهم اقتصادی در پرورش ماهی، انتشارات نوید شیراز، چاپ اول . ۹۴ صفحه.

۲۱– موسوی، سید سمانه،۱۳۸۶ بررسی بروز استرپتوکوکوزیس و استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۲۲- ناظم، م.و نادری نسب، م.، ۱۳۶۷. باکتری شناسی پزشکی . انتشارات آستان قدس رضوی . ۳۲۰ صفحه. صفحه ۲۸

۲۳- وثوقی،غ.، مستجیر،ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه – صفحه ۱۳۷ – ۱۳۸

۲۴- وزیری، ب.، ۱۳۶۳. اصول آزمایشهای بیوشیمیایی در میکروب شناسی تشخیصی، انتشارات امیر کبیر، ۱۷۶ صفحه

۲۵– هوشمند، الهام و حمید حقیقی، ۱۳۸۸، استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه عامل استرپتوکوکوزیس در یک مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان در غرب گیلان، نخستین همایش ملی ماهیان سردآبی، ۲۴ – ۲۲ اردیبهشت ۱۳۸۸، تنکابن، ایران، ۱۱۴.

26- Agnew, W. and Barnes, A.C., 2007. *Streptococcus iniae*: An aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination, Journal of Veterinary Microbiology, Vol.122, pp.1-15.

27- Amal, M.N.A., Zamri-Saad, M., 2011, Streptococcosis in Tilapia (Oreochromis iloticus): A Review, *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*. 34 (2): 195 – 206

28- Austin,B.and Austin,D.1993.Bacterial fish pathogens diseases in farmed and wild fish. Ellis Horwood limited . pp.27-37 and 70-73

29- Austin, B. and Austin, D.A. 1999. Third ed .Chapter 2: Characteristics of the diseases. In Bacterial Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer-Praxis, Praxis Publishing, Ltd .Chichester, cUK. pp 13-15.

30- Baya, A.M., Lupiani,B.,Hetirck, F.M.,Roberson, B. S., Lukacovic, R.,May , E. and Poukish, C. 1990. Association of *Streptococcus sp.* With fish mortalities in the Chesapeake Bay and its tributaries. Journal of Fish Diseases13,251-253

31- Beack. G. W; Kim. J. H; Gomez. D. K; Park. S. C; 2006, Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island, *Journal of Veterinary Science*, 7(1), 53 – 58
32- Bekker. A, Hugo. C, Albertyn. J, Boucher. C. E, Bragg. R. R, Pathogenic Gram-positive cocci in South African rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), *Journal of Fish Diseases*, 34: 483–487
33- Blv.J. E and Clem. L. W, 1992, Temperature and teleost immune functions, *Fish & Shellfish Immunology*,2, 159-171
34- Bond C.Biology of fishes.Oregon state university,1979;85-112.
35-Bowser,P.R.; Wooster,G.A.; Getchell,R.G.; Timmons, M.B.1998. *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility, Journal of the World Aquaculture Society . vol. 29, no. 3, pp. 335-339
36- Boyd CE.Water quality management for pond fish culture.1edition. Amsterdam. Elsevier Science Publishers, 1982; 6-49
37- Bragg. R.R. and Broere J.S.E., 1986, Streptococcosis in rainbow trout in South Africa. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* , 6: 89–91.
38- Brunt,J.and Austin,B.2005.Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rain bow trout , *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) . journal of fish diseases.vol.28,pp.693-701
39- Carson. J; Judkovs. N; Austin. B;1993, Characteristics of an Enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout, (*Oncorhychus mykiss* Walbaum). *Journal of Fish Disease*, 16:381-388
40- Coffey. T. J. ,Pullinger. G. D, Urwin. R, Jolley. K. AWilson. S. M, Maiden. M. C, Leigh. J. A, 2006, First Insights into the Evolution of Streptococcus uberis: a Multilocus Sequence Typing Scheme That Enables Investigation of Its Population Biology, *Applied and Environmental Microbiology*, 1420–1428
41- Colorni, A.A., Diamant, A. Eldar, A. Kvitt, H. and Zlotkin, A. 2002. Streptococcus iniae infections in Red Sea cage-culture and wild fish. Diseases of Aquatic Organism, Vol. 49, pp. 165-170
42- Darwish A.M. and Ismaiel A.A. 2003. Laboratory efficacy of amoxicillin for the control of *Streptococcus iniae* infection in sunshine bass. Journal of Aquatic Animal Health.vol . 15 , pp.209-214
43- Darwish, A.M. and Hobbs, M.S. 2005. Laboratory efficacy of amoxicillin for the control of *Streptococcus iniae* infection in blue tilapia. Journal of Aquatic Animal Health .vol .17 , pp. 197-202
44- Egusa.Sh.,1991,Infectious diseases of fish.English transl., Sakana no Kansensho . Oxonian press Pvt. Ltd. New Delhi, 696 PP
45- Eldar. A., Frealier P.F., Asanta L., Varner P.W., Lawhon S., Bercovier H., 1995, Streptococcus shiloi, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of Streptococcus iniae, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45:840–842.
46- Eldar, A.and Ghittino, C.1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases, journal of Diseases of Aquatic Organisms . vol. 36, no. 3, pp. 227-231
47- Eldar, A.; Horovitcz, A. and Bercovier, H. 1997. Development and efficacy of a vaccine against Streptococcus iniae infection in farmed rainbow trout, journal of VET. IMMUNOL. IMMUNOPATHOL. vol. 56, no. 1-2, pp. 175-183
48- Eldar, A.; Perl, S.; Frelier, P.F. and Bercovier, H. 1999. Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection, journal of Diseases of Aquatic Organisms . vol. 36, no. 2, pp. 121-127
49- Erfanmanesh. A, Soltani. M, Pirali. E, Mohammadian. S, Taherimirghaed. A, 2012, Genetic Characterization of Streptococcus iniae in Diseased Farmed Rainbow Trout (Onchorhynchus mykiss) in Iran, *The ScientificWorld Journal*, 1 -6
50- Evans D, ClaiboneJ.The physiology of fishes.Third Edition.CRC,Newyork, 2006; 110-258.
51- Evans, J.; Klesius,P.H. and shoemaker,C.2006.Therapeutic and prophylactic immunization against *streptococcus iniae* infection in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) .journal of Aquaculture Research.vol.37,pp.742-750
52- Evans, J.J., Klesius, P.H.,Gilbert, P.M., Shoemaker, C., Al-Sarawi,M., Landsberg, J., Durumdez,R., Al-Marzouk, A., Al-Zenki, S., 2002. Characterization of β-haemolytic Group B Strep−tococcus agalactiae in cultured seabream, Sparus auratus and wildmullet, Liza klunzin−geri (Day) in Kuwait. *Journal of Fish Diseases*, 25: 505–513.
53- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Klesius, P.H., & Al-Ablani, S, 2006b, First report of Streptococcus agalactiae and Lactococcus garviae from wild bottlenose dolphin (Tursiops truncates). *Journal of Wildlife Diseases*, 45: 561-569

54- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Klesius, P.H., & Shoemaker, C.A., 2006a, Identification and epidemiology of Streptococcus iniae and Streptococcus agalactiae in tilapia, Oreochromis spp. International Symposium on Tilapia in Aquaculture 7 (pp. 25-42). Charles Town, WV, USA, American Tilapia Association.
55- Evans. J.J, Klesius. P. H, Pasnik. D. J, Bohnsack. J. F, 2009, Human Streptococcus agalactiae Isolate in Nile Tilapia(Oreochromis niloticus), Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid, 15(5): 774 -,776
56- Facklam, R., Elliott, J., Shewmaker, L., Reingold, A,2005. Identification and characterization of sporadic isolates of *Streptococcus iniae* isolated from humans. J. Clin. Microbiol. 43, 933-937
57- Facklam, R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C., and Sconyer, B. J., 1973 . presumptive identification of group A, B and D streptococci. ***Appl. Microbiol*** . 27: 107 – 113
58- Fadaeifard. F, Momtaz. H, Rahimi. E, Mirzakhani. A, 2011, Detection of streptococcus iniae and Lactococcus garvieae by multiplex polymerase chain reaction (PCR) in some rainbow trout farms of Iran, *African Journal of Biotechnology*, 11(2): 260-263
59- Filho. C. I; Muller. E. E; Pretto-Giordano. L. G; Bracarense. F. R. L;, 2009, Histological finding of experimental *Streptococcus agalactiae* infection in nile tilapia (Oreochromis nilotocus), *Brazilian Journal Veterinary Patology*, 2(1): 12 – 15
60- Foo. J.T.W., Ho. B; Lam. T.J;,1985, Mass mortality in Siganus canaliculatus due to streptococcal infection. *Aquaculture*, 49: 185–195
61- George, T.T.1999. Canadian doctors confirm the infection and effects of *Streptococcus iniae* in fish and humans, Contributed-papers-Aquaculture-Canada-no. 98-2, pp. 87-89
62- Ghittino. C., Praero. M., 1992, Report of streptococcosis in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Italy: preliminary note.*Bolletino Della Societa Italiana di Patologia Ittica* , 8: 4–11.
63- Gholipour. H., Shahsavani. D., Rad. M., 2009, Streptococcal septicemia in raibow trout farms in Sabzevar, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 174
64- Gill, p.; Vivas, J.; Gallardo, C.S. and Rodrıguez ,L.A. 2000. First isolation of *Staphylococcus warneri,* from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Northwest Spain. ,journal of fish diseases . Vol. 23,pp. 295-298
65- Habibipour.R, Bayat.S., 2009, Study of streptococcosis in rainbow trout farm in Hamedan Province, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, , 174
66- Haghighi Khiabanian Asl. A, Soltani. M, Kazemi. B, Sohrabi Haghdost. E, Sharifpour, 2007, Use of immunohistochemichal and PCR methods of infectious heamatopoietic necrosis disease in some rainbow trout hatcheris in Iran, *Pakistan journal of Biology Sciences*, 10 (2): 230 – 234
67- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staly, J.T. and Williams, T.S. 1994. Bergey's Manual of Determinative bacteriology.Williams and Wilkins.pp. 787
68- Huang,Sh.;Chen,W.;Shei,M.;Liao,L. and Chen , Sh. 1999.Studies on Epizootiology and pathologencity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*aeochromis sp*) Cultured in Taiwan. Journal of Zoological studies . vol. 38 , pp. 178-188
69- Huet M. Breeding and cultivation of fish.2nd edition. Fishing News Books, 1994;314-320
70- Inglis, V., Roberts, R.J. and Bromage, N.R. 1993. Chapter 12, Streptococcal Infections. In Bacterial Diseases of Fish, Halsted Press, John Wiley & Sons, Inc., NY. pp. 196-97.
71- Kitao, T. 1982. The methods for detection of ***Streptococcus sp.*** Causative bacteria of streptococcal disease of culture yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). Fish Pathology, Vol. 17, pp.17-26
72- Kitao, T., Aoki, T. and Iwata, K. 1979. Epidemiological study on streptococcosis of cultured yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). Discribtion of *Streptococcus sp*. In sea water and muds around yellowtail farms.*Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 45, pp.567-572
73- Kitao, T., Aoki, T. and Sakoh, R. 1981. Epizootics caused by β-haemolytic *Streptococcus* species in cultured fresh water fish. Fish Pathology, Vol. 15, pp.301-307
74- Klesius. P.H., Evans, J.J., Shoemaker, C.A.,Yeh, H., Goodwin, A.E., Adams, A., Thompson K., 2006, Rapid detection and identification of S. iniae using a monoclonal antibody based indirect flourescent antibody technique. *Aquaculture*, 258:180-186.
75- Klontz GW.Enviromental Requirements and Enviromental diseases of Salmonids. In: Stoskopf MK, Fish medicine.Philadelphia: WB Saunders Company, 1993; 333
76- Koh, T.H., Kurup, A. and Chen, J., 2004. *Streptococcus iniae* discitis in Singapore. Emerg. Infect. Dis. Vol.10, pp.1694-1696
77- Kusuda, R. and Takemaru, I. 1987. Efficacy of josamycin against experimental streptococcal infection in cultured yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, Vol. 53, pp. 1519-1523

78- Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C. R. and Fryer, J.L. 1991. *Enterococcus seriolicida sp*. Nov., a fish pathogen. International Journal of Systematic Bacteriology, Vol.41, pp.406-409

79- Kusuda, R., Kawai, T.,Toyoshima, T. and Komatus, I. 1976. A new pathogenic bacterium belonging to the genus *Streptococcus*, isolated from an epizootic of cultured yellowtail. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 42, pp.1345-1352

80 - Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Luk, W.K., Fung, A.M.Y., Hui, W.T., Fong, A.H.C., Chow, C.W., Wong, S.S.Y., Yuen, K.Y., 2006. Clinical isolates of *Streptococcus iniae* from Asia are more mucoid and β- hemolytic than those from North American. Diagnostic Microbiol. Infect. Dis. Vol. 54, pp. 177-181

81- Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Tse, H., Leung, K.W., Wong. S.S.Y., Yuen, K.Y., 2003. Invasive *Streptococcus iniae* infection outside North American . J. Clin. Microbiol. 41, 1004-1109

82- MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Testes for Identification of medical Bacteria. Williams and Wilkins. pp. 912

83 - Mata, A. I, Blanco. M. M, Dom´ınguez. L, Fernández-Garayzábal. J. F, Gibello. A, 2004a, Development of a PCR assay for Streptococcus iniae based on the lactate oxidase (lctO) gene with potential diagnostic value, *Veterinary Microbiology* 101:109–116

84 - Mata, A. I, Gibello. A, Casamayor. A., Blanco. M. M., Domínguez. L, Ferna´ndez-Garayza´bal .J. F., 2004b, Multiplex PCR Assay for Detection of Bacterial Pathogens Associated with Warm-Water Streptococcosis in Fish, *Applide and Environmental Microbiology*: 3183–3187

85 - Meyer, V. k. and Schonfeld, H. 1929. Uber die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans und die Beziehungen beider zum Streptococcus lactis. *Zentralbl . Bakt. Abt. 1 orige*. 99:402 – 418

86 - Mian. G. F., Godoy. D. T, Leal. C. A. G,Yuhara. T. Y, Costa. G. M,. Figueiredo. H. C. P., 2008, Aspects of the natural history and virulence of S. agalactiae infection in Nile tilapia, *Veterinary Microbiology*, 136(1 – 2): 180 – 183

87 - Michel. C., Nougayre`de P., Eldar A., Sochon E., De Kinkelin. P., 1997, Vagococcus salmoninarum, a bacterium of pathological significance in rainbow trout Oncorhynchus mykiss farming. *Diseases of Aquatic Organisms* , 30:199–208.

88 - MMWR. 1996. 2 August, 45(30); 650 – 53. Invasive Infection with *Streptococcus iniae*, Ontario, 1995-1996. Morbidity and Mortality Weekly Report available on-line from the Centers for Disease Control's website at www.cdc.gov/mmwr.

89 - Mohammadi Arani. M., Moghadas.m B., 2009, Infection of rainbow trout with Streptococcus spp. in Isfehan Province, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 126

90 - Ndong, D., Chen, Y.Y., Lin, Y.H., Vaseeharan, B. and Chen, J.C. 2006. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Journal of Fish and Shellfish Immunology. Vol.22, pp. 686 – 694

91 - Nguyen, H.T., Kanai, K. and Yoshikoshi, K., 2002. Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured Japanese flounder(*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures. Journal of Aquaculture, Vol. 205, pp. 7-17

92 - Noga, E.J. 1996. Fish disease: diagnosis and treatment. Iowa State University Press/Ames, Iowa, pp.367

93 - Nomoto, R., Munasinghe, L.I., Jin, D.H., Shimahara, Y., Yasuda, H., Nakamura, A., Misawa, N., Itami, T., Yoshida, T., 2004. Lancefield group C Streptococcus dysgalactiae infection responsible for fish mortalities in Japan. *Journal of Fish Diseases*, 27: 679–686.

94 - Oliver, K., Procop, G.W. Wilson, D. Coull, J. and Stender, H. 2002. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* Directly from Blood Culture by Fluorescence In Situ Hybridization with Peptide Nucleic Acid Probes. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 40, pp. 247-251

95 - Pall, J. and Pradhan, K. 1990. Bacterial involvement in ulcerative condition of air- breathing fish srom India. Journal of Fish Biology, Vol. 36, pp. 833-839

96 - Pasnik, D.J., Evans, J.J. and Klesius, P.H.2006. Passive immunization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) provides significant protection against *Streptococcus agalactiae*. Journal of Fish and Shell fish Immunology, Vol. 21,pp.365-371

97 - Pasnik. D. J., Evans. J. J, Klesius. P. H., 2009, Fecal Strings Associated with Streptococcus agalactiae Infection in Nile Tilapia, Oreochromis niloticus, *The Open Veterinary Science Journal*, 3: 6-8

98 - Perera. R.P., Johnson. S.K., Collins. M.D., Lewis D.H., 1994, Streptococcus iniae associated with mortality of Tilapia nilotica × T. aurea hybrids. *Journal of Aquatic Animal Health* ,6: 335–340.

99 - Pillay TVR, Kutty MN. Health and diseases.In: Aquaculture priciples and peactices. 2nd edition. Blackwell Publishing, 2005;112-118.

100 - Pillay TVR, Kutty MN. Sustain ability and environmental management of aquaculture. In: Aquaculture priciples and peactices. 2nd edition.Blackwell Publishing, 2005; 311-312
101 - Plumb, J.A., Schachte, J.H., Gaines, J.L., Peltier, W. and Carroll.B. 1974. *Streptococcus sp*. From marine fishes along the Alabama and northwest Florida coast of the Gulf of Mexico. Transactions of the American Fisheries Society, Vol. 103, pp. 358-361
102 - Roach, J.C., Levett, P.N., & Lavoie, M.C.,2006,Identification of S. iniae by commercial bacterial identification systems. *Journal of Microbiological Methods*, 67: 20-26.
103 - Roberts RJ.Fish pathology.London: Harcourt Publisher Limited, 2001, 1-13 , 199-205
104 - Rochaix, A. 1924. Mileaux a I' esculine pour le diagnostic differential des bacteries due groupe Strepto – Entro Pneumocoque . *Ct. R. Soc*. Biol. Vol.90, pp. 771-772
105 - Rodkhum. C, Kayansamruaj. P, Pirarat. N, 2011, Effect of Water Temperature on Susceptibility to Streptococcus agalactiae Serotype Ia Infection in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus), *Thai J Vet Med*,41(3): 309-314.
106 - Romalde, J.L., Lores,F., Magarinos, B., Barja, L. and Toranzo, A.E. 2000. Study of cell surface associated virulence factors of Streptococcus parauberis strains pathogen for turbot. Bulltan of European Association of Fish Oathology, Vol.20, pp.244-251
107 - Romalde, J.L., Toranzo, A.E. 1999. Streptococcosis of marine fish. Gilles Oliver , No. 56
108- Romalde. J. Magarinos. L, Villar. C, Barja. J. L, Toranzo. A. E, 1999, Genetic analysis of turbot pathogenic Streptococcus parauberis strains by ribotyping and random amplifed polymorphic DNA, *FEMS Microbiology Letters*, 459: 297-304
109 - Russo, R., Mitchell, H. and Yanong, R.P.E, 2006. Characterization of *Streptococcus iniae* isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models, journal of Aquaculture. Vol.256, pp. 105 – 110
110 - Russo,R. and Yanong,R.2006. Dietary Beta-Glucans and Nucleotides Enhance Resistance of Red-Tail Black Shark (*Epalzeorhynchos bicolor*) to *Streptococcus iniae* Infection . journal of The world aquaculture society.vol. 37,No.3,pp.298-306
111 - Sako, H., 1998. Studies on *Streptococcus iniae* infection in Yellowtail, Seriola quinqueradiata. Bull. Nansi Natl. Fish. Res. Inst. 31, 63-120
116- Salvador, R., Muller, E.E., Freitas, J.C., Leonhadt, J.H., Giordano, L.G.P., Dias, J.A ,2005, Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) reared in hapas nets and earth nurseries in the northen region of Parana State, *Brazil. Ciencia Rural. Santa Maria*, 35: 1374-1378.
112 - Shahbazian , N,Maghsudifard, A, E., Abdi, K. Sheikhzadeh, N, 2010, Study the status of Streptococcosis in Rainbow trout fish farms in kermanshah province in 2009, 2nd International congress on aquatic animal health maneagment and disese, October 26 – 27 2010, Tehran, Iran
113 - Shelby, R.A., Klesius P.H. Shoemaker, C.A. and Evans, J.J. 2002. Passive immunization of tilapia, Oreochromis niloticus, with anti-Streptococcus iniae whole sera. Journal of Fish Diseases, Vol.25, pp.1-6
114 - Shen, Z.H., Qian, D., Xu, W.J., Gu, J.H. and Shao,J.Z. 2005. Isolation, identification and pathogenicity of Streptococcus iniae isolated from red drum Sciaenops occellatus . Acta Hydrobiol.Sinica , Vol.29, pp. 678-683
115 - Shoemaker, C.A., Evans, J.J. and Klesius, P.H. 2000. Density and dose: factors affecting mortality of Streptococcus iniae infected tilapia (Oreochromis niloticus), journal of Aquaculture . vol. 188, no. 3-4, pp. 229-235
116 - Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. 1997 . Streptococcal disease problems and control : a review . In : Tilapia Aquacultured (ed.by K.fitzsimmons) , pp. 671 – 680. Northest Regional Aquacultural Engineering Service , Ithaca , NY.
117 - Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. and Evans, J.J. 2001. prevalence of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial fish farms in the United States. Am. J. Vet. Res, Vol. 62, pp. 174-177
118 - Soltani.M., Tarahomi. M, 2009, Study of streptococcosis/Lactoccosis in some farmed rainbow trout in Fars province, Iran, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 113
119 - Stickney RR. Understanding and maintaining water quality. In: Aquaculture: An Introductory text. 1st edition. India: CABI Publishing, 2005; 95-127.
120 - Subasinghe. R. P, 2005, Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture, *Preventive veterinary medicine*, 67, 117 – 124

121 - Toranzo. A. E; Devesa. S; Heinen. P; Riaza. A; Nuñez. S; Barja. J. L;, (1994), Streptococcosis in cultured turbot caused by an Enterococcus-like bacterium, *Bulltan of European Association of Fish Pathology*, 14:19–23

122 - Treves-Brown, K. M. 2000. Applied fish pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp.294

123- Varvarigos, P. 2001. Gram positive cocco- bacteria(*Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*) causing systemic disease in intensively farmed fish. Veterinary services to aquaculture and distribution of fish health production.

124- Vela, A.I., Vazquez, J., Gibello, A., Blanco, M.M., Moreno, M.A., Liebana, P., Albendea, C., Alcala, b., Mendez, A., Dominguez, L. AND Garayzabal, J.F.F. 2000. Phenotypic and Genetic Characterization of *Lactococcus garvieae* Isolated in Spain from Lactococcosis Outbreaks and Comparison with Isolates of Other Countries and Sources. Journal of Clinical Microbiology , Vol.38 ,pp.3791-3795

125- Vendrell. D., Balcazar. J. L., Ruiz-Zarzuela. I., Blas. I., Girones. O, Muzquiz. J. L., 2006, Lactococcus garvieae in fish: A review, Comparative *Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 29: 177–198

126- Xu, D.H., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., 2007, Evaluation of the link between grodactylosis andStreptococcus of Nile tilapia (*O. niloticus*). L **.** *Fish Diseases*, 30: 230-238

127- Yang. W, Li. A, 2009, Isolation and characterization of Streptococcus dysgalactiae from diseased Acipenser schrenckii, *Aquaculture*, 294:14–17

128- Yanong, R.P.E., Floyd, R.F, 2002. Streptoccal infection of fish. Florida Cooperative Extension Service. IFAS, University of Florida, p. 3. Circular FA057

129- Yanong**.** R. P. E. and Francis-Floyd. R., 2002, Yanong Streptococcal infections of fish. Report from University of Florida. Series from the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. http://edis.ifas.ufl.edu

130- Yasunaga, N. 1982. Occurrence of Streptococcus sp., a pathogen of cultured yellowtail, in muscle of sardine for diets. Journal of Fish Pathology, Vol.17, pp.195-198

131- Yuniarti, A. 2005. Serological Characterization of Streptococcus iniae Isolates from Different Parts of Australia. Masters. University of Queensland, St. Lucia, Queensland.

132- Zarzuela,R.I., Bias, I., Girones, O., Ghittino, C. and MuAzquiz, J.2005. Isolation of *Vagococcus salmoninarum* in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Veterinary Research Communications, Vol. 29, pp. 553-562

133- Zlotkin, A., Hershko, H., & Eldar, A., 1998, Possible transmission of Streptococcus iniae from wild fish to cultured marine fish, *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4065-4067.

134- http://www.the fish site.com / articles/190/ Streptococcus in tillapia

پیوست

تصاویر ماهواره ای مزارع انتخابی جهت نمونه برداری دراستان فارس

تصویر الف ۱- مزرعه تنگ تیزاب (خادمی)

تصویر الف ۲ – مزرعه شرکت تعاونی ۲۲ بهمن سپیدان(نیکوکار)

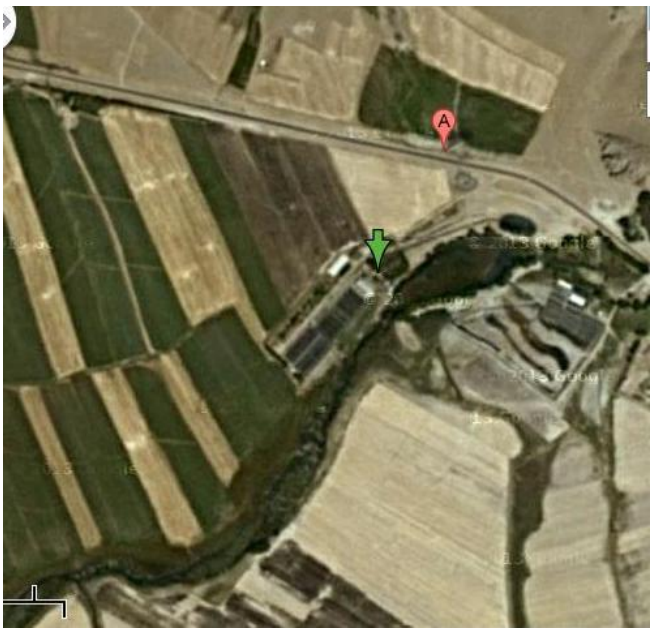
تصویر الف ۳ – مزرعه رودشیر (زارع)

تصویر الف ۴ – مزرعه نی سایه (دهقانی)

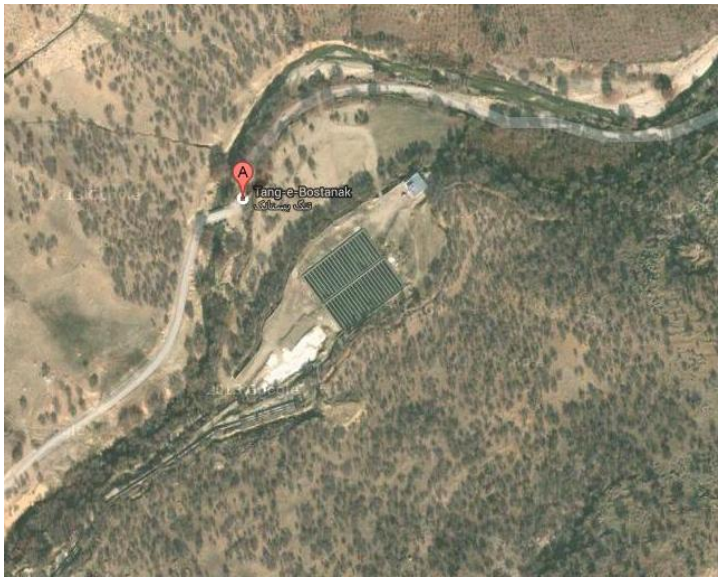
تصویر الف ۵ – مزرعه سرآب بیضا (عفیفی)

تصویر الف ۶ – مزرعه شرکت تعاونی رنگین کمان ملوسجان (عبودی)

تصویر الف ۷ – مزرعه شرکت مارون (حدیدی)



تصویر الف ۸ – مزرعه بهشت گمشده (قطعی)



تصویر الف ۹ – مزرعه شرکت فارس قزل (حمیدی)

تصویر الف ۱۰ – مزرعه شایانی (شایانی)

فصل ۲ :

مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها

در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش

ماهیان سردآبی در شرق استان مازندران

(رودخانه هراز)

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۵۸
۱-۲- مواد و روش کار ۵۹
۱-۱-۲- ایستگاهای منتخب (مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان) ۶۰
۲-۱-۲- نمونه برداری ۶۰
۳-۱-۲- انجام آزمایشات مولکولی ۶۳
۴-۱-۲- آزمایشات فیزیکوشیمیایی آب ۶۷
۲-۲- نتایج ۶۹
۱-۲-۲- علائم مشاهده شده در ماهیان مورد بررسی ۶۹
۲-۲-۲- برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب (عوامل خطر) در بروز استرپتوکوکوزیس ۷۲
۳-۲-۲- تعداد کلی باکتری های داخل آب ۸۰
۳-۲- بحث ۸۲
پیشنهادها ۸۹
منابع ۹۰
پیوست ۹۷

چکیده

استرپتوکوکوزیس یک بیماری عفونی باکتریایی است که دراکثر مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی (قزل آلای رنگین کمان) کشور مشاهده شده است . این بیماری دارای این قابلیت است که به شکل همه گیر مزارع ماهیان سردابی را در اقلیم های مختلف تهدید نماید و خسارتهای اقتصادی زیادی را به صنعت آبزی پروری وارد نماید. در بروز ، گسترش و اپیدمی شدن این بیماری عواملی از جمله حرارت آب ، نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی، شمارش کلی باکتریائی نقش دارند .دراین مطالعه باهدف بررسی میزان آلودگی وابتلای گروههای مختلف سنی ماهیان قزل الای رنگین کمان به استرپتوکوکوزیس درمزارع پرورشی شرق استان مازندران (حوضه رودخانه هراز)، با فواصل ماهیانه به ثبت عوامل اپیدمیولوژیک مؤثر بر بروز بیماری اقدام گردید. با بکارگیری روش نمونه برداری تصادفی ، تعداد ۱۰عدد از مزارع منتخب زیر پوشش پروژه قرار گرفت . به منظور جداسازی ، شناسایی و تشخیص بیماری ضمن بررسی علائم ظاهری ومشاهدات کلینیکی از آزمون های بیوشیمیایی و PCR استفاده شد.به این منظور، نمونه برداری از تعداد ۱۲۰۰ عدد ماهی از ۱۰ مزارعه منتخب ، در یک بازه زمانی یک ساله وبا تناوب ماهیانه به انجام رسید. طی این تحقیق مشخص شد که ۸ عدد از ۱۷۵عدد بچه ماهی دارای علائم بیماری (۴/۶درصد) و ۲ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۰/۷ درصد) ، آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند و از طرفی ۲۱ عدد از ۲۳۵ عدد ماهی (۸/۹ درصد) پرواری دارای علائم بیماری و ۵ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پرواری فاقد علائم بیماری (۱ درصد) ، آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند. باکتری استرپتوکوک جدا سازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus Uberis*) شناسایی گردید . نتایج مؤید این مطلب است که عواملی از جمله میزان نیتریت ،دمای آب ، اکسیژن محلول در آب و ماههای سال به میزان ۲۰٪ بروز بیماری ناشی از استرپتوکوک را تحت تاثیر قرار می دهند. مدیریت عوامل مذکور میتواند تا حد زیادی درکاهش میزان بروز و شیوع بیماری ناشی از استرپتوکوک در شرق استان استان مازندران مؤثر باشد.

کلید واژه ها :

استرپتوکوکوزیس – قزل آلای رنگین کمان – میزان شیوع – عوامل خطر - استان مازندران

۱-۲- مواد و روش کار

محل اجرا: شرق استان مازندران (رودخانه هراز)

استان مازندران در تولید ماهیان سردآبی (ماهی قزل الای رنگین کمان) بعداز استان چهارمحال بختیاری با تولید بیش از ۱۲ هزار تن و لرستان با تولید ۱۱ هزار تن ، رتبه سوم تولید ماهیان سردآبی با ۱۰۵۱۴ تن را به خود اختصاص می دهد و استانهای آذربایجان غربی ، بویر احمد وکهکولیه ، کرمانشاه ، فارس و تهران به ترتیب با بیش از ۶ هزار تن ، ۵ هزار تن ، ۴ هزار تن ، ..... در رتبه های چهارم تا هشتم قرار دارند .

رودخانه هراز یکی از پر آب ترین رودخانه های شمال ایران است و از ارتفاعات ۵۴۷۸ متری قله دماوند و کوههای پالان گران و امام زاده هاشم سرچشمه می گیرد. استفاده زراعی از آب این رودخانه برای ۷۲ هزار هکتار زمین شالیزاری، مهاجرت ماهیان استخوانی جهت تخمریزی طبیعی به این رودخانه و تولید بیش از ۴۵۰۰ تن ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از آب این رودخانه بیانگر اهمیت آن دربهبود وضعیت اقتصادی منطقه است. این رودخانه از غرب به حوزه آلیس رود و از شرق به رودخانه گرمرود و بابلرود و از شمال به دریا محدود است و دارای هشت سر شاخه به نامهای : لار، زیار، لکرود، شیرکله، نمارستاق، نور، چلاو و منگل می باشد. طول رودخانه , ۱۸۵ کیلو مترو پیرامون حوزه ۲۷۰ کیلومترمی باشد. مساحت حوزه, ۴۰۶۰ کیلومتر مربع و شیب بالادست رودخانه ۱۳-۱۲ درصد ومتوسط شیب رودخانه ۲/۴ درصد , بارندگی متوسط حوزه ۸۳۲ میلی مترو کل جریان متوسط ۹۴۰ میلیون متر مکعب می باشد. بار رسوبی این رودخانه ۲۷۰.۴۳۰ تن در سال و فرسایش حدود ۱ درصد و بار جامد ۷۳ تن در کیلومتر مربع در سال برآورد می گردد. این رودخانه دارای رژیم برفی-یخچالی می باشد . عرض رودخانه از ۵۰-۵ متر در طول آن متغیر است . سرعت جریان آب ، شیب بستر،کف سنگلاخی و دبی آب بالای رودخانه و اکسیژن محلول در آب از محسنات رودخانه هراز می باشد.

