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

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

عنوان:

کنترل بهداشتی پرورش ماهیان خاویاری در قفس در دریای خزر

مجری:
جلیل جلیل پور رودکلی

شماره ثبت
۴۹۶۲۹

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

عنوان پروژه : کنترل بهداشتی پرورش ماهیان خاویاری در قفس در دریای خزر
شماره مصوب پروژه : ۹۰۰۰۳-۹۰۵۱-۱۲-۸۶-۱۴
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : جلیل جلیل پور رودکلی
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : جلیل جلیل پور رودکلی
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : مهدی معصوم زاده ، مهدی علیزاده ، سهیل بازاری مقدم ، علیرضا شناور ماسوله، کریم مهدی نژاد، علی حلاجیان، محدث قاسمی، بابک رمضانی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : محمد رضا مهرابی