تصویر ماهواره ای از بخشی از رودخانه هراز

۱-۱-۲- ایستگاهای منتخب (مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان)

۹۴ درصد مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی(قزل آلای رنگین کمان)در شرق استان مازندران (منطقه هراز) که تقریبا همه تولید منطقه هراز (۴۵۰۰ تن) را به خود اختصاص می دهند ، در یک فاصله ۱۵ کیلومتری از هم واقع شده اند و به جز دو مزرعه اول و دوم (واسر و قزل سراب) که به شکل مستقل از رودخانه هراز آب می گیرند ،در بقیه مزارع، خروجی آب مزرعه بالا دست بخشی ورودی آب مزرعه پایین دست می باشد. در این بررسی ۱۰ مزرعه انتخاب شدکه مختصات جغرافیایی آنها به ترتیب از بالا به پایین در جدول شماره ۱ و تصاویر ماهواره ای مزارع در زیر آمده است . دو مزرعه اول (واسر) و آخر (قزل آلای هراز) در ابتدا و انتهای این فاصله قرار دارند .

نام مزرعه	واسر	قزل سراب	قزل کاج	رنگین وانا	نگین هراز	چند منظوره نیاک	قزل نیاک	هزار یک	نل قزل	قزل آلای هراز
ارتفاع از سطح دریا (متر)	۱۸۶۸	۱۸۶۸	۱۷۰۳	۱۷۰۳	۱۶۰۸	۱۶۸۶	۱۶۸۶	۱۶۵۷	۱۵۹۸	۱۴۵۷
طول جغرافیایی	۵۲.۱۲.۳۵	۵۲.۱۳.۵۷	۵۲.۱۸.۶۱	۵۲.۱۷.۵۷	۵۲.۲۱.۲۷	۵۲.۱۶.۵۸	۵۲.۱۸.۳۳	۵۲.۱۱.۴۵	۵۲.۲۱.۳۶	۵۲.۲۱.۵۸
عرض جغرافیایی	۳۵.۵۶.۲۲	۳۵.۴۶.۰۷	۳۵.۳۷.۱۴	۳۵.۴۷.۴۷	۳۵.۴۹.۵۴	۳۵.۵۷.۴۹	۳۵.۵۷.۶۲	۳۵.۵۳.۵۵	۳۵.۵۰.۱۸	۳۵.۵۳.۳۵

۲-۱-۲- نمونه برداری

نمونه برداری از ماهی

نمونه برداری از ماهیان پیش پرواری و پرواری با دامنه وزنی (۵۰ – ۵۰۰ گرم)به تعداد ۷۱۸ عدد و بچه ماهیان با دامنه وزنی (۱۰ – ۵۰ گرم) به تعداد ۴۸۱ عدد ، بیمار (همرا با علائم) و به ظاهر سالم (بدون علائم) از ۱۰ مزرعه پرورش ماهی سردابی منتخب ، به شکل ماهیانه (مدت ۱۲ ماه) و هر ماه ۱۲۰ عدد ماهی (هر مزرعه ۱۰ عدد) به شکل زنده و تصادفی جمع آوری شد و مورد بررسیهای آزمایشگاهی (کشت باکتریایی) قرار گرفت.

انجام کشت و تشخیص اولیه باکتری

پس از جمع آوری نمونه ها به شکل زنده ، ماهیان از نظر علایم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و سپس در شرایط استریل کالبد گشایی شدند و پس از شکافتن محوطه بطنی علائم داخلی ثبت شد و سپس با استفاده از آنس استریل از بافت های کبد وکلیه در محیط تریپتوکاز سوی آگار (TSA) کشت خطی ، جهت جداسازی باکتری انجام گردید(Austin و Austin ،۱۹۹۹) و پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در گرمخانه کالیبره شده قرار گرفتند و پس از مشاهده رشد باکتری (پرگنه ها)

استرپتوکوک در محیط کشت ، تشخیص اولیه و افتراقی آن از باکتری استافیلوکوکوس با از رنگ آمیزی به روش گرم و دین کوکسی های گرم مثبت و تست کاتالاز (آزمایش افتراقی باکتری استرپتوکوک از استافیلوکوک) پس از رنگ آمیزی انجام گردید . پس تایید باکتری استرپتوکوک به وسیله تست کاتالاز ، نمونه های مثبت در کنار یخ به آزمایشگاه باکتریولوژی دارای گواهی استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵ پژوهشکده اکولوزی دریای خزر برای تعیین و شناسایی گونه منتقل گردید.

تشخیص تفریقی

برای تشخیص افتراقی استرپتوکوکها از روشهای بیوشیمیایی, آزمایشات متعددی انجام شد که به شرح ذیل می باشد(Murrey و همکاران ۲۰۰۳):

الف – تخمیر قند و تولید اسید از قند های (گلوکز ، سوربیتول ، آرابینوز ، تره هالوز ، مانوز ، گزیلوز ، سالسین، انیوزیتول ، مالتوز و مانیتول) در این آزمایش توانایی باکتری در تولید اسید از ترکیبات هیدروکربنی (قند) مختلف سنجیده شد. در این روش چنانچه باکتری قابلیت تخمیر قند را داشته باشد بعلت تغییر pH (تولید اسید) رنگ محیط از قرمز به زرد تبدیل می شود. (Buller ، ۲۰۰۴).

ب – آزمایش بایل آسکولین: محیط بایل آسکولین محیطی اختصاصی برای باکتریهای کاتالاز منفی است. این محیط اثر مهار کننده بر رشد اکثر باکتریهای گرم مثبت به جز انتروکوکسها دارد. با رشد باکتری آسکولین به آسکولتین و دکستروز تبدیل می شود و اسکولتین تولید شده با کلرید آهن موجود در محیط واکنش داده و ایجاد رنگدانه سیاه میکند.

ج – رشد در حرارت ۱۰ و ۴۵ درجه سانتیگراد: رشد در دو حرارت ۱۰ و ۴۵ درجه سانتیگراد در محیط BHA در تشخیص تفریقی کوکسی های گرم مثبت کاتالاز منفی یک ابزار تشخیصی مهم است.

د – همولیز: قابلیت لیز گلبولهای قرمز از اهمیت خاصی در تشخیص تفریقی استرپتوکوکها برخوردار است. این واکنش با کشت باکتری در محیط حاوی ۵٪ خون گوسفند شناسایی می شود. از نقطه نظر همولیز باکتریها به چند دسته تقسیم می شوند که شامل:

– همولیز بتا: در این حالت گلبولهای قرمز بطور کامل تخریب شده و در اطراف پرگنه تولید شده یک هاله روشن ایجاد میشود.

– همولیز آلفا: در این حالت در اطراف پرگنه یک هاله تقریبا سبز رنگ در اطراف پرگنه مشاهده می شود.

– همولیز گاما: هیچگونه تغییری در اطراف پرگنه رشد یافته مشاهده نمی شود.

ه – آزمایش هیدرلیز هیپورات: تعدادی از باکتریها قابلیت تولید آنزیم هیپورات هیدرولاز را دارند که هیپوریت سدیم را به بنزوئیک اسید و گلی سین تجزیه می کند. افزودن کلرید آهن به بنزوئیک اسید موجب تشکیل رسوب قهوه ای رنگ بنزوآت آهن می شود.

و – آزمایش حرکت: این آزمایش در خصوص حرکت باکتری در یک محیط نیمه جامد(ژل) است که تستی مفید در تشخیص تفریقی است. این آزمایش خصوصا در شناسایی انترکوکها مفید است.

ز – آزمایش مقاومت به نمک ۶/۵٪: بعضی از باکتریها قابلیت رشد در محیط حاوی ۶/۵٪ نمک طعام را دارند در حالیکه این غلظت اثر مهار کنندگی بر رشد دیگر باکتریها دارد.

ح – هیدرولیز اوره: اوره به عنوان منبع نیتروژن در باکتری هایی که اوره آز ایجاد می کنند می باشد و با مصرف اوره و تغییر در pH محیط اندیکاتور محیط(فنل رد) از قرمز به زرد تبدیل می شود.

ط – آزمایش VP (Voges – Proskauer): نتیجه انجام این واکنش تولید استیل متیل کربینول است. از این آزمایش در جهت تفریق جنس و گونه های مختلف کوکسیهای گرم مثبت استفاده می شود.

ی – هیدرولیز آرژنین: بعضی از باکتریها قابلیت هیدرولیز آرژنین را دارند. نتیجه این هیدرولیز قلیایی شدن محیط است که در نتیجه آن رنگ محیط تغییر می کند. این آزمایش برای تشخیص تفریقی باکتریها تست بسیار مناسبی است.

مشخصات بیوشیمیایی گونه های مختلف استرپتوکوک های در جدول ذیل نمایش داده شده است .

	St. faecium	St. uberis	St. agalactiae	St. dysgalactiae	St. iniae
Gram – staining	+	+	+	+	+
Catalase production	-	-	-	-	-
Haemolysis	α	-	-	+	+
Swarming	v	-	-	-	-
Production of ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-
Production of lysine decarboxylase			-		
Production of arginine dihydrolase			-		
Motility test	+	+	+	+	+
Nitrate reduction			-		-
Indole production	-		-		
Citrate utilization	-		-		
Urease production	-			-	
Methyl red			+		-
Vogesproskauer reaction	+	+	+	-	-
Aesculin hydrolases	+	+	-	v	+
Degradation of gelatin	-		-		-
Onpg production	+	-	-		-
Oxidative-fermentative test	F	F	F	F	F
Acid production from arabinose	+	-	-	-	-
Acid production from glucose	+	+	+	+	+
Acid production from inositol	-	-	-		-
Acid production from maltose	+	+	+		+
Acid production from manitol	+	+	-	-	+
Acid production from mannose	+	+	+		+
Acid production from salicin	+	+	-	v	+

Acid production from sorbitol	-	+	-	-	-
Acid production from trehalose	+	+	+	+	+
Acid production from xylose	-	-	-		-
Growth at macconkey			-		
Temperature	10^{oC} -50^{oC}	10^{oC} -37^{oC}	25^{oC} -37^{oC}	25^{oC} -37^{oC}	10^{oC} -37^{oC}
Growth on NaCl	0-%6.5	0-%6.5	0-%3	0-%4	2-%4
Hipporatesudium	+	+	+	-	-

۳-۱-۲- انجام آزمایشات مولکولی

استخراج DNA

استخراج DNA با بهینه سازی روش فنل – کلروفرم انجام گردیده است(Fevolden & Pogson, 1997).

الف - در این مرحله حدود ۵ کلنی با استفاده از آنس استریل از محیط کشت برداشته و به میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۵۰۰ میکرولیتر بافر متلاشی کننده (STE) منتقل کرده و در بن ماری ^{o}C ۳۷ به مدت یک شبانه روز قرار داده شد. Tris موجود در بافر نقش بافری دارد، EDTA به عنوان مهار کننده آنزیم های نوکلئاز و SDS موجود در آن نیز به عنوان حل کننده چربیهای موجود در غشاء سلول عمل می کند.

ب – پس از گرمخانه گذاری به تیوب به اندازه هم حجم مایع موجود (۵۰۰ میکرولیتر) فنل اضافه گردید و به شدت تکان داده شد و سپس با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط سانتریفوژ انجام گردید.

ج - سپس مایع شفاف رویی را به لوله اپندروف دیگری منتقل شده و هم حجم آن محلول کلروفرم اضافه گردید و پس از تکان دادن با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط سانتریفوژ انجام شد.

د – مجددا مایع شفاف رویی برداشت و به اپندروف دیگری منتقل شده و یک دهم حجم آن نمک استات سدیم ۳ مولار و دو برابر حجم کل الکل مطلق سرد افزوده شد و به مدت نیم الی ۲ ساعت در فریزر ۲۰- قرار داده شد تا سرما به رسوب DNA کمک کند. پس از این مرحله تیوبها با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند.

ه – سپس مایع رویی تخلیه و رسوب حاصل با ۱۰۰ میکرولیتر الکل اتانل ۷۰٪ شستشو داده شد. این عمل به منظور حذف املاح از DNA صورت گرفت. پس از اضافه نمودن اتانل ۷۰٪ ، چند بار به انتهای اپندروف ضربه زده و سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ گردید.

و- بعد از سانتریفوژ مایع رویی تخلیه و اپندروف حاوی DNA به مدت ۲۰ دقیقه در هوای اتاق قرار گرفت تا اتانل موجود در آن کاملاً تبخیر گردید.

ز- پس از خشک شدن لوله ۳۰ میکرولیتر آب دیونیزه استریل به اپندروف اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا DNA موجود در ته لوله کاملاً در آب حل گردد، بدین ترتیب DNA خالص شده جهت انجام PCR به دست آمد.

تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده

جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و تعیین غلظت و خلوص DNA استخراجی از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید. به این منظور پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومترCECIL (مدل ۲۰۴۰DE) با آب مقطر، ۲۰ میکرولیتر DNA ژنومی به وسیله آب مقطر به حجم ۳۰۰µL رسانده شد، مقدار جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر و نسبت A260/280 به وسیله دستگاه اندازه‌گیری و ثبت شده و در پایان غلظت DNA با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

غلظت DNA بر حسب ng/ml = ۵۰× D × A260

A = میزان جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر

D = نسبت رقت ۶۰=۲۰/۳۰۰۰

اگر نسبت جذب A1/A2=۱/۸ باشد, DNA مناسب است و اگر A1/A2>۱/۸ باشد, DNA دارای ناخالصی RNA است و اگر نسبت جذب A1/A2< ۱/۸ باشد نشان دهنده ناخالصی با فنل و پروتئین است.

طراحی پرایمر

برای انجام واکنش PCR نیاز به پرایمرهای اختصاصی هر گونه بود, لذا برای طراحی پرایمر از توالی ژنهای 16S RNA و گلوکوکیناز گونه های مختلف استرپتوکوکوس استفاده شد. برای این منظور ۵ جفت پرایمر طراحی و ساخته شد.

با توجه به اینکه طراحی بعضی از پرایمرها به صورت کاملاً اختصاصی برای هر گونه با مشکل مواجه بود، از هضم آنزیمی با آنزیم های برش دهنده استفاده شده است. برای این منظور محصول PCR با پرایمر ENR را با آنزیم *XhOI* برش داده ، در صورتیکه قطعه ای به طول ۱۶۳ جفت باز ایجاد گردد، نمونه مورد نظر *S.parauberis* است و در صورتیکه آنزیم *XhOI* بر روی محصول PCR محل قطع نداشته باشد، گونه *S.faecium* می باشد. همچنین محصول PCR ایجاد شده با پرایمر STRP اگر با آنزیم *DraIII* قطع گردد و قطعاتی به طول ۱۱۰ و ۱۵۰ جفت باز ایجاد شود، نمونه *S.dysgalactae* و اگر آنزیم با همین پرایمر محل قطع نداشت، نمونه *S.uberis* می باشد(جدول).

طول قطعات محصول PCR با استفاده از هر یک از پرایمرها

پرایمر	طول قطعات (جفت باز)					
	S. parauberis	*S. faecium*	*S. uberis*	*S. agalactiae*	*S. dysgalactiae*	*S. iniae*
Bac RNA	۶۷۵	۶۷۵	۶۷۵	-	۶۷۵	-
ENR	۵۴۰	۵۴۰	-	-	-	-
STRA	-	-	-	۴۳۰	-	-
STRP	-	-	۲۶۰	-	۲۶۰	-
STRP1	-	-	-	-	-	۵۵۴

انجام واکنش PCR

واکنش PCR با استفاده از ۵ µl بافر PCR (۱۰X)، dNTP با غلظت ۲۰۰µM، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase، $MgCl_2$ با غلظت ۲/۵ mM، ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم DNA هدف و آب مقطر به اندازه‌ای که حجم نهایی محلول واکنش به ۵۰µl برسد، انجام شد. برنامه دستگاه ترمال سایکلر بترتیب واسرشته سازی (Denaturation) ، ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه ، اتصال پرایمر (Annealing) ،۶۴ تا ۶۹ درجه سانتیگراد بمدت ۴۵ ثانیه وبرای بسط واکنش (Extention) ۷۲ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه برای ۳۰ چرخه بوده است. کمیت و کیفیت محصول PCR با استفاده از مارکر pb DNA ۵۰ و الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و رنگ آمیزی نیترات نقره مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت.

الکتروفورز محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد

محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (pBR322 DNA/AluI Marker, 20, MBI Fermentas) بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نیترات نقره بدست آمد. از آنجایی که حساسیت ژل پلی‌اکریل‌آمید ۲۰۰ تا ۳۰۰ برابر ژل آگارز می‌باشد. در تحقیق حاضر از این ژل برای بررسی نتایج PCR استفاده گردید. جهت تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید ۸ درصد ابتدا ۳۱ میلی‌لیتر آب مقطر را با ۱۳.۵ میلی‌لیتر پلی‌اکریل‌آمید ۳۰ درصد و ۴./۵ میلی‌لیتر بافر TBE (10X) در داخل بالن دارای بازوی جانبی مخلوط ریخته و به مدت ۴ دقیقه توسط دستگاه کمپرسور هواگیری شد و سپس ۳۸۵ میکرولیتر از محلول آمونیوم پرسولفات ۱۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر از محلول TEMED به مخلوط قبلی اضافه شده این ترکیب در فضای بین دو شیشه که از طرفین و قسمت زیری مسدود و از قسمت بالایی نیز شانه‌ای را در فضای بین خود جا داده ریخته شد، جلوگیری از ایجاد حباب هوا در این مرحله کاملاً الزامی است. مدت زمان لازم برای پلیمریزه شدن این ژل حدود ۳۰ دقیقه بوده و بعد از این مدت شانه به آرامی از قسمت بالایی خارج و بعد از شستشوی چاهک‌های ایجاد شده توسط محلول TBE (1X) (بافر الکترود)،

نمونه‌های PCR را به ترتیب در محل چاهک‌ها ریخته، و ژل در ستون عمودی بافر TBE (1X) قرار گرفت بطوری که ژل در بین دو مخزن بافر قرار گرفته و تنها ارتباط بین این دو بافر از طریق ژل میسر باشد. زمانی که دستگاه به مولد برق با ولتاژ ۱۵۰ ولت وصل می‌گردد به مخزن بالا قطب مثبت و به مخزن پایین قطب منفی وصل می‌شود که باعث برقراری جریان از سمت مخزن بالا به سمت مخزن پایین و حرکت نمونه‌های لود شده در چاهک در این مسیر می‌شود و قطعات DNA تکثیر شده براساس وزن مولکولی خود در طول ژل از هم جدا شوند، الکتروفوز نمونه‌ها در مدت ۳ ساعت انجام شد. جهت نمایان شدن باندهای DNA از روش رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد و برای اطمینان از تکرارپذیری نوارها آزمایش سه الی چهار بار در شرایط یکسان تکرار گردید.

رنگ آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید با نیترات نقره

جهت رنگ آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید سه نوع محلول بصورت زیر تهیه شدند:

محلول A : بافر اسید استیک ۰/۵ درصد و اتانول ۱۰ درصد

اتانول	۴۰ میلی‌لیتر
اسید استیک	۲ میلی‌لیتر
آب مقطر	۳۶۰ میلی‌لیتر

محلول B، بافر نیترات نقره ۰/۱ درصد

نیترات نقره	۰/۲ گرم
آب مقطر	۲۰۰ میلی گرم

محلول C، بافر فرمالدئید ۰/۱۵ درصد، NaBH4 ۰/۱ درصد و NaOH ۴/۵ درصد

NaOH	۴/۵ گرم
NaBH4	۰/۰۳ گرم
آب مقطر	۳۰۰ میلی لیتر
فرمالین	۱/۲ میلی لیتر

لازم به ذکر است که جهت تهیه محلول شماره ۳ (محلول C) ابتدا هیدروکسید سدیم را در آب مقطر حل و سپس مواد دیگر بر روی آنها ریخته می‌شود.

پس از اتمام زمان الکتروفورز ژل از صفحات شیشه‌ای با یک کاردک جدا و جهت رنگ آمیزی ابتدا دو بار و در هر بار به مدت ۳ دقیقه ژل در داخل محلول A بر روی شیکر قرار گرفت، سپس به مدت ۱۰ دقیقه به محلول B منتقل در پایان این مدت دو بار و هر بار بمدت ۱ دقیقه با آب مقطر شستشو شد. در نهایت بمدت ۱۰ دقیقه یا تا زمانی که باندها بصورت نوارهای تیره رنگی دیده شوند در محلولC قرار داده شد. ژلهای رنگ آمیزی شده به درون پوشش پلاستیکی منتقل و جهت نگهداری پرس شدند.

ثبت تصاویر

تصاویر ژل پلی‌اکریل‌آمید پس از رنگ آمیزی ابتدا توسط دستگاه مستند سازی ژل ترانس ایلومیناتور مدل DOC008.XD ساخت کمپانی UVI همراه با برنامه نرم‌افزاری UVI DOC Version V.99.04 ثبت و ذخیره گردید.

هضم آنزیمی محصول**PCR**

برای هضم آنزیمی محصول PCR مقدار ۵–۸µl از محصول PCR را در یک میکروتیوپ ۵۰۰ میکرولیتری ریخته و مقدار ۱µl آنزیم محدودگرو ۲µl بافر آنزیم به آن اضافه و سپس با dH2O حجم نهایی به ۲۰µl رسانده شد. سپس لوله‌ها بمدت ۳–۲ساعت در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این مدت، کلیه نمونه‌ها با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد، همراه با مارکر ۵۰bp DNA الکتروفورز و الگوهای هضم آنزیمی محصولات PCR با رنگ آمیزی نیترات نقره قابل مشاهده گردیدند.

نمونه برداری از آب

۴-۱-۲- آزمایش های فیزیکوشیمیایی آب

قبل از نمونه برداری ازآب با استفاده از دستگاه دیجیتال آنالیز آب ، درجه حرارت ، پ هاش و میزان اکسیژن محلول آب ورودی مزارع منتخب ، اندازه گیری و ثبت می شد . ماهیانه درطی ۱۲ ماه از آب ورودی هر مزرعه یک نمونه آب در ظرف پلاستیکی به حجم ۲۵۰ سی سی پس از ثبت اطلاعات اولیه (تاریخ ، نام مزرعه و درجه حرارت) اخذ و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل می گردید و پارامترهایی مثل نیتریت به روش برن اشنایدر و رابینسون با اضافه نمودن محلول‌های سولفانیل آمید و N– (۱– فنیل) اتیلن دی‌آمین دی هیدروکلراید، یون نیتریت موجود ایجاد کمپلکس رنگی نمود که میزان جذب آن در طول موج ۵۴۳ نانومتر اندازه گیری شد. نیترات به روش ستون کاهشی کادمیوم اندازه گیری شد(آرسترونگو–ریچادمو، ۱۹۶۸). ابتدا با عبور نمونه از ستون کاهشی کادمیوم، یون نیترات به نیتریت تبدیل گردید و سپس طبق روش اندازه‌گیری یون نیتریت، انجام و در انتها میزان بدست آمده از غلظت NO-2 اولیه کم شد. ، مقدار اسیدیته آب، به کمک pH متر پرتابل با الکترود حساس مدل 320-WTW تعیین گردید ،آمونیوم به روش فنات اندازه گیری شد (سیرژی_سولورزانو، ۱۹۶۹). یون +NH4 موجود در نمونه مورد نظر با اضافه نمودن محلول‌های فنل و هیپو کلریت کلسیم ایجاد کمپلکس پایداری به رنگ آبی می‌نماید که جذب آن در طول موج ۶۳۰nm قرائت گردید. ،کدورت (کل مواد جامد محلول (TDS) به روش دستگاهی مدل HACH اندازه گیری شدو اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری گردید. نمونه مورد نظر در محل و در داخل شیشه‌های وینکلر جمع‌آوری گردیده و با افزودن محلول‌های یدور قلیایی و کلرور منگان تثبیت شدند. سپس با انحلال رسوب حاصل توسط اسید سولفوریک محلول توسط EDTA دی‌سدیک در مجاورت چسب نشاسته تیتر و اندازه گیری شد و دمای آب با استفاده از ترمومتر جیوه ای بر حسب سانتی گراد ا ندازه گیری شد.

شمارش کلی باکتریهای داخل آب

نمونه برداری از آب ورودی هر مزرعه با استفاده از ظرف پلاستیکی استریل درب دار با حجم ۷۰ میلی لیتر صورت گرفت ونمونه ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از تهیه رقتهای سریالی(10^{-1} ،10^{-2}، 10^{-3}) به روش پورپلیت در محیط TSA (Merck آلمان) کشت به عمل آمد. پلیتها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند (گرمخانه کالیبره شده با استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵) . پس از این مدت شمارش کلی باکتریها انجام گردید. جهت تشخیص جنس باکتری استرپتوکوکوس در پلیتهای فوق، ابتدا از پرگنه های تیپیک نمونه برداری و به روش خطی در محیط آگار خوندار (BA) (Merck آلمان) کشت خالص به عمل آمد. سپس نمونه ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ – ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند و پس از طی این مدت از کلنی های تک بدست آمده رنگ آمیزی گرم انجام گردید. بعد از این مرحله و تایید کلنی های استرپتوکوکسی و شباهت آن با استافیلوکوک ها در نوع رنگ پذیری و شکل ،تست افتراقی کاتالاز گذاشته شد و همه آنهایی را که تست کاتالاز منفی بودند ، به عنوان استرپتوکوک پذیرفته شد (Buller ۲۰۰۴).

روش تجزیه وتحلیل داده ها

داده ها و آمار توصیفی با برنامه SPSS تحلیل و پردازش گردیدند. از ازمونهای ANOVA و برای مقایسه از آزمون دانکن استفاده شد. از تست های نا پارامتریک مثل آزمون کای مربع مقایسه ی نسبت ها نیز استفاده گردید. همچنین از آزمون Kruskal Wallis وLogestic Regresion استفاده شده است. میزان معنی دار بودن در سطح $P<0.05$ ارائه شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

۲-۲- نتایج

۱-۲-۲- علائم داخلی و خارجی مشاهده شده در ماهیان مورد بررسی (قبل از باز کردن و بعد از باز کردن ماهی)

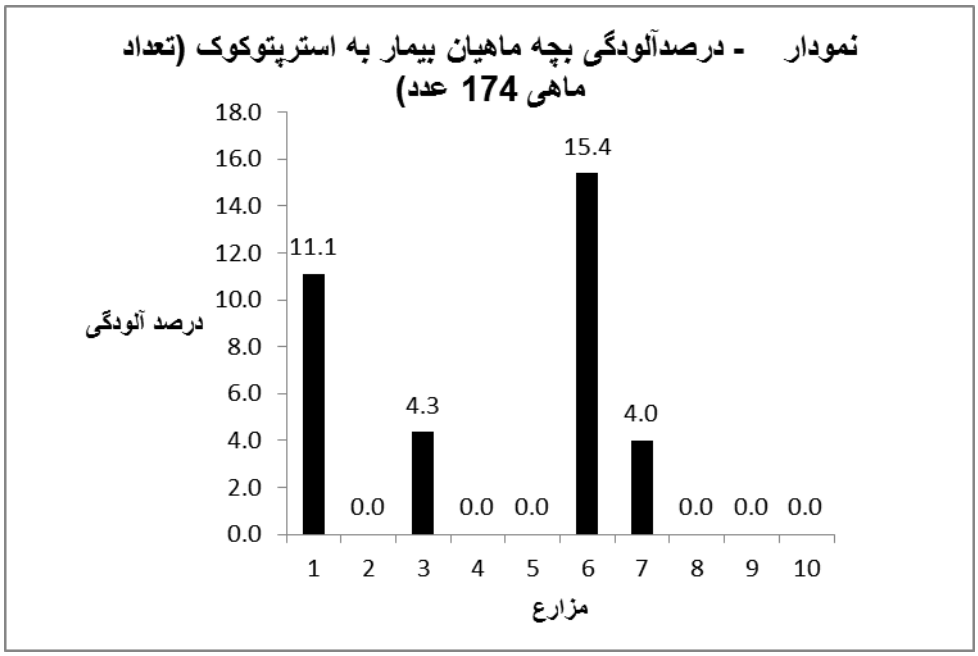
در ماهیان مورد بررسی تنوعی از علایم غیر طبیعی مشاهده گردید که بعضا این موارد بصورت مشترک در ماهیان بیر دیده نشده است و این علائم عبارت بودند از : شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خون ریزی اطراف چشم ها، صفحه آبششی، پایه باله های شکمی و مخرجی ،بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست ، اتساع محوطه بطنی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب مشاهده شد.

از بافت کلیه ۴.۶ درصد از ۱۷۴ عدد بچه ماهی بیمار و ۸.۹ درصد از ۲۳۵ عدد ماهی پرواری بیمار باکتری استرپتوکوک جدا سازی گردید و بقیه نمونه ها به ترتیب ۹۵.۴و ۹۱.۱درصد از نظر استرپتوکوک منفی بودند ، هر چند که از ۰.۷ درصد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی سالم (جدو.ل شماره ۱) و ۱ درصد از ۴۸۳ عدد ماهی پرواری سالم که فاقد هرگونه علائم غیر طبیعی بودند (جدول شماره ۲) باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد.

جدول شماره ۱ : درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد بچه ماهی بیمار در هر مزرعه	بچه ماهی بیمار(۱۷۴)		تعداد بچه ماهی سالم در هر مزرعه	بچه ماهی سالم(۳۰۷)	
		درصدآلودگی به باکتری استرپ	درصد فاقد آلودگی به باکتری استرپ		درصد آلودگی به باکتری استرپ	درصد فاقد آلودگی به باکتری استرپ
۱	18	11.1	88.9	46	0.0	100.0
۲	18	0.0	100.0	38	0.0	100.0
۳	22	4.3	95.7	31	0.0	100.0
۴	21	0.0	100.0	22	0.0	100.0
۵	20	0.0	100.0	31	3.2	96.8
۶	26	15.4	84.6	14	0.0	100.0
۷	25	4.0	96.0	28	0.0	100.0
۸	11	0.0	100.0	36	2.8	97.2
۹	4	0.0	100.0	31	0.0	100.0
۱۰	8	0.0	100.0	30	0.0	100.0
درصد کل	**174**	4.6	95.4	307	0.7	99.3

بیشترین درصد آلودگی بچه ماهیان بیماربه استرپتوکوک به ترتیب ۱۵/۴، ۱۱/۱ ،۴/۳ و ۴ درصد و در مزارع ۶، ۱ ، ۷ و ۳ مشاهده گردید و و در ۶ مزرعه دیگر دیده نشد و بیشترین درصد آلودگی در بچه ماهیان سالم به ترتیب ۳/۲و ۲/۸ درصد در مزارع ۵و ۸ و در ۸ مزرعه دیگر مشاهده نشد (جدول شماره ۱)



جدول شماره ۲ : درصد آلودگی ماهیان پرواری بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد ماهی پرواری بیمار در هر مزرعه	ماهی پرواری بیمار (۲۳۵)		تعداد ماهی پرواری سالم در هر مزرعه	ماهی پرواری سالم (۴۸۳)	
		درصدآلود گی به استرپ	درصد فاقد آلودگی به استرپ		درصدآلود گی به استرپ	درصد فاقد آلودگی به استرپ
۱	15	0	100.0	40	0.0	100.0
۲	10	10.0	90.0	54	0.0	100.0
۳	20	35.0	65.0	46	2.2	97.8
۴	33	3.0	97.0	44	0.0	100.0
۵	33	12.1	87.9	36	8.3	91.7
۶	29	0.0	100.0	51	0.0	100.0
۷	31	0.0	100.0	36	0.0	100.0
۸	26	11.5	88.5	47	0.0	100.0
۹	17	5.9	94.1	68	1.5	98.5
۱۰	21	19.0	81.0	61	0.0	100.0
درصد کل	235	8.9	91.1	483	1.0	99.0

بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرواری بیماربه استرپتوکوک به ترتیب ۳۵ ، ۱۹ ،۱۲/۱ ، ۱۱/۵ ، ۱۰ ، ۵/۹ و ۳ درصدو در مزارع ۳ ، ۱۰ ، ۵ ، ۸ ، ۲ ، ۹ ، ۴ مشاهده گردید و و در ۳ مزرعه دیگر دیده نشد و بیشترین درصد آلودگی در ماهیان پرواری سالم به ترتیب ۸/۳ ، ۲/۲ و ۱/۵ درصد در مزارع ۵ ، ۳ و ۹ و در ۷ مزرعه دیگر مشاهده نشد (جدول شماره ۱)

تصویر شماره ۱ : نتیجه PCR شناسایی گونه استرپتوکوکوک جداسازی شده از نمونه های آلوده
چاهک ۱ = مارکر
چاهک ۲ = نمونه مثبت استرپتوکوک یو بریس

۲-۲-۲- برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب (عوامل خطر) در بروز استرپتوکوکوزیس

جدول شماره ۳ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱

pH	Temperature(^{C})	DO(mg/l)	TDS(g/l)	$NH4^{+}$(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.48±0.22	10.90±0.91	9.510±0.26	0.187±0.013	0.296±0.369	0.764±0.094	0.004±0.003	بهار
8.02±0.44	13.20±1.20	8.117±0.85	0.221±0.091	0.029±0.031	0.507±0.331	0.002±0.003	تابستان
8.35±0.04	10.93±1.82	8.857±0.39	0.173±0.013	0.078±0.048	0.558±0.122	0.001±0.001	پائیز
8.33±0.10	7.57±0.77	9.590±0.04	0.190±0.025	0.066±0.035	0.888±0.166	0.020±0.011	زمستان
8.30±0.30	10.63±2.36	9.026±0.76	0.193±0.050	0.118±0.214	0.681±0.250	0.007±0.009	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱ (اولین مزرعه منطقه هراز از جنوب به شمال)، دامنه میانگین میزان نیتریت حد اقل۰۰۱ /۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۰۰۲ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۱۲۲ در فصل بهار و حد اکثر ۰/۸۸۸ میلی گرم در تابستان، یون آمونیوم حد اقل ۰/۰۲۹ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۲۹۶ میلی گرم در فصل بهار ، مواد جامد محلول حد اقل ۰/۱۷۳ در فصل پاییز ، حد اکثر ۲۲۱/ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن حد اقل ۸/۱۱۷ در فصل تابستان ، حد اکثر ۹/۵۹۰ میلی گرم در لیتر ، درجه حرارت حد اقل ۷/۵۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۳/۲۰ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش حد اقل ۸/۰۲ در تابستان و حد اکثر ۸/۴۸ در بهار تعیین گردید مشاهده گردید.

جدول شماره ۴ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره مزرعه شماره۲

pH	Temperature(°C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	$NH4^+$(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.54±0.20	11.60±1.32	9.18±0.21	0.213±0.017	0.076±0.046	0.819±0.066	0.009±0.003	بهار
8.36±0.16	12.73±0.21	8.45±0.48	0.160±0.036	0.024±0.031	0.660±0.513	0.004±0.004	تابستان
8.26±0.20	10.57±1.56	8.61±0.56	0.193±0.029	0.058±0.031	0.567±0.106	0.001±0.001	پائیز
8.55±0.08	8.50±1.01	9.46±0.14	0.240±0.065	0.064±0.014	0.823±0.089	0.017±0.009	زمستان
8.43±0.20	10.85±1.93	8.92±0.56	0.202±0.050	0.056±0.037	0.717±0.286	0.008±0.008	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۲ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۱ /۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۰۱۷ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۵۶۷ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۸۲۳ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۲۴ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۰۷۶ میلی گرم در فصل بهار ، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۱۶۰ در فصل تابستان ، حد اکثر ۲۴۰/ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۴۵ در فصل تابستان ، حد اکثر ۹/۴۶ میلی گرم در لیتر ، درجه حرارت، حد اقل ۸/۵۰ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۲/۷۳ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۲۶ در پاییز و حد اکثر ۸/۵۵ در زمستان تعیین گردید مشاهده گردید.

جدول شماره ۵ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۳

pH	Temperature(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.38±0.03	11.60±1.64	9.28±0.18	0.200±0.017	0.067±0.023	0.701±0.116	0.006±0.001	بهار
8.48±0.11	14.43±0.67	8.76±0.14	0.180±0.052	0.127±0.113	0.812±0.350	0.004±0.005	تابستان
8.45±0.04	10.40±1.73	9.35±0.33	0.217±0.013	0.071±0.021	0.678±0.148	0.001±0.000	پائیز
8.38±0.14	7.87±1.00	9.88±0.51	0.263±0.098	0.111±0.034	1.146±0.464	0.034±0.034	زمستان
8.42±0.10	11.08±2.71	9.32±0.51	0.215±0.064	0.094±0.065	0.834±0.355	0.011±0.022	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۳ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۱ /۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۰۳۴ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۶۷۸ در فصل پاییز و حد اکثر ۱/۱۴۶ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۶۷ در فصل بهار و حد اکثر ۰/۱۱۱ میلی گرم در فصل زمستان، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۲۶۳ در فصل زمستان ، حد اکثر ۰/۱۸۰ میلی گرم در فصل تابستان ، اکسیژن ، حد اقل ۹/۸۸ در فصل زمستان ، حد اکثر ۹/۲۸ میلی گرم در لیتر ، درجه حرارت، حد اقل ۷/۸۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۴۳ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۳۸ در پاییز و زمستان و حد اکثر ۸/۴۸ در تابستان تعیین گردید مشاهده گردید.

جدول شماره ۶: میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره مزرعه شماره مزرعه شماره۴

pH	Temp(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.51±0.04	10.97±1.61	9.38±0.23	0.223±0.017	0.071±0.016	0.787±0.033	0.007±0.001	بهار
8.40±0.17	13.60±0.58	8.79±0.12	0.180±0.052	0.051±0.043	0.788±0.248	0.009±0.007	تابستان
8.44±0.19	9.90±2.73	9.56±0.60	0.197±0.005	0.168±0.109	0.660±0.180	0.001±0.001	پائیز
7.40±0.80	6.40±0.91	10.17±0.23	0.253±0.055	0.146±0.121	0.955±0.131	0.029±0.033	زمستان
8.19±0.62	10.22±3.08	9.47±0.60	0.213±0.048	0.109±0.097	0.798±0.196	0.011±0.020	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۴ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۱ /۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۰۲۹ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۶۶۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۹۵۵ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۵۱ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۱۶۸ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۱۸۰ در فصل تابستان ، حد اکثر ۰/۲۵۳ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۷۹ در فصل تابستان ، حد اکثر ۱۰/۱۷ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، درجه حرارت، حد اقل ۶/۴۰ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۳/۶۰ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۷/۴۰ در زمستان زمستان و حد اکثر ۸/۵۱ در تابستان مشاهده گردید.

جدول شماره ۷ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره مزرعه شماره ۵

pH	Temp(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.74±0.22	11.53±1.60	9.29±0.20	0.220±0.008	0.082±0.030	0.743±0.092	0.009±0.004	بهار
8.45±0.16	14.60±0.87	8.51±0.22	0.203±0.017	0.076±0.019	0.930±0.239	0.015±0.015	تابستان
7.66±0.09	9.97±1.50	9.46±0.35	0.227±0.027	0.204±0.133	0.404±0.326	0.001±0.001	پائیز
8.45±0.27	7.67±1.08	9.71±0.40	0.233±0.055	0.088±0.028	1.049±0.257	0.019±0.008	زمستان
8.33±0.45	10.94±2.84	9.24±0.54	0.221±0.034	0.113±0.087	0.782±0.343	0.011±0.011	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۵ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۱ /۰ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۰۱۹ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۴۰۴ در فصل پاییز و حد اکثر ۱/۰۴۹ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۷۶ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۲۰۴ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۲۰۳ در فصل تابستان ، حد اکثر ۰/۲۳۳ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۵۱ در فصل تابستان ، حد اکثر ۹/۷۱ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، درجه حرارت، حد اقل ۷/۶۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۶۰ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۷/۶۶ در پائیز و حد اکثر ۸/۷۴ در بهار مشاهده گردید.

جدول شماره ۸ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره مزرعه شماره۶.

pH	Temp.(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.73±0.19	11.10±1.44	9.06±0.23	0.220±0.029	0.084±0.031	0.779±0.047	0.004±0.002	بهار
8.26±0.47	14.13±0.77	8.78±0.08	0.213±0.010	0.053±0.035	0.791±0.068	0.010±0.010	تابستان
8.47±0.08	10.40±1.95	9.29±0.20	0.217±0.013	0.098±0.065	0.424±0.304	0.003±0.003	پائیز
8.02±0.59	5.87±0.70	10.07±0.41	0.183±0.047	0.097±0.017	0.903±0.157	0.027±0.017	زمستان
8.37±0.47	10.38±3.24	9.30±0.55	0.208±0.032	0.083±0.044	0.724±0.251	0.011±0.014	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۶ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۴ /۰ در فصل بهار و حد اکثر ۰/۰۲۷ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۴۲۴ در فصل پاییز و حد اکثر ۰/۹۰۳ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۵۳ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۰۹۸ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۱۸۳ در فصل زمستان ، حد اکثر ۰/۲۲۰ میلی گرم در فصل بهار ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۷۸ در فصل تابستان ، حد اکثر ۱۰/۰۷ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، درجه حرارت، حد اقل ۵/۸۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۱۳ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۰۲ در پائیز و حد اکثر ۸/۴۷ در بهار مشاهده گردید.

جدول شماره ۹ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۷.

pH	Temp.(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.60±0.12	12.17±1.63	9.17±0.06	0.213±0.025	0.091±0.023	0.877±0.070	0.006±0.001	بهار
8.05±0.31	13.90±0.58	8.73±0.19	0.180±0.022	0.061±0.054	0.858±0.351	0.013±0.010	تابستان
8.35±0.12	9.30±2.45	9.53±0.70	0.223±0.021	0.196±0.136	0.444±0.343	0.015±0.009	پائیز
8.19±0.43	6.77±1.13	9.93±0.50	0.210±0.030	0.164±0.101	1.122±0.345	0.048±0.041	زمستان
8.30±0.34	10.53±3.16	9.34±0.62	0.207±0.029	0.128±0.104	0.825±0.385	0.020±0.027	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۷ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۶ /۰ در فصل بهار و حد اکثر ۰/۰۴۸ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۴۴۴ در فصل پاییز و حد اکثر ۱/۱۲۲ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۶۱ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۱۹۶ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۱۸۰ در فصل تابستان ، حد اکثر ۰/۲۲۳ میلی گرم در فصل پائیز ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۷۳ در فصل تابستان ، حد اکثر ۹/۹۳ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، درجه حرارت، حد اقل ۵/۸۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۱۳ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۰۵ درتابستان و حد اکثر ۸/۶۰ در بهار مشاهده گردید.

جدول شماره ۱۰ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۸

فصل	Nitrite(mg/l)	Nitrate(mg/l)	NH4+(mg/l)	TDS(g/l)	DO(mg/l)	Temp.(◦C)	pH
بهار	0.027±0.028	0.811±0.071	0.089±0.019	0.223±0.029	9.15±0.43	10.13±0.84	8.95±0.62
تابستان	0.010±0.009	0.840±0.079	0.065±0.034	0.200±0.017	8.49±0.35	15.37±1.00	8.55±0.14
پائیز	0.002±0.000	0.528±0.345	0.125±0.084	0.213±0.019	9.50±0.54	9.64±2.34	8.43±0.19
زمستان	0.028±0.017	1.030±0.260	0.086±0.013	0.250±0.055	10.20±0.29	7.37±0.60	8.24±0.89
میانگین کل سال	0.016±0.020	0.802±0.284	0.091±0.051	0.222±0.038	9.33±0.74	10.63±3.24	8.54±0.61

در مزرعه شماره ۸ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل۰۰۲ /۰ در فصل پائیز و حد اکثر ۰/۰۲۸ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۵۲۸ در فصل پاییز و حد اکثر ۱/۰۳۰ میلی گرم در زمستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۶۵ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۱۲۵ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۲ در فصل تابستان ، حد اکثر ۰/۲۵۰ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۴۹ در فصل تابستان ، حد اکثر ۱۰/۲۰ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، درجه حرارت، حد اقل ۷/۳۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۵/۳۳ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۲۴ در زمستان و حد اکثر ۸/۹۵ در بهار مشاهده گردید.

جدول شماره ۱۱ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره۹

pH	Temperature(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+(mg/l)	Nitrate(mg/l)	Nitrite(mg/l)	فصل
8.70±0.19	10.83±1.48	9.47±0.47	0.207±0.017	0.080±0.014	0.780±0.097	0.006±0.002	بهار
8.49±0.19	14.17±1.27	8.51±0.30	0.207±0.013	0.065±0.022	1.285±0.821	0.017±0.018	تابستان
8.48±0.19	9.60±2.95	9.64±0.69	0.220±0.017	0.226±0.129	0.542±0.209	0.000±0.000	پائیز
8.49±0.17	7.43±1.05	9.53±0.20	0.267±0.068	0.480±0.382	1.099±0.375	0.044±0.044	زمستان
8.54±0.20	10.51±3.05	9.29±0.64	0.225±0.044	0.213±0.261	0.927±0.542	0.017±0.029	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۹ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل ۰ /۰ در فصل پائیز و حد اکثر ۰/۰۴۴ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۵۴۲ در فصل پاییز و حد اکثر ۱/۲۸۵ میلی گرم در تابستان ، یون آمونیوم، حد اقل ۰/۰۶۵ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۴۸۰ میلی گرم در فصل زمستان، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۲۰۷ در فصول بهار و تابستان ، حد اکثر ۰/۲۶۷ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۵۱ در فصل تابستان ، حد اکثر ۹/۶۴ میلی گرم در لیتر در فصل پائیز ، درجه حرارت، حد اقل ۷/۴۳ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۱۷ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۸/۴ ۸ در پائیز و حد اکثر ۸/۷۰ در بهار مشاهده گردید.

جدول شماره ۱۲ : میانگین برخی پارامترها ی فیزیکوشیمیایی آب مزرعه شماره ۱۰

pH	Temp.(◦C)	DO(mg/l)	TDS(g/l)	NH4+ (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Nitrite (mg/l)	فصل
8.75±0.20	11.20±1.98	9.35±0.35	0.240±0.014	0.087±0.023	1.038±0.096	0.007±0.001	بهار
8.66±0.04	14.27±0.97	8.41±0.30	0.217±0.019	0.071±0.048	0.721±0.863	0.021±0.021	تابستان
8.68±0.17	8.57±2.35	10.07±0.45	0.227±0.027	0.227±0.147	1.049±0.155	0.002±0.001	پائیز
7.87±0.98	7.00±1.58	10.05±0.96	0.263±0.043	0.103±0.072	0.916±0.187	0.049±0.030	زمستان
8.49±0.62	10.26±3.29	9.47±0.89	0.237±0.033	0.122±0.105	1.038±0.466	0.020±0.026	میانگین کل سال

در مزرعه شماره ۱۰ ، دامنه میانگین میزان نیتریت ، حد اقل ۰/ ۰ ۰۲ در فصل پائیز و حد اکثر ۰/۰۴۹ میلی گرم در لیتر در فصل زمستان ، نیترات حد اقل ۰/۷۲۱ در فصل تابستان و حد اکثر ۱/۰۴۹ میلی گرم در پائیز ، یون آمونیوم، حداقل ۰/۰۷۱ در فصل تابستان و حد اکثر ۰/۲۲۷ میلی گرم در فصل پائیز، مواد جامد محلول ، حداقل ۰/۲۱۷ در فصل تابستان ، حد اکثر ۰/۲۶۳ میلی گرم در فصل زمستان ، اکسیژن ، حد اقل ۸/۴۱ در فصل تابستان ، حد اکثر ۱۰/۰۷ میلی گرم در لیتر در فصل پائیز ، درجه حرارت، حد اقل ۷ درجه سانتی گراد در زمستان و حد اکثر ۱۴/۲۷ درجه سانتی گراد در فصل تابستان و پ هاش ، حد اقل ۷/۸۷ در زمستان و حد اکثر ۸/۷۵ در بهار مشاهده گردید.

جدول۱۳ : میانگین سالانه میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی منتخب منطقه هرازاستان مازندران

مزارع	Nitrite (mg/l)	Nitrate (mg/l)	$NH4^+$ (mg/l)	TDS(g/l)	DO(mg/l)	Temp. (^{C})	pH
۱	0.007±0.009	**0.681±0.250**	**0.118±0.214**	**0.193±0.050**	9.026±0.76	10.63±2.36	8.30±0.30
۲	0.008±0.008	0.717±0.286	0.056±0.037	0.202±0.050	8.92±0.56	10.85±1.93	8.43±0.20
۳	0.011±0.022	0.834±0.355	0.094±0.065	0.215±0.064	9.32±0.51	11.08±2.71	8.42±0.10
۴	0.011±0.020	0.798±0.196	0.109±0.097	0.213±0.048	9.47±0.60	10.22±3.08	8.19±0.62
۵	0.011±0.011	0.782±0.343	0.113±0.087	0.221±0.034	9.24±0.54	10.94±2.84	8.33±0.45
۶	0.011±0.014	0.724±0.251	0.083±0.044	0.208±0.032	9.30±0.55	10.38±3.24	8.37±0.47
۷	0.020±0.027	0.825±0.385	0.128±0.104	0.207±0.029	9.34±0.62	10.53±3.16	8.30±0.34
۸	0.016±0.020	0.802±0.284	0.091±0.051	0.222±0.038	9.33±0.74	10.63±3.24	8.54±0.61
۹	0.017±0.029	0.927±0.542	0.213±0.261	0.225±0.044	9.29±0.64	10.51±3.05	8.54±0.20
۱۰	0.020±0.026	1.038±0.466	0.122±0.105	0.237±0.033	9.47±0.89	10.26±3.29	8.49±0.62

۳-۲-۲- تعداد کلی باکتری های داخل آب

جدول۱۴ : میانگین تعداد کلی باکتریهای هوازی در آب ورودی مزارع منتخب مورد بررسی

فصل / مزرعه	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
F1	1753±1097	26607±31378	10590±13966	720±14
F2	6680±5098	28100±31301	60473±85963	433±267
F3	1880±1698	25200±28237	6500±3668	5667±2853
F4	797±262	19993±23173	5887±3905	897±75
F5	2900±1744	33500±40730	50600±57602	3033±671
F6	7320±9130	20633±24872	36783±41018	1500±220
F7	900±381	15500±15160	70307±100467	1037±261
F8	7167±9230	39533±50736	46433±60158	1040±619
F9	8810±10944	33533±42804	53763±76405	1500±220
F10	1157±396	23600±27029	36700±45615	2600±724

میانگین تعداد باکتریهای هوازی به ترتیب از فصل زمستان ، بهار ، تابستان و پاییز افزایش می یابد به طوریکه در فصل زمستان حد اقل $۰/۷ \times ۱۰^{۲}$ و حد اکثر ۵×۱۰^{۳} ، فصل بهار حد اقل $۰/۷ \times ۱۰^{۲}$ و حد اکثر ۸×۱۰^{۳} ، فصل تابستان حد اقل ۱۵×۱۰^{۳} و حد اکثر ۳۹×۱۰^{۳} و فصل پاییز حد اقل $۰/۶ \times ۱۰^{۴}$ و حد اکثر ۷×۱۰^{۴} شمارش گردید.

در بررسی آماری نتایج جهت بررسی تاثیرگذاری برخی از متغییرهای کمی از جمله نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی آب، شمارش کلی باکتریهای هوازی آب بر بروز یا عدم بروز استرپتوکوکوزیس از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

براساس نتایج بدست آمده و با استناد به اینکه عدد صفر (.) برای وقوع بیماری و عدد یک (۱) برای عدم وقوع بیماری استرپتوکوک همراه بامدل Backward ; Wald در نظرگرفته شده بود، چنین به نظر میرسد که متغیرهای مستقل تعریف شده بر متغیر وابسته تاثیر داشته و آزمون مربوطه نشان دهنده برازش مناسبی از مدل است (: chi – square: 58.17 sig.:0.000) .از آنجایی که Nagelkereke R – square درمرحله هفتم برابر با ۰/۲ تعیین گردیده است ، محتمل است تبیین تغییرات متغییر وابسته از روی متغییرهای مستقل در رگرسیون لجستیک ۲۰٪ گردد. به عبارتی تنها ۲۰٪ این تغییرات توسط مدل قابل بررسی است و

احتمالا عوامل دیگری نیز دخیل هستند که میتوانند این درصد را افزایش دهند. حساسیت مدل در تفسیر تغییرات به صورت کلی ۹۷٪ است.

در خاتمه و با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{P}{1-p}\right\} = ۳۳/۹۶ - ۰/۶\text{month} + ۲۲/۷۶\text{nitrite} - ۱/۶۷\ \text{DO} + ۰/۹۶\ \text{Temperature}$$

۳-۲- بحث

استرپتوکوکوزیس از بیماریهای مهم باکتریایی است ، هر چند که در لیست بیماریهای مهم اخطار کردنی سازمان OIE نیست (Eldar and Ghittina, 1999) ولی از چالش های بهداشتی و بیماریهای مهم صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی در سالهای اخیر بوده است بطوریکه در برخی مواقع سال (فصول گرم) موجب بروز تلفات در اغلب مراکز پرورش ماهیان سردابی استانهای صاحب این صنعت (گیلان ، مازندران ، لرستان ، فارس و بویر احمد و کهکولیه و تهران) گردیده است(اخلاقی و کشاورز ، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶ ؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷ و Soltani et al., 2008 و pourgholam et al ,2011همچنین این بیماری به شکل همه گیر در ماهیان آب شیرین و دریایی در اکثر نقاط دنیا و از کشورهای مختلف شامل آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس، نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره گزارش شده است(Bromage& Owens 2002). این بیماری به عنوان بیماری ورشکستگی نامگذاری شده زیرا در فرم حاد می تواند تا ۷۰ درصد تلفات را در ماهیان مبتلا موجب گردد(۱۳۸۱ نامداری ، سعیدی و همکاران۱۳۸۹ Bromage et al 1999، Yanong ، Inlgis et al . 1993 Shoemaker, et al., 2006; Garcia, et al., 2008; Romalde, et al., 2008،& Floyd, 2002). طی این تحقیق مشخص شد که ۸ عدد از ۱۷۵عدد بچه ماهی دارای علائم بیماری (۴/۶درصد) و ۲ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۰/۷ درصد) آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند و از طرفی ۲۱ عدد از ۲۳۵ عدد ماهی (۸/۹ درصد) پرواری دارای علائم بیماری و ۵ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پرواری فاقد علائم بیماری (۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند . در مجموع از ۴۱۰ عدد ماهی بیمار (همراه با علائم) فقط در ۲۸ عدد (۷ درصد) ماهیان استرپتوکوکوزیس مشاهده گردید . نتایج این مطالعه با نتایج پورغلام (سالهای ۸۷ و ۸۸) در استان مازندران که از ۷۲ عدد ماهی واجد علایم بالینی تنها از ۵ عدد (۷ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد کاملا مشابهت دارد . اما این نتیجه با نتایج نامداری(۱۳۸۱) در استان فارس که از ۲۴۰ نمونه ماهی واجد علایم بالینی تنها از ۲۸ عدد ماهی (۱۳ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد نمونه یک اختلاف ۵ درصدی مشاهده می شود. در مطالعه ای دو ساله بر روی عوامل رایج استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در استان فارس از ۴ مزرعه ۶۰۰ عدد ماهی واجد علایم بالینی نمونه برداری و از کلیه، مغز و کبد آنها کشت تهیه گردید. در مجموع ۴۸۰ پرگنه مثبت به استرپتوکوکوزیس بدست آمد (۸۰ درصد) که از این تعداد ۳۹۰ نمونه S. iniae (۸۲ درصد) و ۹۰ نمونه L. garvieae (۱۸ درصد) شناسایی شدند واز طرفی کشت باکتریایی ۲۰ درصد ماهیان واجد علائم منفی بود (Soltani & Tarahomi ۲۰۰۹). در بررسی تعداد دیگری در استان اصفهان ۷۲ عدد ماهی با وزن ۲۰۰ – ۱۵۰ گرم واجد علایم بالینی از ۶ مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان نمونه برداری و در آزمایشگاه از بافت های ۱۰۰ درصد کلیه و کبد آنها کشت میکروبی انجام دادند. باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد(Mohammadi Arani وMoghadas ۲۰۰۹)به نظر می رسد این نزدیکی درصد حضور بیماری استرپتوکوکوزیس در استان مازندران (منطقه هراز) در سالها ی۸۷، ۸۸ با سالهای ۹۰ و ۹۱ با اختلاف یک

زمان دو ساله به دلایلی مثل درجه حرارت آب ، برخی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب ، عدم تغییر و هر گونه اصلاح در کیفیت آب مورد استفاده رودخانه هراز ، عدم استفاده از عوامل پیشگیرانه (محرک های ایمنی غیر اختصاصی و اختصاصی ، اصلاح جیره غذایی ، عدم اصلاح مدیریت جابجای تخم ، لارو ، بچه ماهی و ماهی پرواری) و مدیریت پرورش در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس باشد و اختلاف در صد کمتر حضور بیماری استرپتوکوکوزیس درمنطقه هراز با مزارع استان های فارس و اصفهان به نظر می رسد مربوط به درجه حرارت آب مورد استفاده باشد. از آنجایی که در منطقه هراز از آب رودخانه ای با رژیم برفی یخچالی استفاده میگردد دمای آب کمتر از آب مصرفی در استان فارس و اصفهان است که معمولا از آب چشمه استفاده می گردد که حد اقل چند درجه سانتی گراد با آب رودخانه هراز اختلاف دارد. از عوامل اصلی دیگر اختلاف میتوان به کاهش دبی آب چشمه های مورد استفاده در فصول گرم سال و به دنبال آن کاهش میزان اکسیژن محلول در آب ، تغییرات کیفی آب اشاره کرد (نامداری ۱۳۸۱). از نتایج دیگر این بررسی جداسازی یک باکتری باسیلی شکل گرم منفی از ۴۳/۸ درصد ماهیان واجد علایم بالینی (اعم از بچه ماهی و ماهی پرواری) بود که در شناسایی های بعدی دو جنس یرسینیا و ویبریو جداسازی گردید. نتیجه اینکه در مجموع از ۵۰/۸ درصد ماهیان بیمار دارای علائم و نشانه های بالینی عوامل باکتریایی جدا سازی شد در حالیکه از ۴۹/۲ درصد ماهیان بیمار با علایم بالینی مشابه، کشت باکتریایی آنها منفی بود. در مجموع بررسیهای کمی انجام شده از کل ۵۰/۸ درصد ماهیان واجد علایم بالینی که کشت باکتریایی آنها مثبت بود تنها ۷ درصد آنها مبتلا به استرپتوکوکوزیس بودند. لذا بر خلاف تصور گذشته این بیماری دیگر یک بیماری تهدید کننده مهم در صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی نمی باشد و با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد که بیشتر باید به مشکلات ایجاد شده ناشی از سایر عوامل مانند یرسینیا توجه گردد. نکته دیگری که باید به آن اشاره کرد عدم جداسازی هر گونه باکتری بیماریزا از ۴۹/۲ درصد بچه ماهیان و ماهیان پرواری دارای علائم بالینی بود و این امر باید بیشتر مورد توجه سازمانهای متولی بهداشت این صنعت قرار گیرد. زیرا در نگاه اول با مشاهده علائم بالینی در ماهیان، ممکن است به اشتباه ما را بسوی تشخیص به یک بیماری عفونی باکتریایی هدایت کند که نتیجه آن تجویز آنتی بیوتیک است که این کار نه تنها بیماری راکنترل نمی کند بلکه موجب افزایش مقاومت دارویی باکتریهای محیطی شده و نیز ضرر اقتصادی بیشتری به پرورش دهنده وارد می نماید. همچنین استفاده بی رویه از آنتی بیوتیکها و در پی آن باقی ماندگی دارویی در گوشت ماهی ، بهداشت انسانی را نیز تهدید می کند. بنابر این با توجه به نتایج بدست آمده ضروری است با مشاهده علایم بالینی حتما اقدام به انجام آزمایشات باکتری شناسی شده و نیز سایر عوامل مثل کیفیت جیره مصرفی و یا فاکتورهای محیطی مورد بررسی قرار گیرد.

بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرواری واجد علائم بالینی به باکتری استرپتوکوک به ترتیب ۳۵ ، ۱۹ ، ۱۲/۱ ، ۱۱/۵ ، ۱۰ ، ۵/۹ و ۳ درصد به ترتیب و در مزارع ۳ ، ۱۰ ، ۵ ، ۸ ، ۲ ، ۹ ، ۴ مشاهده گردید و در ۳ مزرعه (مزارع ۱، ۶ و ۷) دیگر ، دیده نشد(جدول شماره ۱). از طرف دیگر در بچه ماهیان واجد علائم بالینی به

باکتری استرپتوکوک به ترتیب ۱۵/۴، ۱۱/۱ ،۴/۳ و ۴ درصد و در مزارع ۶، ۱ ، ۷ و ۳ مشاهده گردید(جدول شماره ۱). تحلیل بدست آمده از این نتایج نشان می دهد:

۱- استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز در تمام مزارع منتخب مورد بررسی مشاهده گردیده و علی رغم اینکه بروز آن گسترده است درشرایط فعلی یک بیماری تهدید کننده محسوب نمی گردد.

۲- ماهیان قزل آلای پرواری در مقایسه با بچه ماهیان حساسیت بیشتری نسبت به بیماری داشتند.

۳- دو مزرعه شماره ۱ و ۲ که به شکل مستقل از رودخانه هراز آب می گیرند و با آب خروجی مزارع دیگر ارتباط ندارند ، از بیماری ایمن نیستند.وبعبارت دیگر منابع آلودگی غیر از آب ورودی مزارع از جمله انتقال ماهیان آلوده ، منابع آلوده کننده دامی و...میتوانند در ایجاد آلودگی و بروز بیماری موثر باشند.

۴- منبع آب مشترک و عدم اصلاح آب خروجی مزارع و و رود مستقیم آن به رودخانه یک عامل اصلی در انتشار و گسترش آلودگی استرپتوکوکوزیس است

در این راستا این سئوال مطرح می گردد که چرا بیماری در تمام مزارع این منطقه مشاهده شد، هرچند که درصد تلفات ماهیان واجد علائم این بیماری در مقایسه با مناطقی مثل استان های چهارمحال و بختیاری ، لرستان، فارس و کهکیلویه و بویراحمد بسیار کمتر است . نتیجه دیگر آنکه در ماهیان پرواری به ظاهر سالم بیشترین درصد آلودگی به ترتیب ۸/۳ ، ۲/۲ و ۱/۵ درصد در مزارع ۵ ، ۳ و ۹ بود در حالیکه باکتری از این گروه از ماهیان در سایر مزارع جداسازی نشد. همچنین این باکتری از ۳/۲و ۲/۸ درصد بچه ماهیان به ظاهر سالم در مزارع ۵و ۸ جداسازی گردید در حالیکه کشت سایر بچه ماهیان سالم از سایر مزارع منفی بود(جدول شماره ۱).

براین اساس به نظر می رسد که ماهیان پرواری و بچه ماهیان به ظاهر سالم که فاقد هر گونه علایم بالینی هستند به عنوان ناقل عمل کرده مهمترین نقش در انتقال بیماری ازیک مزرعه به مزرعه دیگر را بازی می کنند و متاسفانه این نقل وانتقال ها بدون انجام هرگونه تمهیدات بهداشتی در منطقه هراز به کرات اتفاق می افتد.

در ماهیان واجد علایم بالینی طیف متنوعی از علایم غیر طبیعی مشاهده گردید که شامل:

شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خون ریزی در اطراف چشم، صفحه آبششی، قاعده باله های شکمی و مخرجی، اتساع محوطه بطنی، زخم در پوست، خونریزی در دهان، خونریزی در عضلات، کیسه شنا، پرخونی کلیه و طحال ،رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، آب آوردگی شکم و در مواردی بروز خونریزی در سطح روده ، کبد و قلب مشاهده شد. لیکن نمی توان به صراحت گفت که علائم اختصاصی استرپتوکوکوزیس کدام بوده است زیرا در این بررسی به غیر از باکتری استرپتوکوک ، باسیل های گرم منفی (پرسینیا) از بافت کلیه جدا سازی شد. همچنین باید در نظر داشت که ۲/ ۴۸ درصد ماهیان واجد علائم از نظر کشت باکتری منفی بودند ، که باید علل ایجاد کننده این علایم را در مدیریت تغذیه و آب جستجو کرد. هرچند علایم بالینی مشاهده شده در بسیار از مطالعات دیگر نیز آمده است(Yanong & Floyed ۲۰۰۲؛ Salvador و همکاران، ۲۰۰۵ ؛ Eldar *et al.*,۱۹۹۷ ؛

Soltani *et* ؛Saeedi *et al.*,2009 ؛Pourgholam *et al.*,2010 ؛Bromage & Owens, ۲۰۰۲ ؛Bromage *et al.*,۱۹۹۹ *al.*2005-2008 ؛ Amal و Zamri-saad ۲۰۱۱. اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶ ؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ نامداری، ۱۳۸۱) لیکن نمی توان صرفا بر اساس علایم بالینی به تشخیص قطعی استرپتوکوکوزیس رسید.

در این مطالعه از ۴۱۰ عدد ماهی پرواری و بچه ماهی بیمار (واجد علائم بالینی) مورد بررسی ۲۹ مورد (۷/۲ درصد) و از ۷۱۰ عدد ماهی پرواری و بچه ماهی سالم (فاقد علائم بالینی) ۷ مورد(۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند . باکتری استرپتوکوک جدا سازی شده بر اساس آزمون های های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus Uberis*) شناسایی گردید . باکتری S. uberis از عوامل مهم ورم پستان تحت درمانگاهی در گاوهای شیری است که باعث کاهش شیر می گردد و متاسفانه اطلاعات کمی از بیماریزایی و اپیدمیولوژی این باکتری در دسترس است(Coffy و همکاران ۲۰۰۶) .در مطالعه پورغلام و همکاران در سال ۲۰۱۰ از ۷۲ ماهی بیمار واجد علائم در استان مازندران (منطقه هراز) ۵ مورد مثبت (۷ درصد) به باکتری استرپتوکوک و از نوع استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus facieum*) را گزارش کرداند .نامبرده استرپتوکوکوس یوبریس را با درصد فراوانی ۳۸/۹٪ به عنوان رایج ترین عامل استرپتوکوکوزیس در استانهای چهار محال بختیاری، گیلان، کهکیلویه و بویراحمد، کرمانشاه و فارس گزارش کرده است و از طرفی در سال ۱۳۷۹ قیاسی و همکاران نیز از مولدین ماهی قزل آلا ی رنگین کمان باکتری استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus facieum*) را در منطقه هراز گزارش کرد ندکه نتایج هر دوی این مطالعه با مشاهدات ما ۱۰۰ درصد اختلاف دارد ، استرپتوکوکوس یوبریس که در دیگر استانها رایج ترین نوع آلودگی ماهیان سردابی به بیماریهای باکتریایی استرپتوکوکی است، اما چرا این باکتری در مزارع ماهیان سردابی استان مازندرا ن (منطقه هراز) مشاهده شده است ؟ به نظر می رسد نقل و انتقال تخم های چشم زده، لارو، بچه ماهی، ماهیان پرواری ، غذا ، وسایل حمل ونقل و حتی در مواردی نقل و انتقال مولدین و نیز عدم توجه به قرنطینه ، مهمترین عامل نقل و انتقال این آلودگی باشد. در خصوص بیماریزایی این باکتری در ماهیان اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد.

در بررسی آماری نتایج بدست آمده جهت بررسی تاثیرگذاری برخی از متغیرهای کمی از جمله نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی آب، شمارش کلی باکتریهای هوازی آب بر بروز یا عدم بروز استرپتوکوکوزیس از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید.براساس نتایج بدست آمده و با استناد به اینکه عدد صفر (.) برای وقوع بیماری و عدد یک (۱) برای عدم وقوع بیماری استرپتوکوک همراه بامدل Backward ; Wald در نظرگرفته شده بود، چنین به نظر میرسد که متغیرهای مستقل تعریف شده بر متغیر وابسته تاثیر داشته و آزمون مربوطه نشان دهنده برازش مناسبی از مدل است (chi – square: 58.17 : sig.:0.000) .از آنجایی که R – square Nagelkereke درمرحله هفتم برابر با ۰.۲ تعیین گردیده است ، محتمل است تبیین تغییرات متغییر وابسته از روی

متغییرهای مستقل در رگرسیون لجستیک ۲۰٪ گردد. به عبارتی تنها ۲۰٪ این تغییرات توسط مدل قابل بررسی است و احتمالا عوامل دیگر یا دیگری نیز دخیل هستند که میتوانند این درصد را افزایش دهند. حساسیت مدل در تفسیر تغییرات به صورت کلی ۹۷٪ است.

در خاتمه و با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{p}{1-p}\right\} = ۳۳/۹۶ - ۰/۶ \text{ month} + ۲۲/۷۶ \text{ nitrite} - ۱/۶۷ \text{ DO} + ۰/۹۶ \text{ Temperature}$$

با توجه به نتایج قوق تاثیر گذاری نیتریت بسیار بالا بوده وتقریبا با یک واحد(ppm) میلی گرم در لیتر تغییر، ۲۲برابر در احتمال وقوع بیماری تغییر ایجاد مینماید. درصورتی که به ازای هر یک درجه سانتی گراد افزایش دما، یک درجه به بروز بیماری و به ازای هر ۱/۵واحد کاهش اکسیژن محلول در آب ، یک درجه میزان بروز بیماری تغییر می نماید(افزایش مییابد).

لذا به طور کلی به نظر میرسد در بروز استرپتوکوکوزیس عوامل مدیریتی و بهداشتی در سطح مزرعه از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده وارزیابی آنان بسیار مهم است.

بطور کلی نتایج بدست آمده مؤید این مطلب است که عواملی از جمله میزان نیتریت ،درجه حرارت و اکسیژن محلول در آب و نیز ماههای سال (فصول) که باز بیشتر به درجه حرارت مرتبط می شود به میزان ۲۰٪ بروز استرپتوکوکوزیس را تحت تاثیر قرار می دهند

یکی از عوامل مهم و تاثیر گذار در بروز بیماریهای باکتریایی ماهی وجود استرس است که میتواند ناشی از شرایط محیطی باشدکه از جمله می توان به درجه حرارت آب که متاثر از درجه حرارت هوا است اشاره کرد . میانگین درجه حرارت آب مزارع منتخب (جدول ۱۷) که در چهار فصل مورد بررسی قرارگرفت به غیر از یک مورد (مزرعه ۸) که در تابستان ۱۵.۳ درجه سانتی گراد ثبت گردید در بقیه مزارع بین ۵/۷۸ تا ۱۴/۶ درجه سانتی گراد متغییر بود ،بنابراین درجه حرات یکی از عوامل محدود کننده استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز بود و درصد آلودگی ماهیان بیمار گواه بر این ادعا است و بر اساس مدل لوجیت به ازای افزایش یک درجه سانتی گراد یک درجه بروز بیماری بیشتر می شود لذا درجه حرارت پایین آب مورد استفاده در منطقه هراز می تواند یکی از عوامل محدود کننده اصلی بیماری مورد نظر باشد . مطالعات دیگر محققین نشان داده است که درجه حرارت بیش از ۱۵ درجه سانتیگراد می تواند با افزایش تکثیر و قدرت بیماری زایی باکتری در انتشار و گسترش بیماری مورد نظر نقش داشته باشد (Eldar و Ghittino ۱۹۹۹). Inglis et al درمطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادکه بین استرس های محیطی به ویژه درجه حرارت آب و فصل که به درجه حرارت آب نیز مرتبط است و بروز استرپتوکوکوزیس ارتباط معنی دار وجود دارد بطوریکه باعث تلفات ۵۰ درصدی در ماهی می گردد . Sepahi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی اثر درجه حرارت آب بر میزان بازماندگی ماهی قزل آلا در مواجهه با دز های مختلف باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد نشان داد که پس از ۲ – ۳ روز علائم بالینی ظاهر شده و میزان بازماندگی با افزایش دز راتا ۱۳ درصد گزارش کردند و حال

آنکه در دمای ۱۲ درجه سانتی گراد میزان بازماندگی در مقایسه با دمای ۱۸ درجه سانتی گراد دارای اختلاف معنی داربود و بین ۲ تا ۳ برابر در شرایط یکسان (دز مساوی) میزا ن ماندگاری ماهی در درجه حرارت ۱۲ درجه سانتی گراد بیشتر است . Hamid و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که بین بروزو شیوع این بیماری با درجه حرارت آب (۱۸ درجه سانتی گراد) رابطه معنی دار وجود دارد . درجه حرارت آب نه تنها در ماهیان سردابی موجب افزایش حساسیت به عفونت استرپتوکوکی میگردد، بلکه در ماهیان گرمابی نظیر تیلاپیا نیز افزایش درجه حرارت و در حرارت بیش از ۳۰ درجه سانتیگراد بروز بیماری و تلفات ناشی ازآن بسیار بیشتر از حرارت زیر ۳۰ درجه سانتیگراد است(Rodkhum و همکاران ۲۰۱۱. و Blv و Clem ۱۹۹۲).

یکی دیگر از عوامل مستعد کننده این بیماری که با حرارت نیز در ارتباط است ، اکسیژن محلول در آب است که با افزایش و کاهش آن رابطه مستقیم دارد . در تمامی فصول مورد بررسی و در تمامی مزارع منتخب ، میزان اکسیژن محلول در آب بین ۸.۵ میلی گرم در لیتر در تابستان و ۱۰.۲ میلی گرم در لیتر متغیر بود و این میزان اکسیژن محلول در آب با معیارهای زیست محیطی ماهی قزل آلا برای پرورش منطبق و بسیار مطلوب می باشد(لاوسون ۱۳۸۰) مطلوب بودن میزان اکسیژن محلول در آب محیط پرورش در منطقه هراز و با استناد به دبی آب مورد استفاده و درجه حرارت کمتر از ۱۵ درجه سانتیگراد آب می تواند از عوامل محدود کننده استرپتوکوکوزیس در این منطقه باشد ، اما بر اساس نتایج آماری به ازای هر ۱.۵ واحد کاهش اکسیزن محلول در آب یک درجه در میزان بروز بیماری تغییر ایجاد شده ، یعنی افزایش می یابد . با توجه به ضرایب بدست آمده درمعادله مدل لوجیت تاثیر گذاری میزان نیتریت آب بسیار بالا بوده وتقریبا با یک واحد(ppm) میلی گرم در لیتر تغییر، ۲۲برابر در احتمال وقوع این بیماری تغییر ایجاد مینماید و این نتیجه بدست می آید که میزان نیتریت در مقایسه با دیگر پارامترهای تاثیر گذار مثل درجه حرارت آب ، میزان اکسیژن محلول در آب و ماهها از تاثیر گذار ترین عامل است که با کنترل این پارامتر می توان با شرایط حاکم بر این منطقه تا ۲۰ درصد از بروز بیماری پیشگیری نمود . میزان نیتریت آب ۱۰ مزرعه منتخب مورد بررسی ۱۰ تا ۱۰۰ برابر کمتر از محدوده حد مجاز با معیارهای زیست محیطی ماهی قزل آلا برای پرورش تعیین گردید(جدول ۱۷) هر چند که میزان آن برای باکتری استرپتوکوک معلوم نیست اما بالابودن میزان اکسیزن محلول در آب و پایین بود ن در جه حرارت آب در کنترل میزا ن ترکیبات نیتروژنی ازجمله میزا ن نیتریت موثر است . Inglis et al درمطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادکه بین استرس های محیطی به ویژه کیفیت بد آب از نظر میزان نیتریت و آمونیاک رابطه معنی دار وجود دارد . در بررسی های آماری تبیین تغییرات متغییر وابسته (بیماری) از روی متغییرهای مستقل (برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی اب)در رگرسیون لجستیک ۲۰٪ تعیین گردید . به عبارتی تنها ۲۰٪ این تغییرات توسط مدل قابل بررسی است و احتمالا عوامل دیگر یا دیگری نیز دخیل هستند که میتوانند این درصد را افزایش دهند ، لذا به طور کلی به نظر میرسد در بروز استرپتوکوکوزیس عوامل مدیریتی و بهداشتی (رقم بندی و یا سورتینگ ، آمونیاک غیر یونیزه ، تراکم ، میزان رسوب کف استخر ، سرعت آب داخل استخر ، کیفیت غذای

مصرفی ، تعدا د باکتری استرپتوکوک در واحد حجم آب ، جابجایی بچه ماهی ، نگهداری ماهی در دو اقلیم متفاوت مثلا دشت و کوهستان با درجه حرارت و کیفیت آب متفاوت ، استفاده از ابزار مشترک در جابجایی ، وسایل حمل و نقل ، نوعی بچه ماهی وتفاوت در نوع جمعیت ماهی پرورشی و اندازه ماهی ، نظافت استخر ، عدم قرنطینه بچه ماهی و ... خریداری شده در زمان رها سازی) در سطح مزرعه از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده که در مطالعه ما با توجه به حجم کار و تغییر وضعیت موجود و عدم ثبات پارامتر های مذکور در طول زمان بررسی مد نظر قرار نگرفت به رغم اینکه از نظر ارزیابی بسیار مهم بوده است. نتیجه آنکه استرپتوکوکوزیس در حال حاضر در منطقه شرق استان مازندران بر خلاف تصور یک بیماری غالب نبوده و چالش های دیگری مثلا بیماری دهان قرمز و بیماریهای غیر عفونی پیش روی صنعت آبزی پروری ماهیان سردابی است.

پیشنهادها

۱- با توجه به اهمیت بیماری و درصد تلفات ناشی از آن در شرایطی با درجه حرارت بیش از ۱۵ درجه سانتی گراد آب ، در مزارعی راکه از آب چاه وچشمه در شرایط دشت و نه کوهستان استفاده می کنند مورد بررسی قرار گیرد ، تا بر این اساس ، جابجایی ها با انجام و اعمال مدیریت بهداشتی انجام گیرد

۲ درصد تلفات با نوع استرپتوکوک مشاهده شده در دیگر استانهای شیلاتی مثل چهار محال ، یاسوج ، فارس ، کرمانشاه ، لرستان و آذربایجان بررسی گردد ، تا براساس اهمیت نوع استرپتوکوک هرگونه برنامه ریزی های کنترلی انجام شود

۳ جرای برنامه های مدیریت های پرورش ، مدیریت بهداشتی به ویژه اجرای قرنطینه در اولویت کنترل این بیماری قرار گیرد

۴- با توجه به گونه استرپتوکوک مشاهده شده در استان مازندران استفاده از واکسن استرپتوکوک که از دو باکتری استرپتوکوکوس اینئی و لاکتوکوکوس گاروئی تهیه شده است ، توصییه نمی گردد ،چونکه برای پرورش دهنده اقتصادی نخواهد بود ، ضمن آنکه ابهام های دیگری در پیش رو دارد

۵- به نظر استفاده از پروبیوتیک ها و دیگر محرک های ایمنی برای کنترل بیماری و جلوگیری از خسارتهای احتمالی زیاد ناشی از آن باید موثر تر باشد

۶- برای کنترل مشکلات این صنعت در منطقه هراز ، اجرای مدیریت واحد و متمرکز بر این صنعت یکی از موثرترین ابزار مدیریتی می باشد که انجام آن از طریق سازمانهای اجرایی امکان پذیر است .

۷- با شرایطی را که بر صنعت آبزی پروری منطقه هراز از نظر مدیریت استفاده از آب ، غذا ، پرورش و بهداشت حاکم است ، حل هر گونه مشکل پیش آمده غیر ممکن بنظر می رسد

۸- به صرف مشاهده علائم بالینی در ماهی ، استفاده از آنتی بیوتیک حد اقل تا ۵۰ درصد ،نه تنها استفاده ای نخواهد داشت بلکه ضرر نیز دارد

۹- برگزاری انتقال یافته های این بررسی برای کاربران اصلی (پرورش دهندگان هراز ، کارشناسان شیلات استان مازندران)

منابع

۱- آذری تاکامی،ق.، ۱۳۶۳. اصول تکثیر و پرورش ماهی، انتشارات روابط عمومی وزارت جهاد کشاورزی، ۱۵۲ صفحه – صفحه .۳۸

۲- آذری تاکامی ، ق . ۱۳۸۵. مدیریت بهداشتی و روشهای پیشگیری و درمان بیماریهای ماهی . انتشارات پریور. ویرایش دوم با ضمیمه بیماری استرپتوکوکوس . ۳۱۲ صفحه

۳- اخلاقی. مصطفی، محمد کشاورزی، ۱۳۸۱، وقوع استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش قزل آلای استان فارس، مجله تحقیقات دامپزشکی ایران، دانشگاه شیراز، دوره سوم، شماره دوم، ۱۹۰ – ۱۸۳

۴- اینگلیس،ر.ج . روبرت،ن.ر. و برومیج .?. بیماریهای باکتریایی ماهی .سلطانی، م . ۱۳۷۵ . انتشارات سازمان دامپزشکی کشور . ۵۳۱ صفحه

۵- پورغلام، رضا، علی مکرمی رستمی، علی اصغرسعیدی، عیسی‌شریف‌پور، احمد غرقی، حمزه پورغلام،۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بعضی از بافت‌ها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم، شماره ۲ ، ۱۸ – ۹

۶- جی . پست.؟. بهداشت ماهی .ستاری،م. و روستایی، م.، ۱۳۷۷ . انتشارات دانشگاه گیلان. ۲۸۴

۷- ستاری م. ماهی شناسی (۱). چاپ اول، انتشارات نقش مهر، ۱۳۸۱؛ ۱۸۶-.۱۶۲

۸- سلطانی، م . ، ۱۳۸۰ . بیماریهای آزاد ماهیان . انتشارات دانشگاه تهران.۴۴۴ صفحه

۹– سلطانی، مهدی و غلامرضا نیکبخت بروجنی، ۱۳۸۶، استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل آلای ایران، مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، ۲۵ – ۲۳ بهمن ۱۳۸۶، اهواز، ایران، ۴

۱۰- عمادی، حسین، ۱۳۸۴، تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا و آزاد، نشر آبزیان

۱۱- عمادی ح. تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا و آزاد. چاپ هشتم، انتشارات علمی آبزیان، ۱۳۸۶؛ ۸-.۱

۱۲- فریکس، ن . و میلر ، الف. ?. جداسازی و شناسایی عوامل بیماریزای باکتریایی در ماهی. سلطانی، م . شریف پور، ع . و قیاسی، م .۱۳۸۳ . انتشارات بین الملل شمس . ۹۴ صفحه

۱۳- فرزانفر ع. تکثیر و پرورش آزادماهیان. چاپ اول، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۳۸۴؛ ۶-۳ و ۵۱-.۳۲

۱۴- فقانی، ط.، ۱۳۸۵ . پایان نامه کارشناسی ارشد، اثر ارگوسان Aquavac Ergosan و واکسن Aquavac Garvetil بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، تحریک سیستم ایمنی و رویارویی با باکتری استرپتوکوک در قزل آلای رنگین کمان ، ۱۲۳ صفحه. صفحات ۱ و ۴.

۱۵- قلی پور کنعانی، حسنا، داور شاهسونی، احمد رضا موثقی، ۱۳۸۶، مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، ۲۵ – ۲۳ بهمن ۱۳۸۶، اهواز، ایران،۱۵

۱۶- قیاسی، مریم ، آذین زاهدی، حسینعلی خوشباور رستمی، ۱۳۷۹، بروز اپیدمی استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis) در ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان، اولین همایش بهداشت و بیماریهای آبزیان، ۲۷ – ۲۵ بهمن، اهواز، ایران، ۵۲

۱۷– قیاسی، مریم وآذین زاهدی، ۱۳۸۶، شناسایی عوامل بیماریزا در مزارع تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران، سمیتار ملی زیست شناسی، ۲۴ – ۲۶ اردیبهشت ۱۳۸۶، مرند، ایران، ۱۱۱

۱۸- لاوسون ت و جعفری باری م. اصول مهندسی آبزیان. چاپ اول، معاونت تکثیر وپرورش آبزیان،۱۳۸۰؛۳۱-۶۵

۱۹- لیف، م. و پیرس، ب. ؟. اطلس رنگی میکروبشناسی عملی.سعیدی اصل، م . صفری، ر. و میرزایی، ح. ۱۳۸۱. انتشارات نشر جهانکده . ۱۴۷ صفحه

۲۰- مظلومی، م.، ۱۳۸۲. استرپتوکوکوز، انتروکوکوز : بیماریهای مهم اقتصادی در پرورش ماهی، انتشارات نوید شیراز، چاپ اول . ۹۴ صفحه.

۲۱– موسوی، سید سمانه،۱۳۸۶ بررسی بروز استرپتوکوکوزیس و استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۲۲- ناظم، م.و نادری نسب، م.، ۱۳۶۷. باکتری شناسی پزشکی . انتشارات آستان قدس رضوی . ۳۲۰ صفحه. صفحه ۲۸

۲۳- وثوقی،غ.، مستجیر،ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه – صفحه ۱۳۷ – ۱۳۸

۲۴- وزیری، ب.، ۱۳۶۳. اصول آزمایشهای بیوشیمیایی در میکروب شناسی تشخیصی، انتشارات امیر کبیر، ۱۷۶ صفحه

۲۵– هوشمند، الهام و حمید حقیقی، ۱۳۸۸، استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه عامل استرپتوکوکوزیس در یک مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان در غرب گیلان، نخستین همایش ملی ماهیان سردآبی، ۲۴ – ۲۲ اردیبهشت ۱۳۸۸، تنکابن، ایران، ۱۱۴.

26- Agnew, W. and Barnes, A.C., 2007. *Streptococcus iniae*: An aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination, Journal of Veterinary Microbiology, Vol.122, pp.1-15.

27- Amal, M.N.A., Zamri-Saad, M., 2011, Streptococcosis in Tilapia (Oreochromis iloticus): A Review, *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*. 34 (2): 195 – 206

28- Austin,B.and Austin,D.1993.Bacterial fish pathogens diseases in farmed and wild fish. Ellis Horwood limited . pp.27-37 and 70-73

29- Austin, B. and Austin, D.A. 1999. Third ed .Chapter 2: Characteristics of the diseases. In Bacterial Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer-Praxis, Praxis Publishing, Ltd .Chichester, cUK. pp 13-15.

30- Baya, A.M., Lupiani,B.,Hetirck, F.M.,Roberson, B. S., Lukacovic, R.,May , E. and Poukish, C. 1990. Association of *Streptococcus sp.* With fish mortalities in the Chesapeake Bay and its tributaries. Journal of Fish Diseases13,251-253

31- Beack. G. W; Kim. J. H; Gomez. D. K; Park. S. C; 2006, Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island, *Journal of Veterinary Science*, 7(1), 53 – 58
32- Bekker. A, Hugo. C, Albertyn. J, Boucher. C. E, Bragg. R. R, Pathogenic Gram-positive cocci in South African rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), *Journal of Fish Diseases*, 34: 483–487
33- Blv.J. E and Clem. L. W, 1992, Temperature and teleost immune functions, *Fish & Shellfish Immunology*,2, 159-171
34- Bond C.Biology of fishes.Oregon state university,1979;85-112.
35-Bowser,P.R.; Wooster,G.A.; Getchell,R.G.; Timmons, M.B.1998. *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility, Journal of the World Aquaculture Society . vol. 29, no. 3, pp. 335-339
36- Boyd CE.Water quality management for pond fish culture.1edition. Amsterdam. Elsevier Science Publishers, 1982; 6-49
37- Bragg. R.R. and Broere J.S.E., 1986, Streptococcosis in rainbow trout in South Africa. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* , 6: 89–91.
38- Brunt,J.and Austin,B.2005.Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rain bow trout , *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) . journal of fish diseases.vol.28,pp.693-701
39- Carson. J; Judkovs. N; Austin. B;1993, Characteristics of an Enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout, (*Oncorhychus mykiss* Walbaum). *Journal of Fish Disease*, 16:381-388
40- Coffey. T. J. ,Pullinger. G. D, Urwin. R, Jolley. K. AWilson. S. M, Maiden. M. C, Leigh. J. A, 2006, First Insights into the Evolution of Streptococcus uberis: a Multilocus Sequence Typing Scheme That Enables Investigation of Its Population Biology, *Applied and Environmental Microbiology*, 1420–1428
41- Colorni, A.A., Diamant, A. Eldar, A. Kvitt, H. and Zlotkin, A. 2002. Streptococcus iniae infections in Red Sea cage-culture and wild fish. Diseases of Aquatic Organism, Vol. 49, pp. 165-170
42- Darwish A.M. and Ismaiel A.A. 2003. Laboratory efficacy of amoxicillin for the control of *Streptococcus iniae* infection in sunshine bass. Journal of Aquatic Animal Health.vol . 15 , pp.209-214
43- Darwish, A.M. and Hobbs, M.S. 2005. Laboratory efficacy of amoxicillin for the control of *Streptococcus iniae* infection in blue tilapia. Journal of Aquatic Animal Health .vol .17 , pp. 197-202
44- Egusa.Sh.,1991,Infectious diseases of fish.English transl., Sakana no Kansensho . Oxonian press Pvt. Ltd. New Delhi, 696 PP
45- Eldar. A., Frealier P.F., Asanta L., Varner P.W., Lawhon S., Bercovier H., 1995, Streptococcus shiloi, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of Streptococcus iniae, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45:840–842.
46- Eldar, A.and Ghittino, C.1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases, journal of Diseases of Aquatic Organisms . vol. 36, no. 3, pp. 227-231
47- Eldar, A.; Horovitcz, A. and Bercovier, H. 1997. Development and efficacy of a vaccine against Streptococcus iniae infection in farmed rainbow trout, journal of VET. IMMUNOL. IMMUNOPATHOL. vol. 56, no. 1-2, pp. 175-183
48- Eldar, A.; Perl, S.; Frelier, P.F. and Bercovier, H. 1999. Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection, journal of Diseases of Aquatic Organisms . vol. 36, no. 2, pp. 121-127
49- Erfanmanesh. A, Soltani. M, Pirali. E, Mohammadian. S, Taherimirghaed. A, 2012, Genetic Characterization of Streptococcus iniae in Diseased Farmed Rainbow Trout (Onchorhynchus mykiss) in Iran, *The ScientificWorld Journal*, 1 -6
50- Evans D, ClaiboneJ.The physiology of fishes.Third Edition.CRC,Newyork, 2006; 110-258.
51- Evans, J.; Klesius,P.H. and shoemaker,C.2006.Therapeutic and prophylactic immunization against *streptococcus iniae* infection in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) .journal of Aquaculture Research.vol.37,pp.742-750
52- Evans, J.J., Klesius, P.H.,Gilbert, P.M., Shoemaker, C., Al-Sarawi,M., Landsberg, J., Durumdez,R., Al-Marzouk, A., Al-Zenki, S., 2002. Characterization of β-haemolytic Group B Strep−tococcus agalactiae in cultured seabream, Sparus auratus and wildmullet, Liza klunzin−geri (Day) in Kuwait. *Journal of Fish Diseases*, 25: 505–513.
53- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Klesius, P.H., & Al-Ablani, S, 2006b, First report of Streptococcus agalactiae and Lactococcus garviae from wild bottlenose dolphin (Tursiops truncates). *Journal of Wildlife Diseases*, 45: 561-569

54- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Klesius, P.H., & Shoemaker, C.A., 2006a, Identification and epidemiology of Streptococcus iniae and Streptococcus agalactiae in tilapia, Oreochromis spp. International Symposium on Tilapia in Aquaculture 7 (pp. 25-42). Charles Town, WV, USA, American Tilapia Association.
55- Evans. J.J, Klesius. P. H, Pasnik. D. J, Bohnsack. J. F, 2009, Human Streptococcus agalactiae Isolate in Nile Tilapia(Oreochromis niloticus), Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid, 15(5): 774 -,776
56- Facklam, R., Elliott, J., Shewmaker, L., Reingold, A,2005. Identification and characterization of sporadic isolates of *Streptococcus iniae* isolated from humans. J. Clin. Microbiol. 43, 933-937
57- Facklam, R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C., and Sconyer, B. J., 1973 . presumptive identification of group A, B and D streptococci. *Appl. Microbiol* . 27: 107 – 113
58- Fadaeifard. F, Momtaz. H, Rahimi. E, Mirzakhani. A, 2011, Detection of streptococcus iniae and Lactococcus garvieae by multiplex polymerase chain reaction (PCR) in some rainbow trout farms of Iran, *African Journal of Biotechnology*, 11(2): 260-263
59- Filho. C. I; Muller. E. E; Pretto-Giordano. L. G; Bracarense. F. R. L;, 2009, Histological finding of experimental *Streptococcus agalactiae* infection in nile tilapia (Oreochromis nilotocus), *Brazilian Journal Veterinary Patology*, 2(1): 12 – 15
60- Foo. J.T.W., Ho. B; Lam. T.J;,1985, Mass mortality in Siganus canaliculatus due to streptococcal infection. *Aquaculture*, 49: 185–195
61- George, T.T.1999. Canadian doctors confirm the infection and effects of *Streptococcus iniae* in fish and humans, Contributed-papers-Aquaculture-Canada-no. 98-2, pp. 87-89
62- Ghittino. C., Praero. M., 1992, Report of streptococcosis in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Italy: preliminary note.*Bolletino Della Societa Italiana di Patologia Ittica* , 8: 4–11.
63- Gholipour. H., Shahsavani. D., Rad. M., 2009, Streptococcal septicemia in raibow trout farms in Sabzevar, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 174
64- Gill, p.; Vivas, J.; Gallardo, C.S. and Rodrıguez ,L.A. 2000. First isolation of *Staphylococcus warneri,* from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Northwest Spain. ,journal of fish diseases . Vol. 23,pp. 295-298
65- Habibipour.R, Bayat.S., 2009, Study of streptococcosis in rainbow trout farm in Hamedan Province, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, , 174
66- Haghighi Khiabanian Asl. A, Soltani. M, Kazemi. B, Sohrabi Haghdost. E, Sharifpour, 2007, Use of immunohistochemichal and PCR methods of infectious heamatopoietic necrosis disease in some rainbow trout hatcheris in Iran, *Pakistan journal of Biology Sciences*, 10 (2): 230 – 234
67- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staly, J.T. and Williams, T.S. 1994. Bergey's Manual of Determinative bacteriology.Williams and Wilkins.pp. 787
68- Huang,Sh.;Chen,W.;Shei,M.;Liao,L. and Chen , Sh. 1999.Studies on Epizootiology and pathologencity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*aeochromis sp*) Cultured in Taiwan. Journal of Zoological studies . vol. 38 , pp. 178-188
69- Huet M. Breeding and cultivation of fish.2nd edition. Fishing News Books, 1994;314-320
70- Inglis, V., Roberts, R.J. and Bromage, N.R. 1993. Chapter 12, Streptococcal Infections. In Bacterial Diseases of Fish, Halsted Press, John Wiley & Sons, Inc., NY. pp. 196-97.
71- Kitao, T. 1982. The methods for detection of *Streptococcus sp.* Causative bacteria of streptococcal disease of culture yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). Fish Pathology, Vol. 17, pp.17-26
72- Kitao, T., Aoki, T. and Iwata, K. 1979. Epidemiological study on streptococcosis of cultured yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). Discribtion of *Streptococcus sp*. In sea water and muds around yellowtail farms.*Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 45, pp.567-572
73- Kitao, T., Aoki, T. and Sakoh, R. 1981. Epizootics caused by β-haemolytic *Streptococcus* species in cultured fresh water fish. Fish Pathology, Vol. 15, pp.301-307
74- Klesius. P.H., Evans, J.J., Shoemaker, C.A.,Yeh, H., Goodwin, A.E., Adams, A., Thompson K., 2006, Rapid detection and identification of S. iniae using a monoclonal antibody based indirect flourescent antibody technique. *Aquaculture*, 258:180-186.
75- Klontz GW.Enviromental Requirements and Enviromental diseases of Salmonids. In: Stoskopf MK, Fish medicine.Philadelphia: WB Saunders Company, 1993; 333
76- Koh, T.H., Kurup, A. and Chen, J., 2004. *Streptococcus iniae* discitis in Singapore. Emerg. Infect. Dis. Vol.10, pp.1694-1696

77- Kusuda, R. and Takemaru, I. 1987. Efficacy of josamycin against experimental streptococcal infection in cultured yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, Vol. 53, pp. 1519-1523
78- Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C. R. and Fryer, J.L. 1991. *Enterococcus seriolicida sp*. Nov., a fish pathogen. International Journal of Systematic Bacteriology, Vol.41, pp.406-409
79- Kusuda, R., Kawai, T.,Toyoshima, T. and Komatus, I. 1976. A new pathogenic bacterium belonging to the genus *Streptococcus*, isolated from an epizootic of cultured yellowtail. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 42, pp.1345-1352
80 - Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Luk, W.K., Fung, A.M.Y., Hui, W.T., Fong, A.H.C., Chow, C.W., Wong, S.S.Y., Yuen, K.Y., 2006. Clinical isolates of *Streptococcus iniae* from Asia are more mucoid and β- hemolytic than those from North American. Diagnostic Microbiol. Infect. Dis. Vol. 54, pp. 177-181
81- Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Tse, H., Leung, K.W., Wong. S.S.Y., Yuen, K.Y., 2003. Invasive *Streptococcus iniae* infection outside North American . J. Clin. Microbiol. 41, 1004-1109
82- MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Testes for Identification of medical Bacteria. Williams and Wilkins. pp. 912
83 - Mata, A. I, Blanco. M. M, Dom´ınguez. L, Fernández-Garayzábal. J. F, Gibello. A, 2004a, Development of a PCR assay for Streptococcus iniae based on the lactate oxidase (lctO) gene with potential diagnostic value, *Veterinary Microbiology* 101:109–116
84 - Mata, A. I, Gibello. A, Casamayor. A., Blanco. M. M., Domínguez. L, Ferna´ndez-Garayza´bal .J. F., 2004b, Multiplex PCR Assay for Detection of Bacterial Pathogens Associated with Warm-Water Streptococcosis in Fish, *Applide and Environmental Microbiology*: 3183–3187
85 - Meyer, V. k. and Schonfeld, H. 1929. Uber die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans und die Beziehungen beider zum Streptococcus lactis. *Zentralbl . Bakt. Abt. 1 orige*. 99:402 – 418
86 - Mian. G. F., Godoy. D. T, Leal. C. A. G,Yuhara. T. Y, Costa. G. M,. Figueiredo. H. C. P., 2008, Aspects of the natural history and virulence of S. agalactiae infection in Nile tilapia, *Veterinary Microbiology*, 136(1 – 2): 180 – 183
87 - Michel. C., Nougayre`de P., Eldar A., Sochon E., De Kinkelin. P., 1997, Vagococcus salmoninarum, a bacterium of pathological significance in rainbow trout Oncorhynchus mykiss farming. *Diseases of Aquatic Organisms* , 30:199–208.
88 - MMWR. 1996. 2 August, 45(30); 650 – 53. Invasive Infection with *Streptococcus iniae*, Ontario, 1995-1996. Morbidity and Mortality Weekly Report available on-line from the Centers for Disease Control's website at www.cdc.gov/mmwr.
89 - Mohammadi Arani. M., Moghadas.m B., 2009, Infection of rainbow trout with Streptococcus spp. in Isfehan Province, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 126
90 - Ndong, D., Chen, Y.Y., Lin, Y.H., Vaseeharan, B. and Chen, J.C. 2006. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Journal of Fish and Shellfish Immunology. Vol.22, pp. 686 – 694
91 - Nguyen, H.T., Kanai, K. and Yoshikoshi, K., 2002. Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured Japanese flounder(*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures. Journal of Aquaculture, Vol. 205, pp. 7-17
92 - Noga, E.J. 1996. Fish disease: diagnosis and treatment. Iowa State University Press/Ames, Iowa, pp.367
93 - Nomoto, R., Munasinghe, L.I., Jin, D.H., Shimahara, Y., Yasuda, H., Nakamura, A., Misawa, N., Itami, T., Yoshida, T., 2004. Lancefield group C Streptococcus dysgalactiae infection responsible for fish mortalities in Japan. *Journal of Fish Diseases*, 27: 679–686.
94 - Oliver, K., Procop, G.W. Wilson, D. Coull, J. and Stender, H. 2002. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* Directly from Blood Culture by Fluorescence In Situ Hybridization with Peptide Nucleic Acid Probes. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 40, pp. 247-251
95 - Pall, J. and Pradhan, K. 1990. Bacterial involvement in ulcerative condition of air- breathing fish srom India. Journal of Fish Biology, Vol. 36, pp. 833-839
96 - Pasnik, D.J., Evans, J.J. and Klesius, P.H.2006. Passive immunization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) provides significant protection against *Streptococcus agalactiae*. Journal of Fish and Shell fish Immunology, Vol. 21,pp.365-371
97 - Pasnik. D. J., Evans. J. J, Klesius. P. H., 2009, Fecal Strings Associated with Streptococcus agalactiae Infection in Nile Tilapia, Oreochromis niloticus, *The Open Veterinary Science Journal*, 3: 6-8
98 - Perera. R.P., Johnson. S.K., Collins. M.D., Lewis D.H., 1994, Streptococcus iniae associated with mortality of Tilapia nilotica × T. aurea hybrids. *Journal of Aquatic Animal Health* ,6: 335–340.

99 - Pillay TVR, Kutty MN. Health and diseases.In: Aquaculture priciples and peactices. 2nd edition. Blackwell Publishing, 2005;112-118.
100 - Pillay TVR, Kutty MN. Sustain ability and environmental management of aquaculture. In: Aquaculture priciples and peactices. 2nd edition.Blackwell Publishing, 2005; 311-312
101 - Plumb, J.A., Schachte, J.H., Gaines, J.L., Peltier, W. and Carroll.B. 1974. *Streptococcus sp*. From marine fishes along the Alabama and northwest Florida coast of the Gulf of Mexico. Transactions of the American Fisheries Society, Vol. 103, pp. 358-361
102 - Roach, J.C., Levett, P.N., & Lavoie, M.C.,2006,Identification of S. iniae by commercial bacterial identification systems. *Journal of Microbiological Methods*, 67: 20-26.
103 - Roberts RJ.Fish pathology.London: Harcourt Publisher Limited, 2001, 1-13 , 199-205
104 - Rochaix, A. 1924. Mileaux a I' esculine pour le diagnostic differential des bacteries due groupe Strepto – Entro Pneumocoque . *Ct. R. Soc*. Biol. Vol.90, pp. 771-772
105 - Rodkhum. C, Kayansamruaj. P, Pirarat. N, 2011, Effect of Water Temperature on Susceptibility to Streptococcus agalactiae Serotype Ia Infection in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus), *Thai J Vet Med*,41(3): 309-314.
106 - Romalde, J.L., Lores,F., Magarinos, B., Barja, L. and Toranzo, A.E. 2000. Study of cell surface associated virulence factors of Streptococcus parauberis strains pathogen for turbot. Bulltan of European Association of Fish Oathology, Vol.20, pp.244-251
107 - Romalde, J.L., Toranzo, A.E. 1999. Streptococcosis of marine fish. Gilles Oliver , No. 56
108- Romalde. J. Magarinos. L, Villar. C, Barja. J. L, Toranzo. A. E, 1999, Genetic analysis of turbot pathogenic Streptococcus parauberis strains by ribotyping and random amplifed polymorphic DNA, *FEMS Microbiology Letters*, 459: 297-304
109 - Russo, R., Mitchell, H. and Yanong, R.P.E, 2006. Characterization of *Streptococcus iniae* isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models, journal of Aquaculture. Vol.256, pp. 105 – 110
110 - Russo,R. and Yanong,R.2006. Dietary Beta-Glucans and Nucleotides Enhance Resistance of Red-Tail Black Shark (*Epalzeorhynchos bicolor*) to *Streptococcus iniae* Infection . journal of The world aquaculture society.vol. 37,No.3,pp.298-306
111 - Sako, H., 1998. Studies on *Streptococcus iniae* infection in Yellowtail, Seriola quinqueradiata. Bull. Nansi Natl. Fish. Res. Inst. 31, 63-120
116- Salvador, R., Muller, E.E., Freitas, J.C., Leonhadt, J.H., Giordano, L.G.P., Dias, J.A ,2005, Isolation and characterization of Streptococcus spp. group B in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) reared in hapas nets and earth nurseries in the northen region of Parana State, *Brazil. Ciencia Rural. Santa Maria*, 35: 1374-1378.
112 - Shahbazian , N,Maghsudifard, A, E., Abdi, K. Sheikhzadeh, N, 2010, Study the status of Streptococcosis in Rainbow trout fish farms in kermanshah province in 2009, 2nd International congress on aquatic animal health maneagment and disese, October 26 – 27 2010, Tehran, Iran
113 - Shelby, R.A., Klesius P.H. Shoemaker, C.A. and Evans, J.J. 2002. Passive immunization of tilapia, Oreochromis niloticus, with anti-Streptococcus iniae whole sera. Journal of Fish Diseases, Vol.25, pp.1-6
114 - Shen, Z.H., Qian, D., Xu, W.J., Gu, J.H. and Shao,J.Z. 2005. Isolation, identification and pathogenicity of Streptococcus iniae isolated from red drum Sciaenops occellatus . Acta Hydrobiol.Sinica , Vol.29, pp. 678-683
115 - Shoemaker, C.A., Evans, J.J. and Klesius, P.H. 2000. Density and dose: factors affecting mortality of Streptococcus iniae infected tilapia (Oreochromis niloticus), journal of Aquaculture . vol. 188, no. 3-4, pp. 229-235
116 - Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. 1997 . Streptococcal disease problems and control : a review . In : Tilapia Aquacultured (ed.by K.fitzsimmons) , pp. 671 – 680. Northest Regional Aquacultural Engineering Service , Ithaca , NY.
117 - Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. and Evans, J.J. 2001. prevalence of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial fish farms in the United States. Am. J. Vet. Res, Vol. 62, pp. 174-177
118 - Soltani.M., Tarahomi. M, 2009, Study of streptococcosis/Lactoccosis in some farmed rainbow trout in Fars province, Iran, 1st International congress on aquatic animal health maneagment and disese, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 113
119 - Stickney RR. Understanding and maintaining water quality. In: Aquaculture: An Introductory text. 1st edition. India: CABI Publishing, 2005; 95-127.

120 - Subasinghe. R. P, 2005, Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture, *Preventive veterinary medicine*, 67, 117 – 124

121 - Toranzo. A. E; Devesa. S; Heinen. P; Riaza. A; Nuñez. S; Barja. J. L;, (1994), Streptococcosis in cultured turbot caused by an Enterococcus-like bacterium, *Bulltan of European Association of Fish Pathology*, 14:19–23

122 - Treves-Brown, K. M. 2000. Applied fish pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp.294

123- Varvarigos, P. 2001. Gram positive cocco- bacteria(*Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*) causing systemic disease in intensively farmed fish. Veterinary services to aquaculture and distribution of fish health production.

124- Vela, A.I., Vazquez, J., Gibello, A., Blanco, M.M., Moreno, M.A., Liebana, P., Albendea, C., Alcala, b., Mendez, A., Dominguez, L. AND Garayzabal, J.F.F. 2000. Phenotypic and Genetic Characterization of *Lactococcus garvieae* Isolated in Spain from Lactococcosis Outbreaks and Comparison with Isolates of Other Countries and Sources. Journal of Clinical Microbiology , Vol.38 ,pp.3791-3795

125- Vendrell. D., Balcazar. J. L., Ruiz-Zarzuela. I., Blas. I., Girones. O, Muzquiz. J. L., 2006, Lactococcus garvieae in fish: A review, Comparative *Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 29: 177–198

126- Xu, D.H., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., 2007, Evaluation of the link between grodactylosis andStreptococcus of Nile tilapia (*O. niloticus*). L . *Fish Diseases*, 30: 230-238

127- Yang. W, Li. A, 2009, Isolation and characterization of Streptococcus dysgalactiae from diseased Acipenser schrenckii, *Aquaculture*, 294:14–17

128- Yanong, R.P.E., Floyd, R.F, 2002. Streptoccal infection of fish. Florida Cooperative Extension Service. IFAS, University of Florida, p. 3. Circular FA057

129- Yanong. R. P. E. and Francis-Floyd. R., 2002, Yanong Streptococcal infections of fish. Report from University of Florida. Series from the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. http://edis.ifas.ufl.edu

130- Yasunaga, N. 1982. Occurrence of Streptococcus sp., a pathogen of cultured yellowtail, in muscle of sardine for diets. Journal of Fish Pathology, Vol.17, pp.195-198

131- Yuniarti, A. 2005. Serological Characterization of Streptococcus iniae Isolates from Different Parts of Australia. Masters. University of Queensland, St. Lucia, Queensland.

132- Zarzuela,R.I., Bias, I., Girones, O., Ghittino, C. and MuAzquiz, J.2005. Isolation of *Vagococcus salmoninarum* in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Veterinary Research Communications, Vol. 29, pp. 553-562

133- Zlotkin, A., Hershko, H., & Eldar, A., 1998, Possible transmission of Streptococcus iniae from wild fish to cultured marine fish, *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4065-4067.

134- http://www.the fish site.com / articles/190/ Streptococcus in tillapia

پیوست

پیوست الف : تصاویر ماهواره ای مزارع نمونه برداری

شکل الف-۱ تصویر ماهواره ای از مزارع وا سر(مزرعه شماره ۱) و قزل سراب (مزرعه شماره ۲)

شکل الف-۲ تصویر ماهواره ای از مزارع چند منظوره و قزل نیاک

شکل الف-۳ تصویر ماهواره ای از مزرعه قزل آلای هراز

شکل الف-۴ تصویر ماهواره ای از مزارع کاج قزل، رنگین ماهی

شکل الف-۵ تصویر ماهواره ای از مزرعه نبوی

شکل الف-۶ تصویر ماهواره ای از مزرعه نگین هراز

شکل الف-۷ تصویر ماهواره ای از مزرعه نل قزل

شکل الف-۸ تصویر ماهواره ای از مزرعه شماره ۸

فصل ۳ :

مطالعه برخی از عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی در غرب استان مازندران (منطقه تنکابن)

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱۰۴
۱-۳- مواد و روش کار..... ۱۰۶
۱-۱-۳- انتخاب ایستگاههای مطالعاتی (مزارع) ۱۰۶
۲-۱-۳- نمونه برداری ۱۱۳
۳-۱-۳- آزمایش شمارش کل باکتریهای داخل آب ۱۱۶
۲-۳- نتایج..... ۱۱۸
۱-۲-۳- علائم مشاهده شده در ماهیان مورد بررسی ۱۱۸
۲-۲-۳- برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی (عوامل خطر) آب در بروز استرپتوکوکوزیس ۱۲۱
۳-۲-۳- تعداد کلی باکتری های داخل آب ورودی مزارع منتخب ۱۲۷
منابع..... ۱۳۸

چکیده

در این مطالعه، به منظور بررسی اثرات ۵ پارامتر اکسیژن محلول، PH،نیتریت ونیترات ودرجه حرارت آب در بروز استرپتوکوکوزیس ،از ۱۲ مزرعه منتخب پرورش ماهی قزل آلا ۳ مزرعه با منابع آبی چاه ،۸ مزرعه با منابع آبی رودخانه دو هزار و۱ مزرعه با منبع آبی رودخانه ازارود) در منطقه تنکابن ازغرب استان مازندران طی ۱۲ ماه متوالی، از تاریخ ۱۳۹۰/۴/۱ تا ۱۳۹۱/۳/۳۰ ،هرماه یکبار،ودر هر نوبت ۱۰ عدد ماهی بطور تصادفی نمونه گیری و همزمان از آب ورودی مزارع آب نمونه برداری گردید.. از مجموع ۱۳۵۰ عدد ماهی نمونه برداری شده تعداد ۶۰۷ ماهی با میانگین وزنی و طولی متوسط بترتیب ۲۲/۰۴ گرم و۱۲/۵۹ سانتی متر در گروه بچه ماهیان و ۷۴۳ عدد ماهی با میانگین وزن و طول بترتیب ۱۵۶/۲۵ گرم و۲۳/۳۲ سانتی متر در گروه ماهیان پرواری قرار داشتند. استرپتوکوکوزیس تنهادر گروه ماهیان پرواری تشخیص داده شد ودر بچه ماهیان استرپتوکوکوزیس مشاهده نشد. ازمجموع ۷۲ عدد ماهی دارای علائم بالینی بیماری، ۱۴ عدد از نظر استرپتوکوکوزیس مثبت (۱۹/۴۴ درصد) و ۵۸ عدداز ماهیان از نظر استرپتوکوکوزیس منفی بودند (۸۰/۵۵ درصد). ۳ عدد ماهی از ماهیان گروه پرواری علائم بالینی بیماری نداشتند، اما از نظر استرپتوکوکوزیس مثبت بودند وبه ظاهر سالم بودند(۰/۲۲ درصد از کل جمعیت ماهیان نمونه برداری شده).ماهیان دارای علائم بالینی بیماری اما از نظر استرپتوکوکوزیس منفی در محدوه حد اقل وحد اکثر متوسط وزن بترتیب ۱/۵۵ گرم و۴۱۷گرم قرار داشتند. ۹۴/۴۵درصدازجمعیت ماهیان نمونه برداری شده بدون علائم بالینی بیماری و از نظر استرپتوکوکوزیس منفی بودند(ماهیان سالم). نتایج این تحقیق نشان می دهد که ۴۷/۰۷ درصد موارد استرپتوکوکوزیس در ۱۵/۶درجه حرارت سانتی گراد و۳۵/۲۹ درصد استرپتوکوکوزیس در۱۶/۹۸ درجه سانتی گراد و۱۷/۶۴ درصد استرپتوکوکوزیس در ۱۸/۴ درجه سانتی گراد آب اتفاق می افتد بطوریکه ۱۰۰ درصد موارد استرپتوکوکوزیس درمیانگین درجه حرارت ۱۶/۹۹ سانتی گراد مشاهده گردید. بعلاوه،بررسی آماری نتایج این تحقیق نشان داد علی رغم مقادیر نسبتا بالای نیتریت در مزارعی که از آب چاه مشروب می گردند ، میزان نیتریت بربروز بیماری تاثیر گذار نبوده است. بنظر میرسد که حد مطلوب اکسیژن محلول در اب درکاهش میزان تاثیر گذاری نیتریت در بروز بیماری مؤثر بوده است.

با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{p}{1-p}\right\} = ۲۴/۶۴ - ۱/۷۴\,(pH) - ./۳۷\ (\text{Temperature})$$

متناسب با مدل لوجیت چنین بنظر می رسد که به ازای هر درجه تغییر درجه حرارت و pH به سمت پایین به ترتیب۳۷/. و ۱/۷۴ درصد میزان بیماری زایی را تغییر خواهد داد. همچنین ۸۰/۵۶ درصد از ماهیان نمونه برداری شده که دارای علائم بالینی بودند ،در محدوده میانگین وزنی ۱/۵ گرم(بچه ماهی) و ۴۱۷ گرم(ماهی پرواری) ،قرار داشتند که با وجود داشتن علائم بالینی بیماری از نظر استرپتوکوکوزیس منفی بودند وبا توجه به

جداسازی باکتری استافیلوکوک وباسیل های گرم منفی از نمونه ماهیان با علائم بالینی که مشابه باعلائم استرپتوکوکوزیس بودند ،مبین دخالت داشتن سایر عوامل میکروبی در تظاهرات علائم بالینی در ماهیان می باشد.

لغات کلیدی : استرپتوکوکوزیس – استان مازندران – منطقه تنکابن – عوامل خطر – ماهیان سردآبی

۱-۳- مواد و روش کار

۱-۱-۳- انتخاب ایستگاههای مطالعاتی (مزارع)

منطقه تنکابن قطب دوم تولید ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران می باشد که عمده مزارع متراکم پروش ماهی درحاشیه رودخانه تنکابن واقعند.به موازات رشد صنعت آبزی پروری ،مزارع نیمه متراکم در منطقه تنکابن رشد و توسعه یافته است که هم اکنون نقش قابل توجهی در تولید ماهی قزل آلا دارند(جدول۵).

الف – مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان منتخب در حاشیه رودخانه دو هزار:

رودخانه دوهزاراز شاخه های رودخانه چشمه کیله که در جنوب غرب مرکز شهرستان تنکابن جریان دارد،دو رودخانه نوشا و دریا سر در آبادی کلیشم واقع در ۲۱ کیلومتری جنوب غربی شهر تنکابن به هم پیوسته و این رودخانه را تشکیل می دهد، چند آبادی را مشروب ساخته و در شرق آبادی پرده سربا رودخانه سه هزار که شاخه دیگری از رودخانه چشمه کیله می باشد، به هم پیوسته وبه رودخانه چشمه کیله می ریزند. منبع تغذیه رودخانه نزولات جوی و در جهت جنوب غرب به شمال شرق جریان دارد.طول رودخانه ۱۱ کیلومتر،شیب متوسط بستر ان ۳درصد و در مناطق بیکربناته سولفاته،بیکربناته در سازند های سیلیکاته و بیکربناته کلسیک جریان دارد.تعداد۸ مزرعه بترتیب مزارع ۱،۲،۳،۴،۵،۶،۷، که مزرعه شماره ۱ درضلع جنوبی و حاشیه شاخه دریاسر واقع است . مزرعه ۲ و۳ در حاشیه شاخه نوشا ی رودخانه دو هزار واقع هستند وازیک کانال متصل به رودخانه بطور مشترک برای هر دو مزرعه آبگیری می شوند وبالا دست این مزارع ۱،۲ ،۳،مزارع پرورش ماهی وجود ندارند. مزارع ۴،۵ ، ۶، ۷ و ۸ در پائین دست مزارع شمار۲و۲ به فواصل کم از هم واقعند بطوریکه خروجی آب مزارع بالادست پس از طی مسافت کم وارد مزارع پائین دست میشوند.

ب – مزرعه پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان منتخب در حاشیه رودخانه ازارود(EZA RUD)

ازارود از رودخانه های مستقل زبر حوضه چالوس که در جنوب شرق مرکز شهرستان تنکابن جریان دارد،از کوههای پیت غار با ارتفاع ۴۳۳۹ متر و گرده با ارتفاع ۳۶۴۸ متر واقع در حدود ۴۰ کیلومتری جنوب شرقی شهر تنکابن سرچشمه می گیرد وابادیهای متعددی ازجمله دینارسرا ومعلم کوه را مشروب ساخته،در نهایت به دریای مازندران می ریزد.منبع تغذیه رودخانه نزولات جوی و در جهت جنوب به شمال جریان دارد.طول رودخانه ۴۰ کیلومتر،شیب متوسط بستر ان در کوهستان ۱۱ درصد،در جلگه یک درصد و در مناطق بیکربناته کلسیک و بیکربناته سولفاته جریان دارد. مزرعه شماره ۹ ،تنها مزرعه واقع در حاشیه رودخانه ازارود که در روستای دینار سرا قرار داردبرای اجرای این تحقیق انتخاب شد و در بالادست آن مزرعه دیگری وجود ندارد.

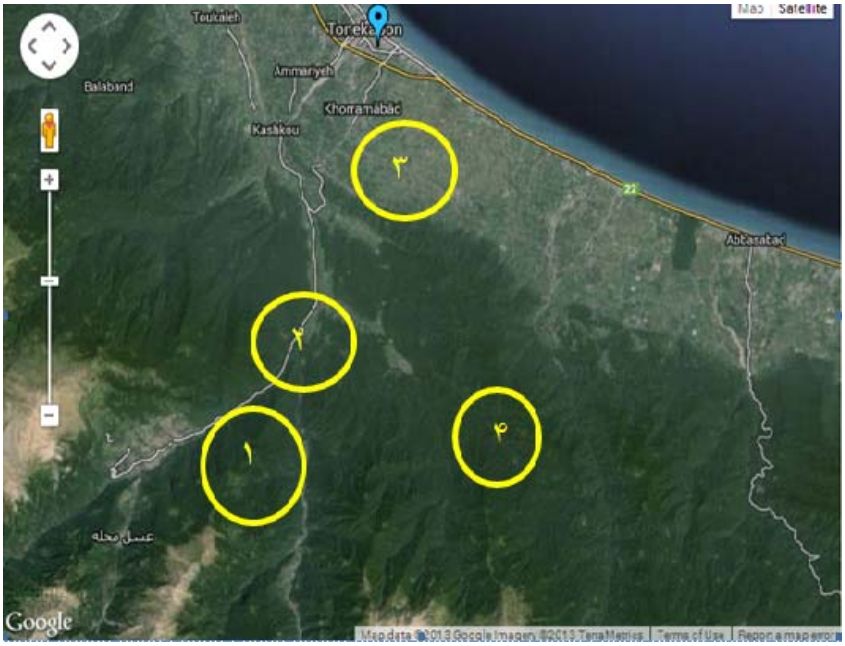
ج - مزارع واقع در بخش خرم آباد:

در این تحقیق ۳ مزرعه مستقل از هم به شماره های ۱۰، ۱۱ و۱۲ واقع درناحیه جلگه ای-بخش خرم آباد که از چاههای نیمه عمیق برای پرورش ماهی استفاده می شوند،انتخاب شدند مختصات جغرافیائی مزارع انتخاب شده در این تحقیق در جدول شماره ۴ نشان داده شد.

جدول ۴ : شماره مزارع منتخب و مختصات جغرافیایی آن‌ها

شماره مزرعه	طول و عرض جغرافیائی	ارتفاع از سطح آبهای آزاد
۱	N3636.433E5044.092îî	۱۰۱۵
۲	N3637.421E5044.017	۸۴۲
۳	N3637.440E5044.109	۸۱۱
۴	N3640.129E5049.245	۴۶۶
۵	–	
۶	–	
۷	–	
۸	–	
۹	N3640.231E5059.283	۱۹۰
۱۰	N3646.075E5053.049	۹
۱۱	N3646.575E5053.138î	۶
۱۲	N3646.551E5051.172î	۳۵

شکل۱: منطقه تنکابن : موقعیت ایستگاههای منتخب ۱،۲،۳ واقع در ناحیه ۱ و ایستگاههای ۴،۵،۶،۷،۸ در ناحیه ۲و ایستگاههای ۱۰،۱۱،۱۲ در ناحیه ۳ و ایستگاه۹ در ناحیه ۴



مشخصات کلی ایستگاه مطالعاتی ۱: واقع درحاشیه سرشاخه نوشای رودخانه دوهزار،روستای عسل محله، با طرفیت تولیداسمی ۲۰ تن- بادبی آب ۲۲۰ لبتر درثانیه

شکل ۲: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۱

مشخصات کلی ایستگاههای مطالعاتی شماره۲و۳: واقع درحاشیه سرشاخه نوشای رودخانه دو هزار، ناحیه کلیشم وایستگاه شماره ۲ با ظرفیت ۴۴تن دارای منبع آبی مشترک با ایستگاه شماره ۲، بادبی آب ۳۰۰ لبتر درثانیه وظرفیت تولید۶۰ تن.

شکل ۳: نمای ایستگاه های مطالعاتی شماره ۲ و۳

مشخصات کلی ایستگاه مطالعاتی ۴: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار- ناحیه توبن ،با ظرفیت تولید اسمی ۱۲۰ تن- بادبی آب ۲۰۰ لبتر درثانیه

شکل ۴: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۴

مشخصات کلی ایستگاه مطالعاتی ۵: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار- ناحیه توبن ،با ظرفیت تولید اسمی ۶۰ تن.

شکل ۵: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۵

مشخصات کلی ایستگاه ۶: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار- اکر ،با ظرفیت تولید اسمی ۱۲۰ تن

شکل ۶: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۶

مشخصات کلی ایستگاه ۷: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار- روستای اکر ،با ظرفیت تولید اسمی ۶۰ تن- بادبی آب ۳۰۰ لبتر درثانیه

شکل ۷: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۷

مشخصات کلی ایستگاه ۸: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار- روستای دوهزار،با ظرفیت تولید اسمی ۱۲۰ تن ، بادبی آب ۲۰۰ لبتر درثانیه

شکل ۸: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۸

مشخصات کلی ایستگاه ۹: واقع در حاشیه رودخانه دو هزار،روستای دینارسرا ،با ظرفیت تولید اسمی ۲۰ تن، بادبی آب ۲۰۰ لبتر ثانیه

شکل ۹: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۹

مشخصات کلی ایستگاه ۱۰:واقع در بخش خرم آباد، منبع آبی چاه ،روستای اکبر آباد ،باظرفیت تولید اسمی ۲۰ تن ،بادبی آب ۱۲ لبتر درثانیه

شکل ۱۰: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۱۰

مشخصات کلی ایستگاه ۱۱: واقع در بخش خرم آباد، منبع آبی چاه ،روستای میان ناحیه، با ظرفیت تولید اسمی ۱۰تن ، با دبی آب ۱۲ لبتر درثانیه

شکل ۱۱: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۱۱

مشخصات کلی ایستگاه ۱۲: واقع در بخش خرم آباد،منبع آبی چاه،روستای میان ناحیه، با ظرفیت تولید اسمی ۲۰تن.

شکل ۱۲: نمای ایستگاه مطالعاتی شماره ۱۲

جدول۵: تعداد مزارع پروش ماهی قزل آلای رنگین کمان و برخی از شاخص های تولید در منطقه تنکابن در سال ۱۳۹۱

مزارع	تعداد	میزان کل تولید ماهی درسال(تن)	میزان غذای مصرفی(تن)	ضریب تبدیل غذای مصرفی
متراکم	۲۶	۴۷۲۱	۷۱۴۰	۱/۶۱
نیمه متراکم	۴۱	۹۶۲	۱۳۶۰	۱/۵

۲-۱-۳- نمونه برداری

نمونه برداری از ماهی :

طی یک دوره ۱۲ ماهه بطور ماهیانه ،با حضور در ۱۲ مزرعه منتخب پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان،در این تحقیق به عنوان ایستگاههای مطالعاتی ، ۱۰ عدد ماهی بطور تصادفی از ماهیان موجود در آن ایستگاهها نمونه برداری شد. پس از جمع آوری نمونه ها به شکل زنده واندازه گیری طول و وزن آنها(زیست سنجی) و ثبت در جداول از پیش تنظیم شده برای هر یک از ایستگاه ها ، از نظر علائم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و در شرایط استریل کالبدگشایی و پس از شکافتن محوطه بطنی، علائم داخلی ثبت شدند و سپس با استفاده از آنس استریل از بافت‌های کبد وکلیه وطحال در محیط تریپتوکیز سوی آگار (TSA) کشت خطی، جهت جداسازی باکتری انجام گردید (Austin و Austin ،۱۹۹۹) و پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴ الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در گرمخانه کالیبره شده، قرار گرفتند. کلیه پلیت های کشت شماره گذاری شده مربوط به ماهیان نمونه برداری شده همراه با فرم مشخصات ایستگاه های مربوطه به نماینده سازمان دامپزشکی استان

مازندران تحویل تا آزمایشات تشخیصی در استان اقدام شود . در ازمایشگاه میکروب شناسی دامپزشکی ، پس از مشاهده رشد پرگنه‌های باکتری استرپتوکوک در محیط کشت، تشخیص اولیه و افتراقی آن از باکتری استافیلوکوکوس با استفاده از رنگ آمیزی به روش گرم و دیدن کوکسی های گرم مثبت و سپس تست کاتالاز (آزمایش افتراقی باکتری استرپتوکوک از استافیلوکوک) انجام گردید.

نمونه برداری از آب:

آزمایشات فیزیکی وشیمیایی آب :

قبل از نمونه‌برداری از آب ،با استفاده از دستگاه دیجیتال آنالیز آب، درجه حرارت، پ هاش و میزان اکسیژن محلول آب ورودی ایستگاه مطالعاتی، اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. پس از آن، یک ظرف شیشه ای به حجم ۲۵۰ سی سی درب دار و استریل شده و شماره گذاری شده برای هرایستگاه، در خلاف جهت جریان آب رودخانه به عمق فرو برده و در داخل آب ،درب شیشه باز و با رعایت شرایط استریل،برای وارد نشدن باکتریهای دست نمونه بردار، از آب ورودی هر ایستگاه، قبل از پر شدن کامل ظرف شیشه ای،نمونه برداری و بسرعت در شرایط مساعد حرارتی در به آزمایشگاه منتقل وبلافاصله آزمایشات لازم انجام شد.

آزمایشات فیزیکی و شیمیائی آب طبق روشهای استاندارد متد و بشرح ذیل انجام پذیرفت(APHA,1998):

الف- اندازه گیری نیترات آب به روش احیای کادمیم

(Cadmium Reduction Method for Nitrate Measurement)

در این روش نیترات در حضور کادمیم به نیتریت احیا شده و سپس میزان نیتریت اندازه گیری می گردد.

لوازم مورد نیاز :

الف) ستون کاهشی

ب) اسپکتروفتومتر برای استفاده در طول موج ۵۴۳ نانومتر

مواد مورد نیاز:

- آب عاری از نیترات

- گرانولهای مس- کادمیوم : ۲۵ گرم گرانولهای با سایز ۲۰ تا ۱۰۰را با اسید کلریدریک ۶ نرمال شسته و با آب ، آبکشی نموده و کادمیوم را برای ۵ دقیقه در ۱۰۰ میلی لیتر سولفات مس ۲ ٪ قرائت تا رنگ آبی تقریبا محو شود. آهسته خالی و با سولفات مس تازه تکرار شد تا رسوبات کلوئیدی قهوه ای شروع به تشکیل کند. به آرامی با اب شسته و تمام رسوبات مس از بین برود .

- محلول EDTA – NH4OH : ۱۳ گرم NH4Cl و ۱/۷ گرم اتیلن دی آمین ترا استات را در ۹۰۰ میلی لیتر آب حل نموده و با NH4OH غلیظ به PH ۸/۵ رسانده و تا یک لیتر رقیق شد .

محلول رقیق شده EDTA – NH4OH : ۳۰۰ میلی لیتر از محلول بالا را تا ۵۰۰ میلی لیتر رقیق می شد.

- اسید کلریدریک HCl ۶ نرمال
- محلول اصلی نیترات
- محلول استاندارد نیترات
- محلول اصلی نیتریت
- محلول استاندارد نیتریت
- محلول کار نیتریت : ۵۰ میلی لیتر محلول میانی نیتریت را با آب عاری از نیتریت تا ۵۰۰ میلی لیتر رقیق می شد .
- ۱ میلی لیتر = ۵ میکروگرم نیتریت- نیتروژن

آماده سازی ستون کاهشی : به وسیله یک درپوش پشم شیشه انتهای ستون را مسدود نموده و آنرا با آب پر و مقدار کافی از گرانولهای Cu-Cd در ستون ریخته تا طول آن به ۱۸/۵ سانتی متر برسد . سطح آب را بالای گرانولها نگه داشته تا از ورود هوا جلوگیری نماید.ستون را با ۲۰۰ میلی لیتر محلول کلرید آمونیوم-EDTA شستشو داده شد.

آماده سازی نمونه :

۱- از بین بردن کدورت : برای نمونه های کدر طبق روش معمول رفتار شد.

۲- تنظیم pH : pH را بین ۷ و ۹ تنظیم نموده. اگر لازم بود از pH متر و اسید کلرید ریک یا سود استفاده می شد

۳- احیای نمونه : برای ۲۵ سی سی از نمونه ۷۵ سی سی NH4CL-EDTA اضافه کرده و مخلوط نموده و نمونه را داخل ستون ریخته و در محدوده ۷ تا ۱۰ میلی لیتر بر دقیقه جمع آوری شد. از ۲۵ میلی لیتر اول صرفنظر نموده و باقی را در ظرف اصلی نمونه ریخته شد.

۴- تشکیل رنگ و اندازه گیر ی : هر چه سریعتر و تا قبل از ۱۵ دقیقه پس از احیا ۲ میلی لیتر معرف رنگی به ۵۰ سی سی نمونه اضافه و مخلوط می شد. بین ۱۰ دقیقه تا ۲ ساعت بعد ، جذب را در ۵۴۳ نانومتر در برابر شاهد آب مقطر اندازه گیری شد.

محاسبه : با قرار دادن جذب استانداردها در برابر غلظت نیترات منحنی استاندارد را بدست آورده و غلظت نمونه را مستقیما از منحنی بدست آمد . نتیجه را بصورت میلی گرم N اکسید شده بر لیتر (مجموع نیتروژن نیترات و نیتروژن نیتریت) گزارش شد تا وقتی که غلظت نیتریت جداگانه محاسبه شده و از آن کم شود.

ب- اندازه گیری نیتریت به روش رنگ سنجی
(Colorimetric Method for Nitrite Measurement)

مواد مورد نیاز :

۱- نیتریت سدیم ($NaNO_2$) ۲- سولفانیل آمید ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$)

۳- N (۱- نفتیل) اتیل دی آمین هیدرو کلراید $ClOH_7NH_4CH_2\ 2NH_2.2H_2O$

تهیه محلول :

۱- ۵ گرم سولفانیل آمید را در ۵۰۰ میلی لیتراسید هیدروکلریک حل گردید (وزن نهایی ۵۰۰ میلی لیتر) .

۲- ۰/۵ گرم از N (۱- نفتیل) اتیل دی امین دی هیدروکلراید را در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و درظرف تیره نگهداری نگهداری شد

روش انجام کار :

۱- ۵۰ میلی لیتر از نمونه را بر داشته و یک میلی لیتر از محلول سولفانیل آمید به آن افزوده و خوب هم زده شد. پس از ۵ دقیقه به آن ml ۱ محلول N – (۱- نفتیل) اتیل دی آمین دی هیدروکلراید افزوده و مجدداً بهم زده شد. پس از ۱۰ دقیقه در طول موج nm ۵۴۳ میزان جذب را قرائت شد.

ج-اندازه گیری اکسیژن محلول (DO) :

توسط دستگاه مولتی متر پرتابل مدل WTW- 340 i با الکترود اکسیژن متر مدل WTW.Cell Ox 325

د-اندازه گیری (pH) :

توسط دستگاه مولتی متر پرتابل مدل WTW – 340 i با الکترود PH متر مدل WTW. Electrode Sen Tix 81 ، اندازه گیری شد .

۳-۱-۳- آزمایش شمارش کل باکتریهای داخل آب

توتال کانت باکتری به روش پور پلیت (Pour plate):

اساس و پایه کار در این روش شمارش CFU (Colony Forming Unit) می باشد که هر کدام از آنها بیانگر یک باکتری در هنگام نمونه گیری و لحظه کشت می باشد. به چنین باکتری که پس از کشت و مدت انکوباسیون تشکیل کلنی می دهد CFU یا واحد کلنی ساز می گویند. بنابراین با شمارش کلنی های ایجاد شده پس از انکوباسیون می توان در ارتباط با تعداد باکتری های موجود در مقدار نمونه تلقیح شده به محیط کشت قضاوت کرد. برای انجام این روش به صورت زیر عمل شد:

۱- آماده سازی ظروف جهت نمونه برداری از آب: برای این کار از بطری های شیشه ای درب دار ۲۵۰ میلی لیتری که در اتوکلاو (دمای ^{o}c ۱۲۱/۵ به مدت ۱۵ دقیقه) استریل شدند استفاده شد.

۲- نمونه گیری از آب: بدین صورت که درب بطری در زیر آب باز شده تا آب وارد آن شود طوری که ظرف کاملاً پر نشده و مقداری از آن خالی باشد تا باکتری های هوازی از بین نروند.

۳- انتقال نمونه های آب به آزمایشگاه: بطری های آب در یونولیت حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

۴- تهیه رقت های مختلف: برای انجام روش پورپلیت باید رقت های مختلف از نمونه آب تهیه شود. برای هر نمونه آب ۵ لوله آزمایش حاوی cc ۹ سرم فیزیولوژی نیاز است که روز قبل از نمونه برداری در اتوکلاو

استریل شدند. رقت سازی به این صورت انجام شد که به کمک سمپلر cc ۱ از نمونه آب برداشته و به لوله آزمایش اول که حاوی cc ۹ سرم فیزیولوژی است اضافه شد. سپس با تعویض تیپس (سرسمپلر) از آب لوله اول برداشته و به سرم فیزیولوژی لوله دوم اضافه شد. با این کار در لوله شماره ۱ رقت ۱- ۱۰ را خواهیم داشت. بعد از آن از لوله ۲ یک cc برداشته و به لوله ۳ اضافه شد به این صورت در لوله ۲ رقت ۲- ۱۰ آماده شد. به همین ترتیب آزمایش تا رقت ۵- ۱۰ ادامه یافت.

۵-از رقتهای مختلف که تهیه شده cc ۱ به پلیت های خالی استریل که از قبل مشخصات نمونه ها روی آنها یادداشت شده بود اضافه شد. از هر رقت دو تکرار انجام شد و رقت صفر (نمونه آب) نیز مورد آزمایش قرار گرفت. در مجموع برای هر نمونه آب ۶ تکرار وجود داشت و در نتیجه برای هر ایستگاه (مزرعه) ۱۲ پلیت مورد استفاده قرار گرفت.

۶-از محیط کشت پلیت کانت آگار (plate count agar) برای کشت آب مزارع استفاده شد که مقدار مورد نیاز از آن قبل از شروع رقت سازی تهیه شد و بعد از اتوکلاو نمودن و رسیدن به دمای c□ ۴۵ در پلیت های حاوی نمونه آب پخش شد. به این صورت که زیر هود و در شرایط استریل درب پلیت به مقدار کمی در کنار شعله باز شد و مقداری از محیط کشت مزبور روی cc ۱ آبی که در پلیت وجود داشت ریخته شد و آب و محیط کشت بعد از ریختن محیط کشت داخل پلیتها با هم مخلوط شدند.

۴- بعد از اطمینان از بسته شدن محیط کشت ها، انتقال آنها به انکوباتور با دمای c□ ۳۷ به مدت ۵- ۳ روز صورت گرفت.

۵- بعد از گذشت مدت زمان انکوباسیون، پلیت ها از انکوباتور خارج شدند و شمارش کلنی های آن به کمک دستگاه کلنی کانتر صورت گرفت. شمارش در مورد پلیت هایی صورت گرفت که تعداد باکتری در آن بین ۳۰۰- ۳۰ عدد بود.

۶- برای گزارش تعداد باکتری از فرمول زیر استفاده شد:

CFU/ml = عکس رقت × میانگین تعداد باکتری در دوپلیت

روش تجزیه وتحلیل داده ها:

داده‌ها و آمار توصیفی با برنامه SPSS تحلیل و پردازش گردیدند. از آزمونهای ANOVA و برای مقایسه از آزمون دانکن استفاده شد. از تست‌های ناپارامتریک مثل آزمون کای مربع، مقایسه‌ی نسبت‌ها نیز استفاده گردید. همچنین از آزمون Kruskal Wallis و Logestic Regresion استفاده شده است. میزان معنی‌دار بودن در سطح $P<0.05$ ارائه شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

۲-۳- نتایج

۱-۲-۳- علائم مشاهده شده در ماهیان مورد بررسی (قبل از باز کردن و بعد از باز کردن ماهی)

از مجموع ۱۳۵۰ ماهی نمونه برداری شده،۷۲ عدد از ماهیان دارای علائم بالینی بودند .علائم مشاهده شده اختصاصی نبوده و به عنوان سندرم(Syndrum) در سایر بیماریها نیز قابل مشاهده می باشند :

۱- بیرون زدگی یک و دو طرفه چشم(شکل۱۳)

۲- سیاه وتیره شدن سطح بدن وبیحالی

۳- خونریزی درپایه باله های شکمی ومخرجی، داخل یا اطراف ،چشم ها،صفحه آبششی،

۴- زخم پوست در ناحیه پشتی بدن

۵-اتساع محوطه بطنی

۶-آب آوردگی شکم وپرخونی داخلی و خونریزی در سطح کبد وقلب

۷- تلف شدن ماهی بدون علائم ظاهری بیماری

۸- شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی) وشنای یک طرفه ناشی از بیرون زدگی بیرون زدگی محتویات یک طرفه چشم

شکل۱۳- ماهیان مبتلا به استرپتوکوکوزیس با علائم اگزوفتالمی در یک ایستگاه مطالعاتی- سال ۱۳۹۰

شکل۱۴- مقایسه وضعیت ظاهری(کدورت) نمونه های آب ورودی ایستگاههای مطالعاتی ۱تا ۸، متعاقب سیلابی شدن سرشاخه نوشای رودخانه دوهزار در مرداد - سال ۱۳۹۰

وضعیت استرپتوکوکوزیس در ایستگاههای مطالعاتی

از مجموع۱۳۵۰ عدد ماهی نمونه برداری شده ۶۰۷ عدد بچه ماهی باوزن و طول متوسط بترتیب ۲۲/۰۴ گرم و۱۲/۵۹ سانتی متر و ۷۴۳ عدد ماهی پرواری با وزن و طول متوسط بترتیب ۱۵۶/۲۵ گرم و۲۳/۳۲ سانتی متر که تنها از ۱۷ عدداز ماهیان پرواری درآزمایشگاه،باکتری استرپتوکوک جدا شد(استرپتوکوکوزیس مثبت).در۱۴ عدد ازماهیان که استرپتوکوکوزیس مثبت بودند، نشانیهای بالینی استرپتوکوکوزیس وجود داشت (۸۲/۳۵٪)ودر۳ عدد دیگرازاین ماهیان مبتلا به استرپتوکوکوزیس مثبت هیچ گونه علائم بیماری وجود نداشت وبه ظاهر سالم بودند(۱۷/۶۵٪). ۵۸ عدد از ماهیان بیمار (۴/۳٪ از کل جمعیت نمونه برداری شده)با دامنه وزنی حداقل ۱/۵۵ گرم تا حداکثر۴۱۷گرم ،دارای نشانیهای بالینی مشابه استرپتوکوکوزیس بودند اما درآزمایشگاه از نظراسترپتوکوکوزیس منفی بودند.ازمجموع ۷۲ عدد ماهی دارای علائم بالینی ،۱۴ عدد مبتلا به استرپتوکوکوزیس (۱۹/۴۴درصد)بودند و۸۰/۵۶ درصد درگیر سایر عوامل بیماریزا بودند.۹۴/۶۷٪از ماهیان نمونه برداری شده سالم بودند. استرپتوکوکوزیس در بچه ماهیان مشاهده نشد.میزان درصد ماهیان پرواری به ظاهر سالم(فاقد علائم بالینی) وماهیان پرواری دارای علائم بالینی استرپتوکوکوزیس در مزارع منتخب در جدول ۶ نشان داده شد.

جدول ۶: درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	اندازه ماهی	تعداد ماهی	ماهیان آلوده به استرپ(آزمایشگاهی)		ماهیان با علائم بالینی		ماهیان به ظاهر سالم	
			تعداد	درصد ٪	تعداد	درصد ٪	تعداد	درصد ٪
1	بچه ماهی	83	0	0	0	0	0	0
	پرواری	23	0	0	0	0	0	0
2	بچه ماهی	70	0	0	0	0	0	0
	پرواری	33	0	0	0	0	0	0
3	بچه ماهی	57	0	0	0	0	0	0
	پرواری	54	0	0	0	0	0	0
4	بچه ماهی	51	0	0	0	0	0	0
	پرواری	69	8	11.6	7	87.5	1	12.5
5	بچه ماهی	18	0	0	0	0	0	0
	پرواری	101	0	0	0	0	0	0
6	بچه ماهی	21	0	0	0	0	0	0
	پرواری	96	3	3.1	1	33.3	2	66.7
7	بچه ماهی	46	0	0	0	0	0	0
	پرواری	66	0	0	0	0	0	0
8	بچه ماهی	38	0	0	0	0	0	0
	پرواری	77	0	0	0	0	0	0
9	بچه ماهی	95	0	0	0	0	0	0
	پرواری	25	0	0	0	0	0	0
10	بچه ماهی	30	0	0	0	0	0	0
	پرواری	90	0	0	0	0	0	0
11	بچه	97	0	0	0	0	0	0

	ماهی							
	پرواری	23	0	0	0	0	0	0
	بچه ماهی	4	0	0	0	0	0	0
12	پرواری	83	6	7.2	6	100	0	0

۲-۲-۳- برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی (عوامل خطر) آب در بروز ترپتوکوکوزیس

الف: وضعیت درجه حرارت آب در ایستگاههای مطالعاتی

در فصل بهار،حد اقل دمای آب با ۱۰/۶۳ درجه سانتی گراد در ایستگاههای ۲ و ۳(کانال آب ورودی مشترک) و حد اکثر دمای آب با۱۷/۹۳ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱۰ ،در تابستان حد اقل دمای آب با۱۲/۹۰ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱ وحداکثر دمای آب با ۱۸/۲۶درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱۰ ،در پائیز حد اقل دمای آب با۱۰/۸۰ درجه سانتی گراد در مزرعه ۲ و۳ و حد اکثر دمای آب با۱۷/۷۰ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱۰، در زمستان ،حد اقل دما ی آب با ۵ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱ و حداکثر دمای آب ۱۷/۴۶ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۱۱ می باشد(نمودار۱).

میانگین سالانه دمای آب در ۱۲ ایستگاه مطالعاتی بر اساس منابع آبی، در دو گروه قرار گرفتند بطوریکه میانگین دمای آب با۱۱/۶۲ درجه سانتی گراد در ایستگاه ۹ (بامنبع آبی رودخانه ازا رود) ومیانگین دما با۱۱/۹۱ درجه سانتی گراد در ایستگاههای ۱-۸ در گروه ۱ و ایستگاه های ۱۰ ، ۱۱ و ۱۲ به ترتیب با ۱۷/۶۸ درجه سانتی گراد ،۱۷/۶۴ درجه سانتی گراد و۱۷/۱۱ درجه سانتی گراد در گروه ۲ قرارداشتند(جدول ۷) .

جدول ۷: نتایج اندازه گیری دمای آب در ایستگاههای مطالعاتی بر حسب منابع آبی در طول ۱۲ ماه

میانگین دمای آب بر حسب درجه سانتی گراد در مزارع مختلف			
		Subset	
water	N	1	2
Farm 1-8	950	11.620	
Farm9	120	11.917	
Farm12	99		17.112
Farm11	120		17.642
Farm 10	120		17.683

ب: وضعیت میزان اکسیژن محلول آب در ایستگاههای مطالعاتی

روند تغییرات اکسیژن محلول در فصول مختلف در سطح جزئی بوده است ودر محدوده رشد مطلوب ماهی قزل آلای رنگین کمان قرارداشت. بالاترین میزان اکسیژن محلول در فصل زمستان( ) مربوط، به ایستگاه ۹ با ۱۱/۳۹ میلیگرم در لیتر وکمترین میزان آن مربوط به فصل پائیز در ایستگاه ۱۲ با ۷/۹۶ میلیگرم در لیترمی باشد .میانگین میزان اکسیزن محلول در ۱۲ ایستگاه مطالعاتی نشان می دهد که بالاترین میانگین متعلق به ایستگاه با ۸۸/ ۹میلیگرم در لیتروپائینترین میانگین اکسیژن محلول مربوط به ایستگاه ۱۲ با۸/۸ میلیگرم در لیتر می باشد.بر جدول زیر میانگین اکسیژن محلول در ۱۲ ایستگاه، به صورت همگن نبوده و در۶ گروه تقسیم بندی شدند(جدول۸).

جدول ۸: مقایسه میانگین اکسیژن آب (میلی گرم در لیتر)
ورودی مزارع منتخب در مدت اجرای تحقیق

مزرعه	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
۱۲	99	8.8041					
۱۰	120	8.8558					
۱۱	120		9.0542				
۸	120			9.3208			
۶	120			9.4225	9.4225		
۴	120				9.5783	9.5783	
۵	120					9.6258	9.6258
۷	120					9.6283	9.6283
۱	110					9.6409	9.6409
۲	120					9.6650	9.6650
۳	120					9.6650	9.6650
۹	120						9.8000

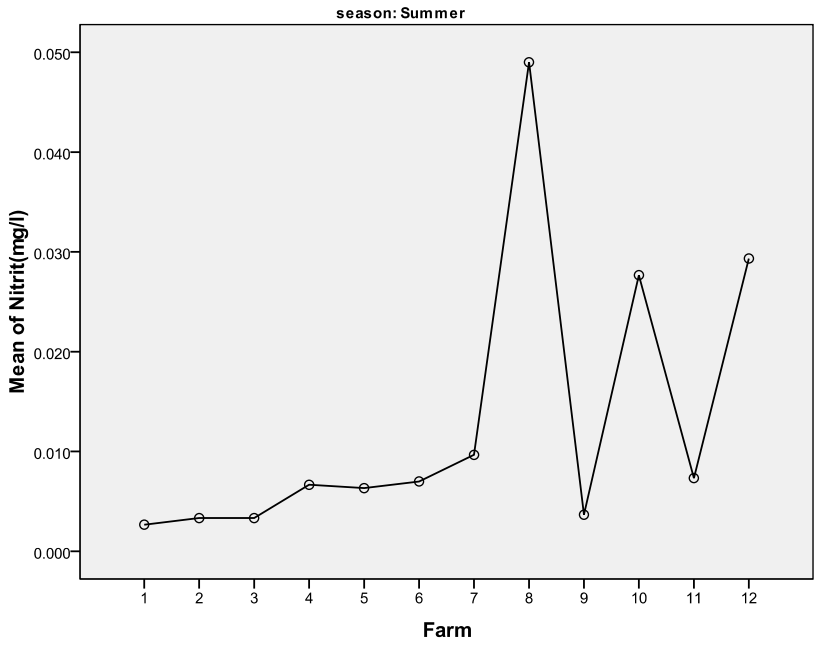
ج : وضعیت میزان نیتریت(NO2-N) آب در ایستگاههای مطالعاتی

۱- ج : وضعیت میزان نیتریت در ایستگاههای مطالعاتی در فصول مختلف :

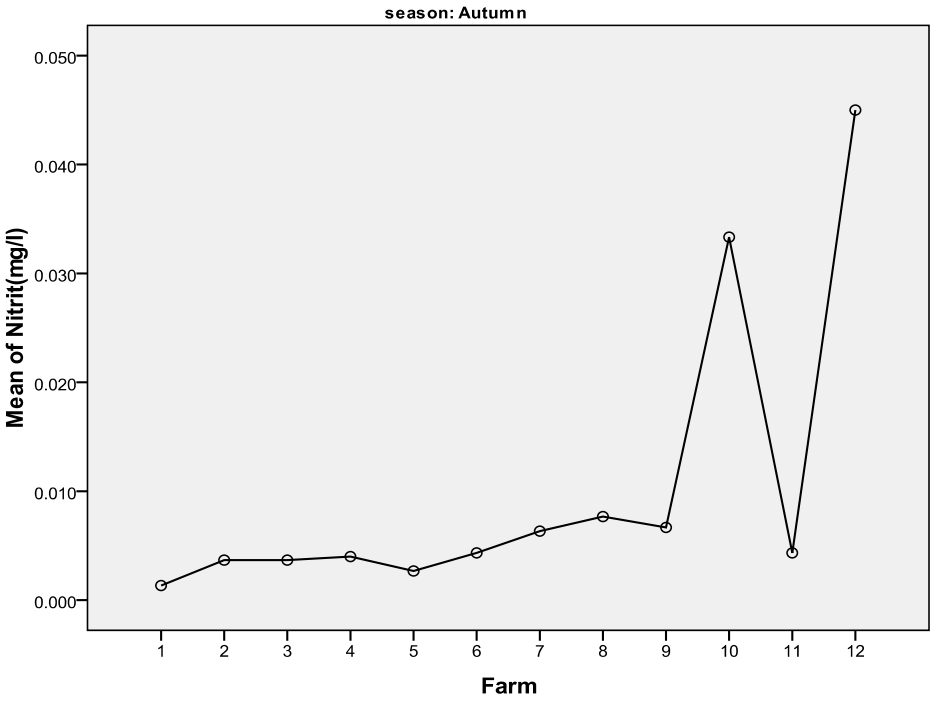
درفصل بهار ، حد اقل میانگین نیتریت آب با ۰/۰۰۶ میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۱۱ وحد اکثر میانگین نیتریت ۰/۷۵میلیگرم در لیتر درایستگاه ۱۲ ، در فصل تابستان با حد اقل میانگین نیتریت ۰/۰۰۲ میلی گرم در لیتر در ایستگاه ۱ و حداکثر میانگین نیتریت ۰/۰۴۹ میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۸ ، در فصل پائیز با حد اقل میانگین نیتریت ۰/۰۰۱ میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۱ وحد اکثر میانگین نیتریت ۰/۰۴۵ در ایستگاه۱۲ ودر فصل زمستان

با حد اقل میانگین نیتریت ۰/۰۰۵ میلیگرم در لیتردرایستگاه ۱۱ وحد اکثر میانگین نیتریت ۰/۰۴۲ میلی گرم درلیتر ایستگاه ۶ می باشد.

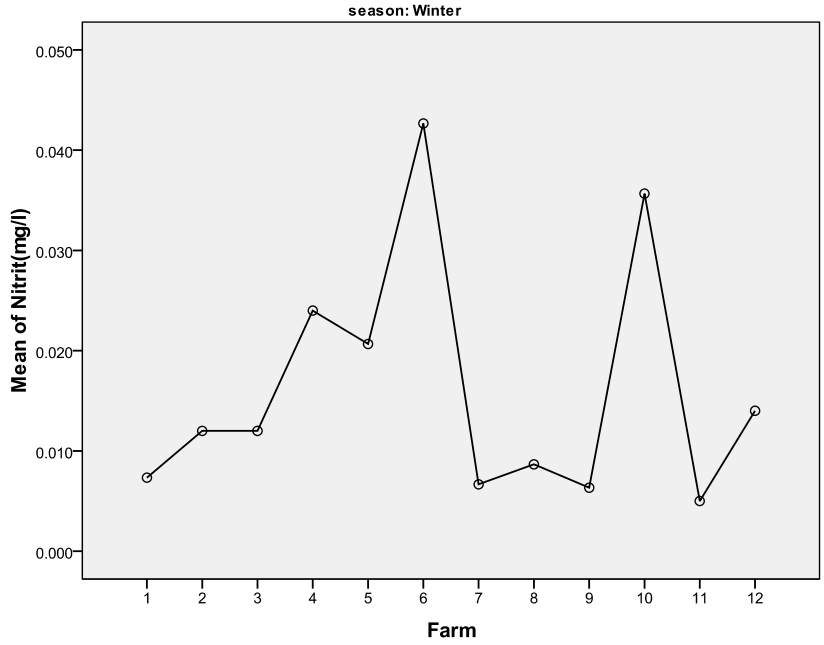
بر اساس نتایج درفصل بهار میانگین نیتریت ایستگاههای مطالعاتی به دو گروه تقسیم، ایستگاه ۱۲ با حد اکثر میانگین نیتریت ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر در گروه ۲ و سایر ایستگاهها در گروه ۱،در فصل تابستان میانگین نیتریت به ۳ گروه تقسیم وایستگاه ۸ با حد اکثر۰/۰۴۹ میلیگرم در لیتر در گروه ۳ وسایر مزارع در گروههای۱ و۲،در فصل پائیز میانگین نیتریت ایستگاههای مطالعاتی به ۵ گروه تقسیم ومزرعه ۱۲ با ۰/۰۴۵ میلی گرم در گروه ۵ و سایر مزارع در گروههای ۱ تا ۴ و در فصل زمستان میانگین نیتریت ایستگاههای مطالعاتی در۴گروه و ایستگاههای ۶ و۱۰ به ترتیب با حد اکثر۰/۰۳۵ میلی گرم در لیتر وحد اکثر ۰/۰۴۲ میبیگرم در لیتر در گروه ۴ وسایر ایستگاه در گروه های ۱ ، ۲ و۳ گروه بندی شده اند . روند تغییرات نیتریت آب ورودی ایستگاههای مطالعاتی در فصول مختلف وطی یک سال در نمودارهای ۲ ، ۳، ۴، ۵ و ۶ نشان داده شد.



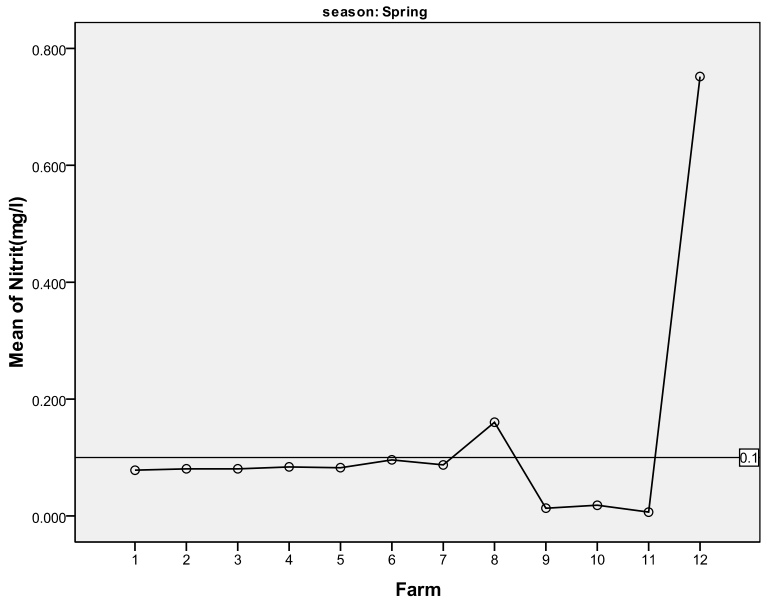
نمودار۱: روند تغییرات نیتریت آب ایستگاههای مطالعاتی در فصل تابستان-سال ۱۳۹۰



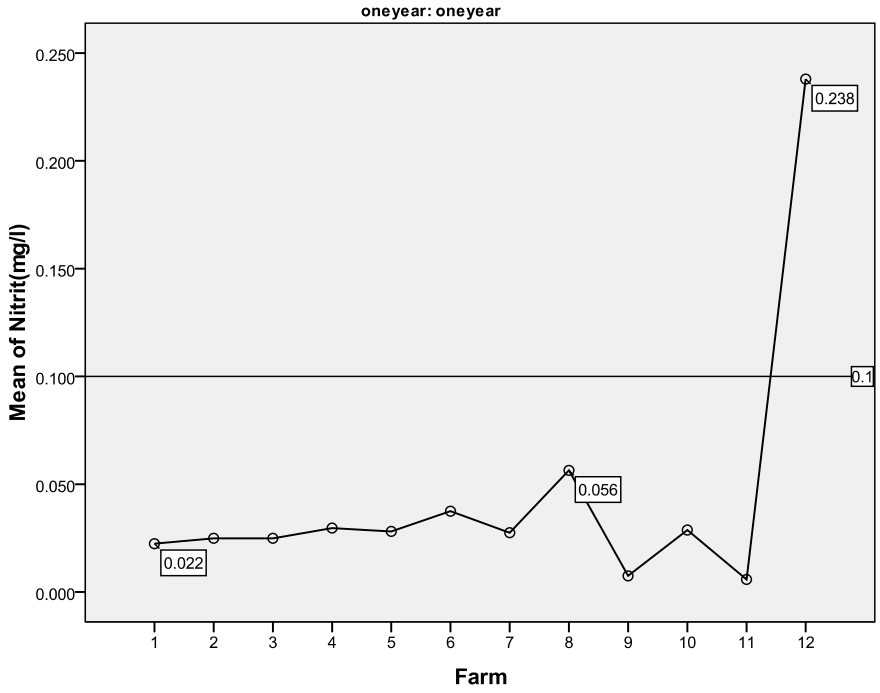
نمودار ۲: روند تغییرات نیتریت آب ایستگاههای مطالعاتی منطقه تنکابن در فصل پائیز- سال ۱۳۹۰



نمودار ۳: روند تغییرات نیتریت آب ایستگاههای مطالعاتی منطقه تنکابن در فصل زمستان- سال۱۳۹۰



نمودار ۴: روند تغییرات نیتریت آب ایستگاههای مطالعاتی منطقه تنکابن در فصل بهار- سال ۱۳۹۱

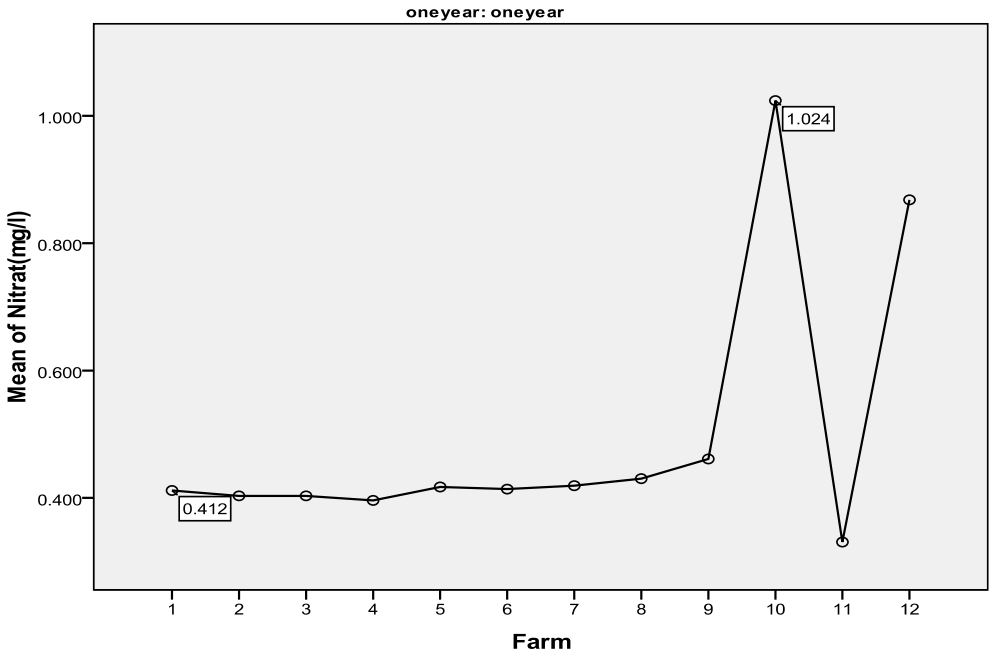


نمودار ۵ : وضعیت نیتریت آب ورودی ایستگاههای مطالعاتی درمدت ۱۲ ماه(یک سال)- ۱۳۹۰-۱۳۹۱

د- وضعیت میزان نیترات(NO3-N) آب در ایستگاههای مطالعاتی

حداکثر نیترات آب درفصل بهار با ۰/۸۹ میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۱۲ وحد اقل میانگین نیترات ۰/۱۸ میلیگرم در لیتر درایستگاه ۱ ،در فصل تابستان با حداکثر میانگین نیترات ۱/۲۸ میلی گرم در لیتر در ایستگاه ۱۰و حداقل میانگین نیترات ۰/۵۲۹ میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۸، در فصل پائیز با حد اکثر میانگین نیترات ۱/۰۱میلیگرم در لیتر در ایستگاه ۱۰ وحداقل میانگین نیترات ۰/۱۸ در ایستگاه ۸ ودر فصل زمستان با حد اکثر میانگین نیترات ۱/۵میلیگرم در لیتر وحد اقل میانگین نیترات ۰/۱۸ میلی گرم در ایستگاه ۱۱ می باشد.

بر اساس نتایج آزمون دانکن ، درفصل بهار میانگین نیترات ایستگاههای مطالعاتی به دو گروه تقسیم، ایستگاه ۱۲ با حد اکثر میانگین نیترات ۰/۸۹ میلی گرم در لیتر در گروه ۴ و سایر ایستگاهها در گروه ۱ تا ۳، در فصل تابستان میانگین نیترات به ۳ گروه تقسیم وایستگاه ۱۰ با حد اکثر۱/۲۸میلیگرم در لیتر در گروه ۳ وسایر مزارع در گروههای۱ و۲،در فصل پائیز میانگین نیترات ایستگاههای مطالعاتی به ۴ گروه تقسیم ومزرعه ۱۰ با حداکثر۱/۰۱میلی گرم در گروه ۴ و سایر مزارع در گروههای ۱ تا ۳ و در فصل زمستان میانگین نیترات ایستگاههای مطالعاتی در۵گروه و ایستگاههای ۶ با حد اکثر نیترات ۱/۵ میلی گرم در لیتر در گروه ۴ وسایر ایستگاه در گروه های ۱ تا ۴گروه بندی شده اند و در هر فصل بین گروههای مختلف تفاوت آماری معنی دار وجو د دارد.($P<0.05$).روند تغییرات سالانه میزان نیترات آب در ایستگاههای مطالعاتی در شکل ۵ نشان داده شد(نمودار۶).



نمودار ۶ - وضعیت نیترات(NO3) آب ورودی ایستگاههای مطالعاتی درمدت ۱۲ ماه(یک سال)- ۱۳۹۱- ۱۳۹۰

د: pH آب

مطابق جدول زیر ،میانگین **PH** آب ورودی مزارع در ۶ گروه تقسیم شد .کمترین میانگین **PH** آب ورودی مزرعه ۱۱ به میزان ۸۱/ ۷ در گروه ۱ وبیشترین میانگین **PH** آب ورودی مزرعه ۷ در گروه ۶ قرار داشت(جدول۹) .

جدول ۹: نتایج مقایسه میانگین pH آب در ایستگاههای مطالعاتی بر حسب منابع آبی

Farm	N	1	2	3	4		
۱۱	120	7.8183					
۱۰	120		8.0083				
۱۲	99			8.2031			
۹	120				8.4633		
۴	120				8.4833		
۲	120				8.4908		
۳	120				8.4908		
۵	120				8.5000		
۶	120				8.5117		
۸	120						
۱	110						
۷	120						

۳-۲-۳- تعداد کل باکتری های داخل آب ورودی مزارع منتخب

در فصل بهار حداکثر میانگین تعداد باکتریهای هوازی به میزان ۵۴۹۳۱/۶۷ در ایستگاه ۱۲ و حد اقل۳۳/ ۸۸در ایستگاه۳و۲، درفصل تابستان با حداکثر ۱۰۹۸۰۰ در ایستگاه ۷ وحداقل ۳۶۹/۳۳ در ایستگاه ۱۱،درپائیز حداکثر۳۲۶۶/۶۷ در ایستگاه ۱۰ وحد اقل ۳۵/۳۳ در ایستگاه ۱۱،در زمستان حداکثر۲۹۹۳/۳۳ در ایستگاه ۱۲ و حد اقل ۶۷/۶۷ در ایستگاه ۱ شمارش گردید(جدول ۱۰).

جدول ۱۰: میانگین تعداد کل باکتریهای هوازی در آب ورودی ایستگاههای مطالعاتی

دوره زمانی / ایستگاه	بهار	تابستان	پاییز	زمستان	سال
۱	۲۵۰±۹۵/۷۷	۶۱۰۰±۸۵۵/۱	۶۲±۱۱/۷۱	۶۷/۶۷±۸/۱۵	/۹۲±۴۹۶۰/۳۰ ۱۶۱۹
۲	۱۸۳/۶۷±۱۳۲/۰۹	۵۰۳/۶۷±۶۴۴	۱۲۵/۶۷±۹۴/۴۱	۸۸/۳۳±۱۶/۷۸	۲۲۵/۳۳±۳۶۷
۳	۱۸۳/۶۷±۱۳۲/۰۹	۵۰۳/۶۷±۶۴۴	۱۲۵/۶۷±۹۴/۴۱	۸۸/۳۳±۱۶/۷۸	۲۲۵/۳۳±۳۶۷
۴	۴۴۶/۶۷±۲۳۶/۲	۷۹۳۳/۳۳±۳۲۶	۳۳۳/۶۷±۳۱۵	۲۵۷/۳۳±۲۸۳	۲۲۴۷/۲۵±۳۶۷۸
۵	۲۷۴۶/۶۷±۲۹۲۴	۲۶۵۳۳/۳۳±۲۰۶۶	۱۱۷±۷۰	۳۱۸±۳۷۵	۷۴۲۸/۷۵±۱۵۱۶۵
۶	۵۹۹۰±۵۸۴۸	۱۴۳۰۰±۷۷۶۲	۱۰۳۶/۶۷±۹۳۱/۰۸۵	۵۰۶/۶۷±۴۹۸	۵۴۵۸/۳۳±۷۳۶۰
۷	۹۶۳/۳۳±۵۹۳	۱۰۹۸۰۰±۱۴۴۰۲۷	۱۰۵۳/۳۳±۸۵۶	۶۶۴±۸۱۷	۲۸۱۲۰±۸۵۴۲۹
۸	۶۴۳۳/۳۳±۷۵۹۹	۳۳۲۰۰±۲۶۳۷۲	۱۱۸۶/۶۷±۴۴۱	۷۲۱/۳۳±۹۱۹	۱۰۳۸۵/۳۳±۱۹۰۷۵
۹	۷۷۰±۱۴۷	۶۲۳/۳۳±۳۸۲/۷۶	۷۴۰/۶۷±۹۰۶	۱۱۴/۶۷±۵۴	۵۶۲/۱۷±۵۶۰
۱۰	۲۳۰۰±۹۵۷	۳۲۶۶/۶۷±۲۶۹۶	۳۲۶۶/۶۷±۴۶۷	۱۱۲۶/۶۷±۷۷۱	۲۰۳۲/۵±۱۷۰۰
۱۱	۴۰۳۸/۳۳±۵۷۲۶	۳۶۹/۳۳±۳۹۲/۱۳	۳۵/۳۳±۳/۴۵	۱۲۰۰±۰/۰	۱۴۵۲/۹۰±۳۵۵۶
۱۲	۵۴۹۳۱/۰۳±۷۸۵۸۸	۹۶۹۵/۳۳±۸۱۶۱	۱۹۰±۰/۰	۲۹۹۳/۳۳±۲۸۸۱/۵۷	۱۹۹۵۵/۱۵±۴۸۰۵۱

در این تحقیق میزان درجه حرات،اکسیژن محلول در آب،میزان نیتریت و نیترات ومیزان pH آب ورودی مزارع منتخب اندازه گیری به عمل امد که نتایج بشرح ذیل بیان می گردد:

۱-ایستگاه شماره ۱:

جدول ۱۱ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی و باکتریایی آب ایستگاه ۱

ایستگاه: ۱ / فصل	نیتریت (میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۷۸±۰/۱۰۶	۰/۳۷± ۰/۰۲۴	۹/۴۲۰±۰/۳۲۰	۱۰/۹۳ ±۰/۸۹۵	۸/۵۸±۰/۰۸۵	۲۵۰±۹۵/۷۷
تابستان	۰/۰۰۲±۰/۰۰۴	۰/۵۵۹±۰/۰۹۳	۹/۳۵±۰/۷۲۵	۱۲/۹۰±۰/۹۳۵	۸/۸۱±۰/۲۳۷	۶۱۰۰±۸۵۵/۱
پائیز	/۰۰۱±۰	۰/۲۹۱±۰/۲۱۰	۹/۵۴±۰/۰۲۴	۱۰/۹±۱/۲۴	۸/۳۸±۰/۲۳۲	۶۲±۱۱/۷۱
زمستان	۰/۰۰۷±۰/۰۰۹	۰/۴۲۶±۰/۰۲۳	۱۰/۵۵	۵±۱/۳۳	۸/۷۴	۶۷/۶۷±۸/۱۵
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۲±۰/۰۶۲	۰/۴۱۱±۰/۱۵۱	۹/۶۴±۰/۶۱۰	۱۰/۱۴±۳/۳۰	۸/۶۲±۰/۲۴۶	۱۶۱۹/۹۲±۴۹۶۰/۳۰

در ایستگاه۱، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۱ در فصل پاییز و حداکثر ۰/۰۷۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۲۹۱ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۵۵۹ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۳۵ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۵۵ میلی‌گرم در لیتر درزمستان، درجه حرارت حداقل ۵ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۲/۹۰ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۳۸ در پائیز و حداکثر ۸/۸۱ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۶۲در پائیز وحد اکثر ۶۱۰۰ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۱).

جدول ۱۲ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب ایستگاه۲

ایستگاه ۲ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۸±۰/۱۱۰	۰/۲۶۷±۰/۲۱۵	۹/۶۷±۰/۳۰۳	۱۰/۶۳±۰/۶۷۶	۸/۴۷±۰/۱۱۳	۱۸۳/۶۷±۱۳۲/۰۹
تابستان	۰/۰۰۳±۰	۰/۵۲۹±۰/۱۴۱	۹/۱۵±۰/۷۲۵	۱۵/۳±۰/۶۶۴	۸/۶۴±۰/۲۶۳	۵۰۳/۶۷±۶۴۴
پائیز	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱	۰/۴۱۵±۰/۰۹۳	۹/۳۷±۰/۱۱۵	۱۰/۸±۱/۰۶	۸/۲۳±۰/۲۷۸	۱۲۵/۶۷±۹۴/۴۱
زمستان	۰/۰۱۲±۰/۰۱۲	۰/۴۰۲±۰/۱۰۵	۱۰/۴۵±۰/۹۲۵	۶/۸۰±۰/۰	۸/۶۱±۰/۰	۸۸/۳۳±۱۶/۷۸
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۴±۰/۰۶۳	۰/۴۰۳±۰/۱۷۲	۹/۶۶±۰/۷۷۹	۱۰/۸۸±۳/۱۰	۸/۴۹±۰/۲۵۵	۲۲۵/۳۳±۳۶۷

در ایستگاه۲، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۳ در فصل تابستان و حداکثر ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۲۶۷ در فصل بهار و حداکثر ۰/۵۲۹ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۱۵ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۴۵ میلی‌گرم در لیتر درزمستان، درجه حرارت حداقل ۶/۸ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۵/۳۰ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۳ در پائیز و حداکثر ۸/۶۴ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۸۸/۳۳در زمستان وحد اکثر ۵۰۳/۶۷ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۲).

جدول ۱۳ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب ایستگاه ۳

ایستگاه: ۳ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۸۰±۰/۱۱۰	۰/۲۶۷±۰/۲۱۵	۹/۶۷±۰/۳۰۳	۱۰/۶۳±۰/۶۷۶	۸/۴۷±۰/۱۱۳	۱۸۳/۶۷±۱۳۲/۰۹
تابستان	۰/۰۰۳±۰	۰/۵۲۹±۰/۱۴۱	۹/۱۵±/۷۲۵	۱۵/۳۰±۰/۶۶۴	۸/۶۴±۰/۲۶۳	۵۰۳/۶۷±۶۴۴
پائیز	۰/۰۰۳±۰/۰۷۱	۰/۱۴۵±۰/۰۹۳	۹/۳۷±۰/۱۱۵	۱۰/۹۵±۱/۰۳	۸/۲۳±۰/۲۷۸	۱۲۵/۶۷±۹۴/۴۱
زمستان	۰/۰۱۲±۰/۰۱۲	۰/۴۰۲±۰/۱۰۵	۱۰/۴۵±۰/۹۲۵	۶/۸۰±۰/۰	۸/۶۱±۰/۰	۸۸/۳۳±۱۶/۷۸
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۴±۰/۰۶۳	۰/۴۰۳±۰/۱۷۲	۹/۶۶±۰/۷۷۹	۱۰/۸۸±۳/۱۰	۸/۴۹±۰/۲۵۵	۲۲۵/۳۳±۳۶۷

در ایستگاه۳(منبع آبی مشترک با ایستگاه شماره ۲)، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۳ در فصل تابستان و حداکثر ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۲۶۷ در فصل بهار و حداکثر ۰/۵۲۹ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۱۵ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۴۵ میلی‌گرم در لیتر درزمستان، درجه حرارت حداقل ۶/۸ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۵/۳۰ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۳ در پائیز و حداکثر ۸/۶۴ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۸۸/۳۳در زمستان وحد اکثر ۵۰۳/۶۷ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۳).

جدول ۱۴ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه۴

ایستگاه: ۴ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۸۴±/۱۱۰	۰/۲۵۸±۰/۲۰۴	۹/۵۸±۰/۲۵۴	۱۲/۱۳±۰/۹۳۳	۸/۴۴±۰/۲۳۵	۴۴۶/۶۷±۲۳۶/۲۵۴
تابستان	۰/۰۰۶±۰/۰۰۱	۰/۶۲۱±۰/۰۲۸	۹/۰۳±۰/۴۸۱	۱۶/۹۳±۱/۲۶	۸/۶۴±۰/۲۳۵	۷۹۳۳/۳۳±۳۲۶۵
پائیز	۰/۰۰۴±۰/۰۰۲	۰/۲۴۴±۰/۰۲۰	۹/۳۸±۰/۱	۱۲/۰۶±۰/۶۱۲	۸/۲۲±۰/۲۸۶	۳۳۳/۶۷±۳۱۵
زمستان	۰/۰۲۴±۰/۰۳۳	۰/۲۵۶±۰/۰۳۸	۱۰/۳۰±۰/۷۰۹	۶/۷۶±۰/۰۴۷	۸/۶۱±۰/۰۲۳	۲۵۷/۳۳±۲۸۳
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۹±۰/۰۶۵	۰/۳۴۵±۰/۱۹۱	۹/۵۷±۰/۶۴۴	۱۱/۹۷±۳/۷۰	۸/۴۸/۲۶۰	۲۲۴۷/۲۵±۳۶۷۸

در ایستگاه۴، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۴ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۰۸۴ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۲۴۴ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۶۲۱ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۰۳ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۳۰ میلی‌گرم در لیتر درزمستان، درجه حرارت حداقل ۶/۷۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۶/۹۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۲ در پائیز و حداکثر ۸/۶۴ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۲۵۷/۳۳در زمستان وحد اکثر ۷۹۳۳/۳۳ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۴).

جدول ۱۵ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۵

ایستگاه: ۵ / فصل	**نیتریت میلیگرم بر لیتر)**	**نیترات (میلیگرم بر لیتر)**	**اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)**	**درجه حرارت (سانتی‌گراد)**	**pH**	**شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب**
بهار	۰/۰۸۲ ±/۱۰۸	۰/۳۰۳±۰/۲۱۳	۹/۵۹ ± ۰/۲۲۱	۱۲/۱۶۷ ±۰/۹۶۹	۸/۴۴±۰/۰۶۲	۲۷۴۶/۶۷±۲۹۲۴
تابستان	۰/۰۶۳±۰/۰۱۲	۰/۶۸۱±۰/۱۵۹	۹/۱۷ ± ۰/۶۶۴	۱۷±۱/۲۵	۸/۷۳±۰/۲۰۳	۲۶۵۳۳/۳۳±۲۰۶۶۹
پائیز	۰/۰۰۲±۰/۰۰۱	۰/۳۸± ۰/۰۷۲	۹/۳۸ ±۰/۱۶۸	۱۱/۶۴ ± ۰/۷۵۲	۸/۲۰±۰/۳۳۲	۱۱۷±۷۰
زمستان	۰/۰۲±۰/۰۲۸	۰/۴۵± ۰/۰۴۹	۱۰/۳۵±۰/۸۲۴	۶/۶±۰/۰	۸/۶۲±۰/۰	۳۱۸±۳۷۵
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۸±۰/۰۶۴	۴۱۷۰± ۰/۲۰۷	۹/۶۲±۰/۷۰۲	۱۱/۸۵±۳/۷۹	۸/۵±۰/۲۸	۷۴۲۸/۷۵±۱۵۱۶۵

در ایستگاه ۵، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۲ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۳۰۳ در فصل بهار و حداکثر ۰/۶۸۱ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۱۷ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر درزمستان، درجه حرارت حداقل ۶/۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۷درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۰ در پائیز و حداکثر ۸/۷۳ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۱۱۷در پائیز وحد اکثر ۲۶۵۳۳/۳۳ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۵).

جدول ۱۶ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۶

ایستگاه: ۶ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۹۶±۰/۱۲۷	۰/۳۷۷±۰/۲۲۷	۹/۳۶±۰/۳۱۷	۱۲/۵±۰/۹۹	۸/۲۷±۰/۱۲۴	۵۹۹۰±۵۸۴۸
تابستان	۰/۰۰۷±۰/۰	۰/۶۵۹±۰/۲۰۴	۹±۰/۷۴۵	۱۷/۳۳±۱/۳۲	۸/۷۵±۰/۲۸۳	۱۴۳۰۰±۷۷۶۲
پائیز	۰/۰۰۴±۰/۰۰۱	۰/۳۱۳±۰/۰۷۲	۹/۳۵±۰/۱۰۳	۱۱/۲۳±۱/۲۹	۸/۴۶±۰/۰۲	۱۰۳۶/۶۷±۹۳۱/۰۸۵
زمستان	۰/۰۴۲±۰/۰۵۵	۰/۳۰۴±۰/۰۰۷	۹/۹۷±۰/۴۰۲	۶/۶۶±۰/۰۴۷	۸/۵۵±۰/۰۱۹	۵۰۶/۶۷±۴۹۸
میانگین کل سالانه	۰/۰۳۷±۰/۰۷۸	۰/۴۱۳±۰/۲۱۲	۹/۴۲±۰/۵۶۹	۱۱/۹۴±۳/۹۵	۸/۵۱±۰/۲۳	۵۴۵۸/۳۳±۷۳۶۰

در ایستگاه۶، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۴ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۰۹۶ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۳۰۴در فصل زمستان و حداکثر ۰/۶۵۹ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹ در فصل تابستان، حداکثر ۹/۹۷ میلی‌گرم در لیتر در زمستان ، درجه حرارت حداقل ۶/۶۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۷/۳۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۷ در پائیز و حداکثر ۸/۷۵ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۵۰۶/۶۷در زمستان وحد اکثر ۱۴۳۰۰ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۶).

جدول ۱۷ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۷.

ایستگاه: ۷ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۸۷۸±۰/۱۱۱	۰/۴۱۵±۰/۲۹۴	۹/۵۶±۰/۳۶۲	۱۲/۶۳±۰/۹۱۱	۸/۴۸±۰/۰۶۶	۹۶۳/۳۳±۵۹۳
تابستان	۰/۰۰۹±۰/۰۰۵	۰/۶۰۹±۰/۲۰۸	۹/۲ ±۰/۶۹۹	۱۷/۷±۱/۴۵	۸/۸۱±۰/۲۲۶	۱۰۹۸۰۰±۱۴۴۰۲۷
پائیز	۰/۰۰۶±۰/۰۰۴	۰/۳±۰/۰۵۱	۹/۶۷±۰/۵۲۷	۱۱/۳۵ ±۱/۳۷	۸/۶۰±۰/۰	۱۰۵۳/۳۳±۸۵۶
زمستان	۰/۰۰۶±۰/۰۰۵	۰/۳۵۱±۰/۱۱۲	۱۰/۵±۰/۴۱۷	۶/۹۶±۰/۱۹۱	۸/۶۱±۰/۰۳۸	۶۶۴±۸۱۷
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۷±۰/۰۶۵	۰/۴۱۹±۰/۲۲۲	۹/۶۲±۰/۶۲۸	۱۲/۱۶±۳/۹۹	۸/۶۲±۰/۱۶۷	۲۸۱۲۰±۸۵۴۲۹

در ایستگاه ۷، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۶ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۸۷۸ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۳در فصل پائیز و حداکثر ۰/۶۰۹ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۱۲ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر در زمستان ، درجه حرارت حداقل ۶/۹۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۷/۷ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و pH حداقل ۸/۴۸ در بهار و حداکثر ۸/۸۱ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۶۶۴در زمستان وحد اکثر ۱۰۹۸۰۰ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۷).

جدول ۱۸ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۸

ایستگاه: ۸ / فصل	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۱۶۰±۰/۲۱۱	۰/۵۳۴±۰/۱۹۰	۸/۹۳±۰/۶۲۱	۱۳/۹±۰/۵۴۴	۸/۵۴±۰/۱۸۶	۶۴۳۳/۳۳±۷۵۹۹
تابستان	۰/۰۴۹±۰/۰۶۰	۰/۶۲۰±۰/۱۳۶	۸/۴۳±۰/۳۶۱	۱۸/۱۳±۱/۷۹	۸/۵۶±۰/۱۷۶	۳۳۲۰۰±۲۶۳۷۲
پائیز	۰/۰۰۷±۰/۰۰۶	۰/۱۸۶±۰/۰۴۹	۹/۶۸±۰/۴۱۱	۱۱/۶±۱/۶۳	۸/۵۵±۰/۰۲۱	۱۱۸۶/۶۷±۴۴۱
زمستان	/۰۰۸±۰/۰۰۶	۰/۳۷۹±۰/۰۴۶	۱۰/۲۴±۰/۵۶	۷/۳۳±۰/۵۲۷	۸/۵۶±۰/۷۱۹	۷۲۱/۳۳±۹۱۹
میانگین کل سالانه	۰/۰۵۶±۰/۱۲۵	۰/۴۳±۰/۲۰۵	۹/۳۲±۰/۸۵۲	۱۲/۷۴ ±۴/۱۱	۸/۵۵ ±۰/۱۳۲	۱۰۳۸۵/۳۳±۱۹۰۷۵

در ایستگاه ۸، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۷ در فصل پائیز و حداکثر ۰/۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۱۸۶در فصل پائیز و حداکثر ۰/۶۲۰ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۸/۴۳ در فصل تابستان، حداکثر ۱۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر در زمستان ، درجه حرارت حداقل ۷/۳۳ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۸/۱۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۵۴ در بهار و حداکثر ۸/۵۶ در زمستان وتوتال کانت حداقل ۷۲۱/۳۳در زمستان وحد اکثر ۳۳۲۰۰ در تابستان تعیین گردید (جدول ۱۸).

جدول ۱۹: میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۹

ایستگاه: ۹ / فصل	نیتریت (میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۱۳±۰/۰۰۳	۰/۲۱۹±۰/۱۴۷	۹/۳۵ ±۰/۴۸۲	۱۳/۴۶±۱/۸۷	۸/۴۱±۰/۰۶۷	۷۷۰±۱۴۷
تابستان	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱	۰/۷۱۷±۰/۲۴۲	۹/۲۵±۰/۳۹۸	۱۷/۱±۰/۳۸۰	۸/۵۸±۰/۱۳۲	۶۲۳/۳۳±۳۸۲/۷۶
پائیز	۰/۰۰۶±۰/۰۰۲	۰/۴۵۵±۰/۰۹۲	۹/۱۹±۰/۷۰۷	۱۱/۲۳±۲/۲۰	۸/۲۹±۰/۴۲۴	۷۴۰/۶۷±۹۰۶
زمستان	۰/۰۰۶±۰/۰۰۱	۰/۴۵۲±۰/۰۶۴	۱۱/۳۹±۱	۵/۸۶±۰/۴۷۹	۸/۵۶±۰/۰۱۹	۱۱۴/۶۷±۵۴
میانگین کل سالانه	۰/۰۰۷±۰/۰۰۴	۰/۴۶۱±۰/۲۳۲	۹/۸۰±۱/۱۵	۱۱/۹۱±۴/۳۴	۸/۴۶±۰/۲۵۲	۵۶۲/۱۷±۵۶۰

در ایستگاه ۹، دامنه میانگین میزان نیتریت حداقل ۰/۰۰۳ در فصل تابستان و حداکثر ۰/۰۱۳ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۲۱۹در فصل بهار و حداکثر ۰/۷۱۷ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۹/۱۹ در فصل پائیز، حداکثر ۱۱/۳۹ میلی‌گرم در لیتر در زمستان ، درجه حرارت حداقل ۵/۸۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۷/۱۰ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۲۹ در پائیز و حداکثر ۸/۵۸ در تابستان وتوتال کانت حداقل ۱۱۴/۶۷در زمستان وحد اکثر ۷۷۰ در بهار تعیین گردید(جدول۱۹).

جدول ۲۰ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه۱۰

مزرعه: ۱۰ / فصل	نیتریت (میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۱۸±۰/۰۰۲	۰/۲۸۷±۰/۰۹	۸/۶۵±۰/۱۹۶	۱۷/۹۳±۰/۴۵۷	۸/۱۵±۰/۰۵۸	۲۳۰۰±۹۵۷
تابستان	۰/۰۲۷±۰/۰۱۷	۱/۲۸±۰/۸۸۱	۹/۴۳±۰/۱۷۲	۱۸/۲۶±۰/۲۵۳	۷/۹۰±۰/۴۶۶	۳۲۶۶/۶۷±۲۶۹۶
پائیز	۰/۰۳۳±۰/۰۱۳	۱/۰۱±۰/۸۴۲	۹/۰۴ ±۰/۳۰۹	۱۷/۷۰±۰/۳۳۲	۷/۸۶±۰/۲۸۰	۳۲۶۶/۶۷±۴۶۷
زمستان	۰/۰۳۵±۰/۰۱۰	۱/۵±۰/۹۲۰	۸/۲۹±۰/۰۲۳	۱۶/۸۳±۰/۱۹۱	۸/۱۲±۰/۰	۱۱۲۶/۶۷±۷۷۱
میانگین کل سالانه	۰/۰۲۸±۰/۰۱۳	۱/۰۲±۰/۸۸۵	۸/۸۵ ±۰/۴۷۱	۱۷/۶۸±۰/۶۲	۸±۰/۲۹۹	۲۰۳۲/۵±۱۷۰۰

در ایستگاه ۱۰، دامنه میانگین میزان نیتریت، حداقل ۰/۰۱۸ در فصل بهار و حداکثر۰/۰۳۵ میلی‌گرم در لیتر در فصل زمستان، نیترات حداقل ۰/۲۸۷ در فصل بهار و حداکثر ۱/۵ میلی‌گرم در زمستان، اکسیژن حداقل ۸/۲۹ در فصل زمستان، حداکثر ۹/۴۳ میلی‌گرم در لیتر در تابستان ، درجه حرارت حداقل ۱۶/۸۳ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۸/۲۶ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۸/۱۲ در زمستان و حداکثر ۸/۱۵ در بهار وتوتال کانت حداقل ۱۱۲۶/۶۷در زمستان وحد اکثر۳۲۶۶/۶۷ در بهار تعیین گردید(جدول۲۰).

جدول ۲۱ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ایستگاه ۱۱

مزرعه: ۱۱ / فصل	نیتریت (میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۰۰۶±۰/۰۰۳	۰/۱۸۱±۰/۰۰۶	۹/۱۶±۰/۱۵۳	۱۷/۶۳±۰/۳۳۵	۷/۷۷±۰/۰۸۱	۴۰۳۸/۳۳±۵۷۲۶
تابستان	۰/۰۰۷±۰/۰۰۲	۰/۷۳۸±۰/۴۷۳	۹/۶۰±۰/۴۳۱	۱۷/۸۳±۰/۰۴۷	۷/۸۹ ±۰/۲۹۴	۳۶۹/۳۳±۳۹۲/۱۳
پائیز	۰/۰۰۴±/۰۰۱	۰/۲۲۲±۰/۰۱۱	۹/۰۲±۰/۶۷۰	۱۷/۶۳±۰/۱۷۲	۷/۷۵±۰/۰۳۱	۳۵/۳۳±۳/۴۵
زمستان	۰/۰۰۵±۰/۰۰۲	۰/۱۸۱±۰/۰۴۸	۸/۴۲±۰/۰۶۷	۱۷/۴۶±۰/۱۹۱	۷/۸۵±۰/۰	۱۲۰۰±۰/۰
میانگین کل سالانه	۰/۰۰۵±۰/۰۰۲	۰/۳۳۰±۰/۳۳۳	۹/۰۵±۰/۵۸۲	۱۷/۶۴±۰/۲۴۷	۷/۸۱±۰/۱۶۲	۱۴۵۲/۹۰±۳۵۵۶

در ایستگاه ۱۱، دامنه میانگین میزان نیتریت، حداقل ۰/۰۰۴ در فصل پائیز و حداکثر۰/۰۰۷ میلی‌گرم در لیتر در فصل تابستان، نیترات حداقل ۰/۱۸۱ در فصل بهار و حداکثر ۰/۷۳۸میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۸/۴۲ در فصل زمستان، حداکثر ۹/۶۰ میلی‌گرم در لیتر در تابستان ، درجه حرارت حداقل ۱۷/۴۶ درجه سانتی‌گراد در زمستان و حداکثر ۱۷/۸۳ درجه سانتی‌گراد در فصل تابستان و پ هاش حداقل ۷/۷۵ در پائیز و حداکثر ۷/۸۵ در زمستان وتوتال کانت حداقل ۳۵/۳۳در پائیز وحد اکثر۴۰۳۸/۳۳در بهار تعیین گردید(جدول۲۱).

جدول ۲۲ : میانگین میزان برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی خاک ایستگاه۱۲

ایستگاه: ۱۲ / فصل	نیتریت (میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
بهار	۰/۷۵۱±۰/۹۳۰	۰/۸۹۳±۱	۸/۵۷±۰/۵۶۷	۱۷/۳۸±۱/۱۱	۸/۳۳±۰/۱۰۳	۵۴۹۳۱/۰۳±۷۸۵۸۸
تابستان	۰/۰۲۹±۰/۰۱۷	۱/۱۷±۰/۸۰۱	۹/۶۹±۰/۴۹۹	۱۷/۰۳±۰/۴۱۸	۷/۹۹±۰/۲۷۸	۹۶۹۵/۳۳±۸۱۶۱
پائیز	۰/۰۴۵±۰/۰	۰/۷۱۴±۰/۰	۷/۹۶±۰/۰	۱۶/۸۰±۰/۰	۷/۹۷±۰/۰	۱۹۰±۰/۰
زمستان	۰/۰۱۴±۰/۰۱۵	۰/۵۸۹±۰/۰۳۵	۸/۲۴±۰/۰۸۱	۱۷/۰۳±۰/۰۴۷	۸/۳۶±۰/۳۸۸	۲۹۹۳/۳۳±۲۸۸۱/۵۷
میانگین کل سالانه	۰/۲۳۷±۰/۵۹۸	۰/۸۶۸±۰/۷۲۹	۸/۸۰±۰/۷۶۰	۱۷/۱۱۲±۰/۶۶۷	۸/۲۰±۳۲۰	۱۹۹۵۵/۱۵±۴۸۰۵۱

در ایستگاه۱۲، دامنه میانگین میزان نیتریت، حداقل ۰/۰۱۴ در فصل زمستان و حداکثر۰/۷۵۱ میلی‌گرم در لیتر در فصل بهار، نیترات حداقل ۰/۵۸۹ در فصل بهار و حداکثر ۱/۱۷ میلی‌گرم در تابستان، اکسیژن حداقل ۷/۹۶ در فصل پائیز، حداکثر ۹/۶۹ میلی‌گرم در لیتر در تابستان ، درجه حرارت حداقل ۱۶/۸۰ درجه سانتی‌گراد در پائیز و حداکثر ۱۷/۳۸ درجه سانتی‌گراد در فصل بهار و پ هاش حداقل ۷/۹۷ در پائیز و حداکثر ۸/۳۶ در زمستان وتوتال کانت حداقل ۱۹۰در پائیز وحد اکثر۵۴۹۳۱/۰۳در بهار تعیین گردید(جدول۲۲).

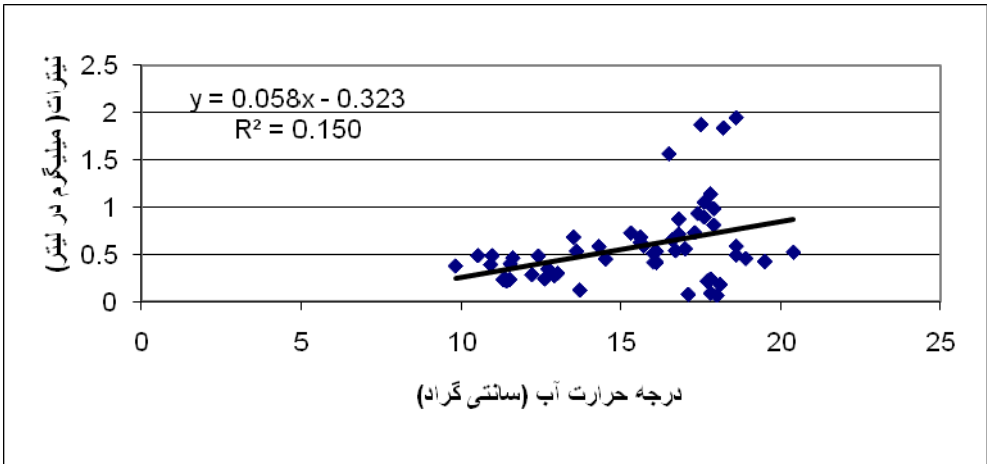
میانگین سالانه میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب ورودی در ایسنگاههای مطالعاتی کمترین وبیشترین میانگین سالانه میزان نیتریت آب ورودی به ترتیب در مزرعه ۱۱ و ۱۲ ، میزان نیترات در مزرعه ۱۱ و۱۲ ،میزان اکسیژن محلول در مزرعه ۱۲ و ۹ ، میزان درجه حرارت در مزرعه ۱ و۱۰ و pH آب در مزرعه ۱۱ و۱ ،وشمارش کل باکتریهای قابل شمارش در مزرعه ۲ و ۱۲ تعیین گردید(جدول ۲۳).

جدول ۲۳ : میانگین سالانه میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب ایستگاههای مطالعاتی منطقه تنکابن-استان مازندران

ایستگاه	نیتریت میلیگرم بر لیتر)	نیترات (میلیگرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلیگرم بر لیتر)	درجه حرارت (سانتی گراد)	pH	شمارش کلی باکتری‌های قابل کشت در آب
۱	۰/۰۲۲±۰/۰۶۲	۰/۴۱۱±۰/۱۵۱	۹/۶۴±۰/۶۱۰	۱۰/۱۴±۳/۳۰	۸/۶۲±۰/۲۴۶	۱۶۱۹/۹۲±۴۹۶۰/۳۰
۲	۰/۰۲۴±۰/۰۶۳	۰/۴۰۳±۰/۱۷۲	۹/۶۶±۰/۷۷۹	۱۰/۸۸±۳/۱۰	۸/۴۹±۰/۲۵۵	۲۲۵/۳۳±۳۶۷
۳	۰/۰۲۴±۰/۰۶۳	۰/۴۰۳±۰/۱۷۲	۹/۶۶±۰/۷۷۹	۱۰/۸۸±۳/۱۰	۸/۴۹±۰/۲۵۵	۲۲۵/۳۳±۳۶۷
۴	۰/۰۲۹±۰/۰۶۵	۰/۴۰۴±۰/۱۹	۹/۵۷±۰/۶۴۴	۱۱/۹۷±۳/۷۰	۸/۴۸/۲۶۰	۲۲۴۷/۲۵±۳۶۷۸
۵	۰/۰۲۸±۰/۰۶۴	± ۰/۲۰۷ ۰/۴۱۷	۹/۶۲±۰/۷۰۲	۱۱/۸۵±۳/۷۹	۸/۵±۰/۲۸	۷۴۲۸/۷۵±۱۵۱۶۵
۶	۰/۰۳۷±۰/۰۷۸	۰/۴۱۳±۰/۲۱۲	۹/۴۲±۰/۵۶۹	۱۱/۹۴±۳/۹۵	۸/۵۱±۰/۲۳	۵۴۵۸/۳۳±۷۳۶۰
۷	۰/۰۲۷±۰/۰۶۵	۰/۴۱۹±۰/۲۲۲	۹/۶۲±۰/۶۲۸	۱۲/۱۶±۳/۹۹	۸/۶۲±۰/۱۶۷	۲۸۱۲۰±۸۵۴۲۹
۸	۰/۰۵۶±۰/۱۲۵	۰/۴۳±۰/۲۰۵	۹/۳۲±۰/۸۵۲	۱۲/۷۴ ±۴/۱۱	۸/۵۵ ±۰/۱۳۲	۱۰۳۸۵/۳۳±۱۹۰۷۵
۹	۰/۰۰۷±۰/۰۰۴	۰/۴۶۱±۰/۲۳۲	۹/۸۰±۱/۱۵	۱۱/۹۱±۴/۳۴	۸/۴۶±۰/۲۵۲	۵۶۲/۱۷±۵۶۰
۱۰	۰/۰۲۸±۰/۰۱۳	۱/۰۲±۰/۸۸۵	۸/۸۵ ±۰/۴۷۱	۱۷/۶۸±۰/۶۲	۸±۰/۲۹۹	۲۰۳۲/۵±۱۷۰۰
۱۱	۰/۰۰۵±۰/۰۰۲	۰/۳۳۰±۰/۳۳۳	۹/۰۵±۰/۵۸۲	۱۷/۶۴±۰/۲۴۷	۷/۸۱±۰/۱۶۲	۱۴۵۲/۹۰±۳۵۵۶
۱۲	۰/۲۳۷±۰/۵۹۸	۰/۸۶۸±۰/۷۲۹	۸/۸۰±۰/۷۶۰	۱۷/۱۱۲±۰/۶۶۷	۸/۲۰±۳۲۰	۱۹۹۵۵/۱۵±۴۸۰۵۱

معادله رگرسیون درجه حرارت و نیترات

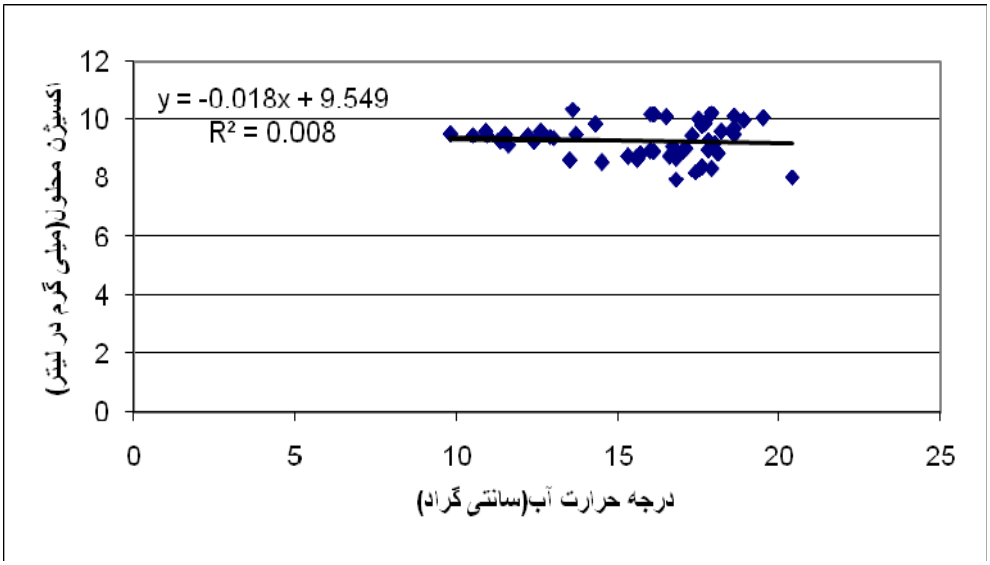
بر اساس معادله خط رگرسیون ترسیم شده در جدول شماره ۱ ،معادله رگرسیون بدست آمده مبین افزایش ۵/۸ درصد نیترات در اثر افزایش هر واحد درجه حرارت می باشد.



نمودار۷: معادله رگرسیون درجه حرارت و نیترات

- معادله رگرسیون درجه حرارت و اکسیژن

بر اساس معادله خط رگرسیون ترسیم شده در جدول شماره ۲ ،معادله رگرسیون بدست آمده مبین افزایش هر واحد اکسیژن محلول در آب در ازای کاهش ۱/۸ درجه حرارت می باشد.



نمودار۸: معادله رگرسیون درجه حرارت و اکسیژن محلول آب در ایستگاههای مطالعاتی

به منظور بررسی تاثیر فاکتورهای محیطی بر بروز استرپتوکوکوزیس درمزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در غرب استان مازندران ، فاکتورهای دما ، نیتریت ، pH و اکسیژن محلول در آب در طی مدت یک سال در مزارع مورد بررسی ، ثبت ونتایج حاصل در مدل رگرسیون لجستیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

نظر به اینکه محدوده تغییرات اکسیژن محلول در آب در طول مدت نمونه برداری در حد بسیار مطلوب (ppm ۱۲/۱ – ۷/۹۶) اندازه گیری و ثبت گردید ومحدوده مذکور زمینه ساز بروز بیماری نمی باشد ، لذا از مدل مذکور خارج گردید.

تعداد کل نمونه های اخذ شده درعملیات میدانی پروژه ۱۵۷۷ عدد بوده که تعداد ۱۷۹ نمونه در دسترس قرار نداشته و به عنوان نمونه های از دست رفته (missing case) تلقی گردیده است.

در مدل رگرسیون لجستیک از عدد "۱" جهت نمایش عدم بروز بیماری و از عدد "۰" بعنوان کد نمایشگر بروز بیماری استفاده شد و درطی نمونه برداری ۲۳۰ مورد بروز بیماری و ۱۱۶۸ موردعدی بروز بیماری ثبت گردید.

روش بار گذاری مدل به صورت Backward ; Wald انتخاب گردید. چنین بنظر میرسد که متغیرهای مستقل تعریف شده در مدل لجستیک بر متغیرتاثیر داشته (p=0.000) بطوریکه آزمون های مربوطه نشاندهنده برازش مناسبی از مدل بوده است.(chi square = 23.69 , sig = 0.000)

از آنجایی که در مرحله سوم میزان Nagelkereke R Square =.138 گردیده است لذا تبیین تغییرات متغیر وابسته از روی متغییرهای مستقل در مدل رگرسیون ، حدودا معادل 13.8 درصد گردید. که میتواند مؤید این مطلب باشد

که به احتمال زیاد در شرایط مطالعات انجام شده عوامل دیگری بجز عوامل مورد بررسی می تواند در بروز بیماری دخیل باشند. لازم به تاکید است که مدل بکار گرفته شده از حساسیت بالایی (98.7٪) ، برخوردار میباشد.

نظر به محاسبات انجام شده ونتایج حاصل ، علی رغم مقادیر نسبتا بالای نیتریت ، میزان نیتریت بربروز بیماری تاثیر گذار نبوده است و لذا فاکتور نیتریت از مدل خارج گردید. بنظر میرسد که حد مطلوب اکسیژن محلول در آب درکاهش میزان تاثیر گذاری نیتریت در بروز بیماری مؤثر بوده است.

با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{P}{1-P}\right\} = ۲۴/۶۴ - ۱/۷۴\ (\text{pH}) - ۰/۳۷\ (\text{Temperature})$$

منابع

۱- استفان دروموند،س.،۱۳۷۹، راهنمای پرورش وتکثیر ماهی قزل آلا. ترجمه:مهرداد عبداله مشائی، انتشارات نوربخش،ص ۱۷۶

۲- بهارصفت،م ؛ بهارصفت،م.،۱۳۸۲،بیماریهای مشترک حیوان وانسان- پیشگیری،مبارزه ،کنترل وریشه کنی.سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی ص ۹۱۷

۳- پیلی،ت،وی،پ؛۱۳۸۷.آبزی پروری ومحیط زیست،ترجمه:مرتضی علیزاده،موسسه تحقیقات شیلات ایران،ص ۹۵

۴- چارلز،ت.،۱۳۸۲، پاتوژنز عفونتهای باکتریائی.ترجمه:اسماعیل ذوقی؛جلیل جلیلوند یوسفی ورامین حاجی خانی. انتشارات قلمستان هنر، ص۱۷-

۵- سیهار،ژیری؛۱۳۸۲.راهنمای رنگی برای شناسائی میدانی ماهیان آب شیرین.ترجمه:جواد دقیق روحی،انتشارات موج سبز، ص ۴۸

۶- سلطانی،م. ، ۱۳۸۰ ، بیماریهای آزاد ماهیان . انتشارات دانشگاه تهران .

۷- عسکریان ، ف ؛ کوشا، آ ؛۱۳۸۵. مجموعه فیزیولوژی ماهی و آبزیان . تهران ، نشر علوم کشاورزی ، ص- ۱۸

۸- لاوسون،تی،ب .،۱۳۸، اصول مهندسی آبزیان.ترجمه:مهدی جعفری باری.معاونت تکثیر و پرورش آبزیان،اداره کل آموزش و ترویج،ص۳۱

۹- علیزاده،م.،۱۳۸۷، برنامه راهبردی ماهیان سردابی،موسسه تحقیقات شیلات ایران ص

۱۰- نامداری ،ا.، ۱۳۸۱، گزارش وضعیت بیماری مشکوک به استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل الای رنگین کمان در استان فارس

۱۱- نوری موگهی ،ح ؛ نبوی ،م ؛ محمود زاده ثاقب ، ح ؛ حیدری ، ز؛ مروتی ، ح ؛ موحد نیا،ع ؛۱۳۹۰. فیزیولوژی ماهیان . انتشارات دانشگاه تهران . ص ۲۱

12- Agnew W, Barnes AC. 1. Streptococcus iniae: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. J Vet Microbiol 2007; 122: 1-15.

13-Bullock,G.L.,1981,Streptococcal infections of fish.Us,fish&wildlife publications.paper 127

14- Delannoy,C.M.J;Crumlish,M;Pollock,J;Foster,G;Dagleish,M.P;Turnbul,J.F and Zadoks,N.R.,.2013,Human Streptococcus agalactiae Strains in aquatic mammals and fish.BMC Microbiology,13:41

15-Elder,A and Ghittino,C.,1999,Lactococcus garvieae and Stretococcus iniae infections in rainbow trout(oncorhynchus mykiss):similar,but different disease.vol.36:227-231

16-Evance,J;Klesius,P.H and Shomakher.,2006,Streptococcus in warm water fish.Aquaculture Health International,4:10-14

17-Fadaeifard,F;Raissy,M;Faghani,M;Majlesi,A;Farahani,G.N.,2012,Evaluation of physicochemical parameters of waste water from rainbow trout fish farms and their impacts on water quality of koohrang stream-Iran.International journal of Fisheries and aquaculture,vol.4(8),pp.170-177

16-Fafioye, o.o ., 2011,Prelimentary studies on water characteristics and bacterial population in high yield Kajola fish ponds.vol3(3),pp: 68-71

18- FAO.,2012,The state of World Fisheries and Aquaculture.Food and agriculture organization of the United nations,Fishereries department,Rome,230. pp: 3

19- Ferguson, H.W., Morales, J.A. and Ostland, V.E., 1994, Streptococcosis in aquarium fish, Diseases of Aquatic Organisms, 19(1): 1-6.
20- fuller,j.D;Bast,D.J;Nizet,v;Low,D.E and Azavedo,J.C.S.,2001,Infection and Immunity.vol.69,No.4,pp:1994-2000
21-Haghieghi,K.S;Soltani,M;Nikbakht-Brojeni,G . and Skall,H.f.,2010,Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis/lactococcosis in Rainbow trout(oncorhynchus mykiss) aquaculture in Iran. Iran journal microbiology,2(4):198-209
22- Kitao, T., Aoki, T. and Iwata, K. 1979, Epidemiological Study on streptococcosis of cultured yellowtail (Seriola quinqueradiata) — I. Distribution of Streptococcosis sp. in seawater and muds around yellowtail farms. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 45: 567-72.
23- Klontz,G.W.,1991,Manual for Rainbow trout production on the family-owned farm.Nelson&Sons.Inc.p:7
24-Kroupova,H;Machova,Z.and Svobodova.,2005, Nitrite influence on Fish:a review,vet.med.Czech.50:461-471
25-leatherland,J.F and Woo,T.k.,1998,Fish diseases and disorders,Vplume 2:Non-infectious disorders.CAB international.pp:279
26-Lekang odd-Iva,2007,Aquaculture engineering.Black well publishing L.td.PP:133
27- Mirrasooli,E;Nezami,S;Ghobani,R;Khara,H.and talebi,M.,2012,The impact of rainbow trout (oncorhynchchus mykiss)farm effluent on water quality.World journal of fish and marine Sciences 4(4):330-334
28-Moksness,E;Kjorsvick,E and olsen,Y.,2004,culture of cold-water Marine fish .Black well publishing l.td.pp:28
29- Morvan .c..L; Troutaud,D. and Deschaux,P.,1998. Differential effects of temperature on specefic and non specefic immune defence in fish. The Journal of Experimental Biology 201, 165–168
30-Sepahi,A;Heidarieh,M;Mirvaghefi,A;Rafiee,G.R;Farid,M.andSheikhzadeh,N., 2013,Effects of water temperature on the susceptibility of Rainbow trout to Streptococcus agalactiae.Acta Scientiae veterinariae,41:1097
31-Svobodova,Z;Machova,J;poleszczuk,G;Huda,J;Hamackova,j;kropova,H.,2005
,Nitrite poisoning of Fish in aquaculture facilities with water-recirculating system.Acta vet.Brno.74:129-137
32-Taylor,S.L; Jaso-riedmann,Alitson,A,B;elder,A;Evans,D.L.,2001, Streptococcus iniae inhibition of apoptosis of nonspecific cytotoxic cells:a mechanism of activation of innate immunity in teleosts.vol.46:15-21
33- Toranzo AE, Devesa S, Heinen P, Riaza A, Nunez S, 6. Barja JI. Sterprococcosis in cultured turbout caused by an Enterococcus-like bacterium. Bull Eur Ass Fish Pathol 1994; 14: 19-23
34 - Wedemeyer, G. A., Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. 232, Chapman and Hall, 115 Fifth Avenue New York, 1996, 232.
35-yanong,R.P.E;Francic-floyd,R.,2002,streptococcal diseases in fish.institude of food and agriculture sciences.univercity of florida.circular 57 .pp:
36-Yasuda H, Nakamura A, et al. Lancefield group C Streptococcus dysgalactiae
infection responsible for fish mortalities in Japan. J Fish Dis 2004; 27: 679-686.
37-Nakagawa,H;Sato,M,and Gatline II.,2007,Dietary supplements for the Health and quality of cultural fish.CAB international.pp:109

فصل ۴ :

بحث و نتیجه گیری کلی

در ماهیان اکثر عوامل بیماریزا فرصت طلب می باشند (Mokesness, 2004; Yanong, 2002). برخی از باکتریها با وجود اینکه در محیط آب فراوان می باشند،درصورتیکه جمعیت ماهیان سالم باشند وخوب مدیریت شوند،ایجاد بیماری نمی کنند مانند آئروموناس هیدرو فیلا(*Aeromonas hydrophila*)(Yanong, 2002).اما در تحقیقی نشان داده شد ۱۰۰٪ جمعیت از دو گونه ماهی مینو (white cloud mountain minnows) زبـــراو یماه (zebra danios)، وقتی در یک محیط آبی با غلظت بالای باکتری استرپتوکوک قرار می گیرند،طی ۲ تا ۴ روز ۱۰۰ درصد تلف می شوند(Fergusen,1994).لذا لذاباکتری استرپتوکوک ،از نوع باکتریهای با ویژگی "فرصت طلب واقعی" نبوده ونسبت به دیگر عوامل باکتریائی از قدرت تهاجمی بیشتری برخوردار است و طبعا تشخیص سریع بیماری ومدیریت درست در پیشگیری از خسارت اقتصادی ناشی از بروز آن، بسیار مهم می باشد. بر این اساس هر گونه تغییرات شدید در خواص فیزیکی،شیمیائی وبیولوژی آب به عنوان شرایط ناتوان کننده محیطی(Environmentl stressors) عمل نموده و با اختلال در تعادل زیستی (Homeostasis)ماهی ممکن است به ضعیف شدن سیستم دفاعی بدن ،بروز بیماری ویامرگ منجر شوند(Wedemeyer, 1998; Leatherland, 1998).لذا، استرس های محیطی که کاهش دهنده مقاومت به بیماری وزمینه ساز بروز وشیوع بیماریهای همه گیر درماهیان می باشند در آبزی پروری از اهمیت خاصی محیطی در ماهی، در مدیریت موفق و موثر آبزی پروری از اهمیت فوق العاده ای برخوردار بوده وهدف از تحقیق حاضر مبنی بر بررسی عوامل خطر و ارزیابی تاثیر آنها در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهیان سردآبی غرب مازندران در همین راستا می باشد. اسرپتوکوکوزیس یک بیماری باکتریائی،سیستمیک،فوق حاد در ماهیان گرمابی وسردابی در هر دو محبط آب شیرین وآب دریا است( )این بیمار ژئونوز می باشد(;Agnew,2007). از گزارش اولیه در سال ۱۹۵۸ در ماهی قزل آلای رنگین کمان تا کنون در بسیاری از گونه های ماهی و در بسیاری از کشورهای صاحب صنعت آبزی پروری بخصوص پرورش ماهیان سردآبی ازجمله ایران خسارات اقتصادی زیادی بر صنعت آبزی پروری تحمیل نموده است .خسارت اقتصادی ناشی از استرپتوکوکزیس در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در ایران معادل ۱۵ میلیون دلار تخمین زده می شودوبراین اساس سازمان دامپزشکی کشور طرح ملی مبارزه با استرپتوکوکوزیس ماهی قزل آلای رنگین کمان را در دستورکار قرار داده اند(Haghighi,2010; Yasuda,2004).

۱-۳-۳- وضعیت استرپتوکوکوزیس در ایستگاههای مطالعاتی

تحقیق حاضر نشان داد در۱۲ایستگاه مطالعاتی ، از مجموع ۱۳۵۰ عدد ماهی نمونه برداری شده، ۶۰۷ عددماهی با میانگین وزن و طول بترتیب ۲۲/۰۴ گرم و۱۲/۵۹ سانتی متر در گروه بچه ماهیان و ۷۴۳ عدد ماهی با میانگین وزن و طول بترتیب ۱۵۶/۲۵ گرم و۲۳/۳۲ سانتی متر در گروه ماهیان پرواری تعیین گردیدند و استرپتوکوکوزیس تنهادر گروه ماهیان پرواری تشخیص داده شد ودر بچه ماهیان استرپتوکوکوزیس مشاهده نشد. ازمجموع ۷۲ عدد ماهی که علائم بالینی بیماری را داشتند ۱۴ عدد ماهی مبتلا به استرپتوکوکوزیس (۱۹/۴۴

درصد) بودند و در گروه ماهیان پرواری قرار داشتندو ۵۸ عدد ماهی از نظراسترپتوکوکوزیس منفی بودند (۸۰/۵۵ درصد)ودردامنه میانگین وزنی حداقل وحداکثر بترتیب ۱/۵۵ گرم و۴۱۷گرم قرار داشتند. تعداد ۳ عدد از ماهیان گروه پرواری هیچگونه علائم بالینی بیماری را نداشتنداما به استرپتوکوکوزیس مبتلا بودند(۰/۲۲ درصد کل جمعیت ماهیان نمونه برداری شده). ۹۴/۴۵درصدازجمعیت ماهیان نمونه برداری شده سالم بودند.

نتایج این مطالعه بانتایج پورغلام (۲۰۱۱)در استان مازندران که از ۷۲ عددماهی واجد علائم بالینی تنها از ۵ عدد از آنها(۷درصد)باکتری استرپتوکوک جدا کرد، مطابقت نداردودارای یک اختلاف ۱۲/۴۴درصدی است . همچنین،نتایج این تحقیق با نتایج نامداری(۱۳۸۱) در استان فارس که از ۲۴۰ عدد ماهی که دارای علائم بالینی بیماری بودند، تنها از ۲۸ عدد از آنها(۱۳ درصد)باکتری استرپتوکوک جدا کرد،یک اختلاف ۶/۴۴درصدی مشاهده می شود. بنظر می رسد اختلاف نتایج این تحقیق می تواند چند عاملی(Multifactorial)ازجمله موارد دیل باشد:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد روند تغییرات خواص فیزیکی و شیمیائی آب در ایستگاههای مطالعاتی بر حسب اینکه دارای: الف- منابع آبی رودخانه(ایستگاه های ۱،۴،۶،۷و ۹)باشند؛ب- منابع آبی رودخانه وسیستم پمپاژ آب باشند (ایستگاههای ۳،۲،۵،۸)؛ج- منابع آبی چاه و سیستم پمپاژ باشند(ایستگاههای ۱۰،۱۱،۱۲) متفاوت می باشدو میانگین پارامترهای فیزیکی وشیمیائی اندازه گیری شده آب ورودی ایستگاهها بر حسب سال وفصل وماه درطول اجرای این تحقیق یکسان نیست ودارای اختلاف معنی دار آماری می باشند($p < 0/05$).

۱- درجه حرارت آب در ایستگاههای مطالعاتی

میانگین سالانه درجه حرارت آب در ایستگاههای بامنابع آبی چاه(۱۰،۱۱ و۱۲) بالاتر از ۱۷ درجه سانتی گراد می باشند در حالیکه میانگین حداکثر سالانه درجه حرارت آب در ایستگاههای با منابع آبی رودخانه ۱۲/۷ درجه سانتی گراد می باشد که بتر تیب بالاتر وپائین تر از ۱۵ درجه سانتی گراد آب که درجه حرارت مطلوب رشد ماهی می باشند، قرار دارند وتغییرات درجه حرارت اب در ایستگاههای با منابع ابی رودخانه تابع سیکل فصلی است(شکل ۱تا۴). دامنه نغییرات میانگین ماهانه درجه حرارت آب در ایستگاههای مطالعاتی دارای اختلاف معنی دار می باشند($p < 0/05$)(جدول).بطوریکه درماه مرداد ۱۳۹۰، میانگین ماهیانه درجه حرارت آب در ایستگاه ۸ بالاتر از میانگین درجه حرارت آب سایر ایستگاهها است وبه میزان ۲۰/۴ درجه سانتی گراد می باشد(نمودار۱) .نتایج این تحقیق نشان می دهد که ۴۷/۰۷ درصد موارد استرپتوکوکوزیس در ۱۵/۶درجه حرارت آب و۳۵/۲۹ درصد در۱۶/۹۸ سانتی گراد و۱۷/۶۴ درصد استرپتوکوکوزیس در ۱۸/۴ درجه سانتی گراد اتفاق می افتد بطوریکه ۱۰۰درصد درصد موارد استرپتوکوکوزیس در ۱۶/۹۹ درجه سانتی گراد مشاهده گردید.درجه حرارت آب یک عامل کلیدی مستعد کننده بیماری در ماهیان محسوب می شود و بیمار شدن ماهی نه تنها به رشد و توان عامل بیماریزا بستگی دارد بلکه به سیستم ایمنی ماهی که وابسته به درجه حرارت

محیط می باشد نیز مربوط می باشد(Morvan,1998). در این ارتباط مطالعات در سیستم های دریائی در ژاپن نشان داد که باکتری استرپتوکوک در محیط آب دریا وجود دارد ومیزان وقوع بیماری درفصل گرم- تابستان- بالا است.این موضوع ممکن است مبین خطر بومی شدن بیماری (استقرار باکتری در مزرعه) باشد در این صورت بیماری بشکل دوره ای وعود کننده بخصوص در دوره های زمانی که میزان استرس محیط بالا است ممکن است بروز نماید(yanong,2002). Sepahi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی اثر درجه حرارت آب بر میزان بازماندگی ماهی قزل‌آلا در مواجهه با دزهای مختلف باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه نشان داد در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد تلفات درماهیان یک روز بعد از مواجهه سازی شروع شد و میزان بازماندگی با افزایش دز را تا ۱۳ درصد گزارش کردند و حال آنکه در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد شروع تلفات درماهیان ۲-۳ روز بعد از مواجهه سازی شروع و میزان بازماندگی در مقایسه با دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد دارای اختلاف معنی‌دار بود و بین ۲ تا ۳ برابر در شرایط یکسان (دز مساوی) میزان ماندگاری ماهی در درجه حرارت ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیشتر است(Sepahi,2013). .لذا بنظر می رسد بالابودن درجه حرارت آب به عنوان یک عامل کلیدی اثر گذار(استرس فیزیکی) در اختلاف درصد وقوع استرپتوکوکوزیس می باشد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج بررسی های انجام شده در استان فارس (نامداری ،۱۳۸۱) و شرق استان مازندران(پورغلام ۱۳۸۸- ۱۳۸۷) مطابقت دارد.با عطف به نتایج تحقیق حاضر که بازاء افزایش یک درجه حرارت آب میزان نیترات ۵/۸ درصد افزایش می یابد لدا در صورت ورود ویاوجود باکتری استرپتوکوک در محیط (آب یا ماهی) ، خطر بروز استرپتوکوکوزیس در ایستگاههای مطالعاتی با منابع آبی چاه بالاتر است .

۲- میزان املاح نیتریت ونیترات

درآبزی پروری ، سیستم های بازگردش یا چرخشی آب ،مقدار آب مورد نیاز برای پرورش را کاهش می دهد .آب خروجی این سیستم ها از طریق پمپاژ به داخل سیستم برگشت داده می شوند. ودر مزارعی که مقدار آب یک عامل محدودکننده تولید محسوب می شود و یا در مزارعی که بدون منبع آبی جدید میزان تولید آبزی راافزایش می دهنداز اهمیت خاصی برخوردار می باشد(Lekang odd-Iva,2007). همچنین از نظر به حد اقل رساندن اثرات زیست محیطی،سیستم های بازگردش یا چرخشی به دلیل اینکه صرفاً میزان تخلیه مواد زائد را به داخل آبهای آزاد کاهش می دهند سیستم های ایده آلی هستند(پیلی۱۳۸۷) درسیستم های کاملاً بسته،آب فقط برای آبگیری حوضچه ها وتبخیر استفاده می شوند وچون آب بعد از تصفیه مناسب شامل ته نشینی،فیلتراسیون مکانیکی یا بیولوژیک ،استریلیزه کردن،اکسیژن دهی،هوادهی،حذف گازها،خنک کردن یا حرارت دادن وکنترل pH دوباره مورد استفاده قرار میگیرد مقدار پساب خروجی بسیار کم است اما درسیستم ابتدائی بازیابی آب،تصفیه عمدتاً از طریق هوادهی ،تزریق اکسیژن یا فیلتراسیون مکانیکی به منظور حذف موادجامد انجام می شود(پیلی ۱۳۸۷). در انتخاب سیستم ها وشیوه های پرورش،پرورش دهندگان بندرت به مسئله تولید مواد

زائدوحذف آنها از محیط توجه کافی دارند(پیلی ۱۳۸۷).لذا در انتخاب سیستم بازگردشی منافع ومضار نوع سیستمی که بکار گرفته می شود باید در نظر گرفته شود(Lekang odd-Iva,2007).بطورکلی، در ایستگاههای مطالعاتی از سیستم ابتدائی بازیابی آب به عنوان آلترناتیو منبع آبی جدید در افزایش تولید(مزارع با منابع چاه)در کل دوره پرورش ویا هنگام مواجهه با شرایط نامناسب جریانات آبی رودخانه(از جمله سیل)وپیشگیری از خسارات اقتصادی ناشی از آن استفاده می شود.نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که استفاده از سیستم ابتدائی بازیاب آب بر میزان مواد محلول نیتروژنی (نیتریت ونیترات)اثرات شدیدی دارد بطوریکه میزان این مواد در ایستگاههای با منابع آبی چاه در کل دوره پرورش و با منابع آبی رودخانه به هنگام مواجهه با شرایط سیلابی وبستن کانال ورود آب رودخانه به مزرعه ، دارای اختلاف معنی دار می باشند($P<0.05$).گرچه اهداف ومدیریت بکار گیری این سیستم در ایستگاههای فوق الذکر تا حد زیادی متفاوت می باشد ولی در بر آیند تغییرات خواص شیمیائی نا خواسته ای که در آب ایجاد می شود وجوه مشترکی دارند وآن ایجاد استرس از نوع شیمیائی در محیط(عسگریان،۱۳۸۵) می باشد که برگونه ماهی پرورش قزل الای رنگین کمان تحمیل می شود.

۲- در گشت دوم تحقیقاتی(مرداد ۹۰) در تاریخ ۱۳۹۰/۵/۲۳بدلیل شرایط سیلابی شدن رودخانه دوهزار در ۲ تا ۳ روز قبل از روز نمونه گیری، مدیریت مزرعه ۸ با بستن به موقع دریچه کانال اصلی ورودی آب رودخانه وبا فعال نمودن سیستم پمپاژ و برگشت و هدایت آب خروجی به کانال ورودی آب ایستگاه ، از گل آلودگی شدید ،خفگی ماهیان وبروز خسارت جلوگیری نمود و در روز نمونه گیری تفاوت آشکاری در میزان کدورت آب ایستگاه ۸ با کدورت آب سایر ایستگاههای بالادست وجود داشت(تصویر شماره ۱)اما نتایج نشان می دهد دراین ماه(مرداد)دامنه میانگین نیتریت آب در ایستگاههای ۱تا۶ ، کمتر از حد مجاز (۰/۰۱میلی گرم در لیتر)است و با میانگین نیتریت در ایستگاه ۸ به میزان۰/۱۳ میلی گرم که چند برابر بالاتر از حد مجاز می باشد دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<0.05$).بنظر می رسد طول مدت فعال بودن سیستم پمپاژآب در شرایط سیلابی،عدم تامین منابع آبی جدید یا تعویض به موقع آب جایگزین شونده وعدم تناسب تراکم ماهی با شرایط آبی جدید ،ماهیت غیر مترقبه بودن سیل وبه موقع قطع نکردن غذا دهی ،وجود مواد مدفوعی وبقایای غذائی منجر به افزایش مواد زائد از نوع نیتروژنی در محیط زیست ماهی می شودو سیستم ابتدائی بازیابی آب در ایستگاه ۸ و ایستگاههای ۱۰ و۱۱ منجر افزایش مواد محلول نیتروژنی ژائد آب می شود که بالاتر از حد مجاز وبا میزان نیتریت سایر ایستگاهها دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P<0.05$) .

بطورکلی ۴ نوع استرس فیزیکی ،شیمیائی ،بیولوژی ومدیریتی در سیستم آبزی پروری پیشنهاد شده است که کنترل این استرس ها در افزایش تولید وبازده اقتصادی مهم می باشند(عسگریان،۱۳۸۵).

از نتایج دیگر تحقیق حاضر اینکه از ۱۷ عدد ماهی مبتلا به استرپتوکوکوزیس ۳ عدد(۱۷/۶۵ درصد) علائم بالینی استرپتوکوکوزیس را نداشتند (به ظاهر سالم) که مبین امکان تداوم حضور باکتری استرپتوکوک به هنگام جابجایی مواد آلوده(ماهی) از یک منطقه به منطقه دیگر باشد بدون اینکه امکان شناسائی ویاتشخیصی

درسطوح بالینی در هنگام نقل وانتقال ماهی بین مزرعه ای وجود داشته باشد . لذا باکتری استرپتوکوک به سهولت ممکن است با ورود به مزرعه جدید ومساعد بودن شرایط محیطی به عنوان استرس بیولوژی (عسگریان،۱۳۸۵) در بروز استرپتوکوکوزیس نقش مرکزی یا محوری داشته باشد .

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که ۸۰/۵۶ درصد از ماهیان نمونه برداری شده که دارای علائم بالینی بودند ،در محدوده میانگین وزنی ۱/۵ گرم(بچه ماهی) و ۴۱۷ گرم(ماهی پرواری) ،قرار داشتند که با وجود داشتن علائم بالینی بیماری از نظر استرپتوکوکوزیس منفی بودند . جداسازی باکتری استافیلوکوک وباسیل های گرم منفی از نمونه ماهیان با علائم بالینی که مشابه باعلائم استرپتوکوکوزیس بودند ،مبین دخالت داشتن سایر عوامل میکروبی در تظاهرات علائم بالینی در ماهیان می باشد. هر گونه اقدام در مانی در سطح فارم باید در راستای تشخیص صحیح و سریع از طریق آزمایشگاه انجام گیرد تا از درمان غیر هدفمند(درمان کور)جلوگیری شود و تبعاتی ازنوع مقاومت آنتی بیوتیکی و خسارات اقتصادی را در بر نداشته و فرصت برای گسترش بیشتر استرپتوکوکوزیس فراهم نگردد.

ماهیت پسابها به طور طبیعی بر حسب وضعیت و موقعیت وطراحی مزرعه،گونه پرورشی،شیوه های پرورش ومقدار آب ،نرخ تعویض آب ،عوامل فصلی وهیدرولوژی آب ، متفاوت است .انواع مواد زائد موجود در پساب مزارع در ۳ گروه عمده طبقه بندی می شوند شامل ۱-بقایای غذائی و دفعی؛۲-فراوردههای جانبی حاصل از متابولیسم؛۳- بقایای بیوسیدها وبیواستات ها(پیلی، ۱۳۸۷).در تحقیق حاضر میزان توتال کانت در ایستگاههای مطالعاتی بترتیب ذیل مشاهده شد.

ایستگاههای ۱-۸>ایستگاههای ۱۰-۱۱-۱۲>ایستگاه ۱>ایستگاه۹>ایستگاه۲-۳

در ایستگاههای با منابع آبی چاه بنظر می رسد مدیریت سیستم بازیاب آب وبانتیجه غذاهای خورده نشده ومواد دفغی ماهیان بسیار تاثیر گذار بوده ودرایستگاههای ۱-۸ علاوه بر سیستم بازیاب آب وتغذیه ومواد دفعی ماهیان ،وجودآلودگی های ناشی از فاضلاب های انسانی تاثیر گذار می باشد . مطالعات نشان داده اند که در فنلاند،غلظت کلی فرم و استرپتوکوک درپسابهای حاصل از مزارع پرورش قزل آلا در آب شیرین و در پساب هچریها در ایالت متحده افزایش یافته است(پیلی، ۱۳۸۷).با این حال شمارش گونه های شاخص باکتریائی(کلی فرم واسترپتوکوک)در پسابهای مزارع پرورش ماهی در فنلاند بالا بوده است ،هرچند هیچ نوع مدرکی مبنی بر خطر انتقال بیماری به انسان یا ذخایر وجود نداشت(پیلی، ۱۳۸۷).

تحلیل تاثیر فاکتورهای دما ، نیتریت ، pH و اکسیژن محلول در آب در طی مدت یک سال در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد بررسی بر بروز استرپتوکوکوزیس در غرب استان مازندران به روش رگرسیون لجستیک ، مؤید این مطلب است که تغییرات متغیر وابسته از روی متغییرهای مستقل در مدل رگرسیون ، حدودا معادل 13.8 درصد است. لذا اینگونه استدلال میگردد که به احتمال زیاد در شرایط مطالعات انجام شده عوامل دیگری بجز عوامل مورد بررسی می تواند در بروز بیماری دخیل باشند.

نظر به محاسبات انجام شده ونتایج حاصل ، علی رغم مقادیر نسبتا بالای نیتریت ، میزان نیتریت بربروز بیماری تاثیر گذار نبوده است و لذا فاکتور نیتریت از مدل خارج گردید. بنظر میرسد که حد مطلوب اکسیژن محلول در آب درکاهش میزان تاثیر گذاری نیتریت در بروز بیماری مؤثر بوده است.

متناسب با مدل لوجیت چنین بنظر می رسد که به ازای هر درجه تغییر درجه حرارت و pH به سمت پایین به ترتیب۳۷/. و ۱/۷۴ درصد میزان بیماری زایی را تغییر خواهد داد. با توجه به اینکه ضریب ثابت از مقدار بالایی برخوردار بوده و جهت آن مثبت است و از طرفی مجموع تغییرات pH و درجه حرارت ، متناسب با ضرایب مربوطه از ۱۰- تا ۱۳-بیشتر نخواهد شد لذا مجموعا درحداکثر تغییرات فصلی میتوان انتظار افزایش ۱۳ واحدی میزان استرپتوکوکوزیس را داشت .

درواقع می توان اذعان داشت به دلیل انکه منابع مختلف آبی با میزان های متفاوت نیترات و نیتریت و شباهت گاه و بی گاه تغییرات pH و درجه حرارت در همان ماهها ، مورد استفاده این تحقیق قرار گرفته اند ، عملا فاکتورهای مهم نیترات و نیتریت از معادله حذف شده اند و پیشنهاد میگردد جهت آزمایش های بعدی ، برای اندازه گیری فاکتورهای مورد نظر شرایط فارمی مشابه مد نظر قرار گیرد.

پیشنهادها

پیشنهادات به دو شکل پیشنهاد اجرائی و پیشنهاد برای مطالعات آینده به شرح ذیل بیان می شود

۱-پیشنهادات اجرائی

الف – ارتقاءسطح مدیریت واحد های تولیدی در بهره برداری از سیستم های تشخیصی صحیح و سریع استرپتوکوکوزیس از مراجع آزمایشگاهی ودر مان بر اساس تشخیص میکروبشناسی به منظور اجتناب ازمصرف آنتی بیوتیک به روش درمانهای علامتی ماهیان ،کاهش مقاومت باکتریائی وآلودگی محیط

ب – قرنطینه:گرچه از معیارهای شناخته شده در پیشگیری از گسترش بیماری است و باید رعایت گردد اما از آنجاکه در بروز استرپتوکوکوزیس استرس های چهارگانه فیزیکی،شیمیائی،بیولوژی ومدیریتی بسیاراثرگذار می باشند رعایت اصول بهداشت در تداوم مراحل نگهداری و پروش ماهی واجد اهمیت بسیار می باشد.

ج – ارتقاء مدیریت مهندسی و بهداشتی از طریق ارزیابی منافع و مضار اثرات کوتاه وبلند مدت(سیستم ایمنی ماهی) سیستم های بازیابی(برگشت) آب در مزارع تولیدی با منابع آبی مختلف که اغلب به روش آزمون و خطا صورت می گیرد.

د– ارتقاء سطح ایمنی ماهی با استفاده از محرک هاو تقویت کننده های سیستم ایمنی ماهی

ه– تشکیل جلسات و کارگاه های آموزشی به منظور انتقال یافته های این پروژه به دست اندرکاران تولید ماهیان سردابی

۲- پیشنهاد برای مطالعات آینده

الف– به منظور پیش آگهی از وضعیت سیستم دفاع ایمنی ماهی و دستیابی به محدوده زمانی مناسب برای واکسیناسیون و برنامه ریزی های بهداشتی در مزارع تولیدی، لازم است بررسی همزمان پارامترهای فیزیکی و شیمیائی آب ، شاخص های سیستم دفاع ایمنی ماهیان و بروز استرپتوکوکزیس در فصول مختلف سال در مزارع با منابع آبی چاه و رودخانه انجام پذیرد.

ب– بررسی عملکرد واکسنهای تولیدی با منابع آبی مختلف

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودهانتشکر و قدر دانی می نمایم.آقایان دکتر محمد صیاد بورانی ریاست محترم مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور، دکتر شمسی پور ریاست محترم اداره دامپزشکی شهرستان تنکابن،دکتر بیگی نماینده اداره دامپزشکی در همکاری با این تحقیق ، مهندس رضا بابا علیان مسئول واحد آبزی پروری دامپزشکی استان مازندران،مهندس برخی رئیس اداره شیلات تنکابن، که در مدت اجرای این پروژه از هیچگونه کمکی دریغ ننموده و تمهیدات لازم را فراهم نمودهاند کمال تشکر را دارم.

برخود لازم می دانم که از همکاران محترم در موسسه علوم شیلاتی ایران جناب آقای دکتر مطلبی و جناب دکتر روحانی ریاست و معاونت و کلیه همکاران موسسه قدر دانی نمایم.

در نهایت جا دارد تشکر ویژه از همکاران پر تلاش و صمیمی خود آقای مهندس رحمت یوسفی ، سرکار خانم دکتر سلطنت نجار لشگری،سرکار خانم مریم اسلامی در بخش بهداشت و بیماریهای مرکز،آقایان مهندس میثم طاولی و دکتر حمید رضا علیزاده ثابت، مهندس میثم صمدی در بخش اکولوژی و کلیه همکاران در بخشهای ترابری،پشتیبانی ومالی و اداری داشته باشم

Abstract

One of the most important bacterial fish diseases which has caused some outbreaks in rainbow trout farms in Iran is streptococcusis .The farmers were suffering from huge economic losses due to the disease outbreaks in different rainbow trout farms in Iran. The aim of our study was to determine rate of streptococcusis incidence in different stage of growth in farmed rainbow trout in Mazandaran and Fars province. Fish and water samples were randomly collected and measured randomly in selected farms, monthly throughout a year. After clinical observations, Isolation and recognition of strep strains were made using biochemical and molecular tests. Some Environmental factors include Nitrate, Nitrite, Temperature, pH, Ammonia and DO measure during sampling periods. According to our results incidence of disease in juvenile is more than growers. Some samples showed clinical singe of streptococcusis without strep. Contamination .Main isolated strain were *S.iniae* and *S.garviea* and *S.uberis* recognized for first time in east of Mazandaran province (Haraz River). Incidence of streptococcusis in rainbow trout affected by fluctuation of Nitrite, temperature and DO. Management of these factors can decrease rate of disease outbreaks.

Key words: Streptococcusis , Incidence , Rainbow trout , Mazandaran province ,Fars province, Environmental factors

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – Cold Water Fishes Research Center

---

Project Title : A survey on some risk factors and evaluation of their impacts on streptococcosis in rainbow trout farms in some provinces in IRAN. (Mazandaran, Fars)
Approved Number: 134-1252-12-9001
Author: Abolfazl Sepahdari
Project leader Researcher : Abolfazl Sepahdari
Collaborator(s) : A.A. Saeidi, H.Asaeian, H.Nezamabadi
Advisor(s): A.R.Bahobar, I.Sharifpour, M.Sharif rohani, K.Abdi
Supervisor: -
Location of execution :Mazandaran province
Date of Beginning : 2011
Period of execution : 2 Years & 6 Months
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2016

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute

Project Title :

A survey on some risk factors and evaluation of their impacts on streptococcosis in rainbow trout farms in some provinces in IRAN. (Mazandaran, Fars)

Project leader Researcher :

Abolfazl Sepahdari

Register NO.

47555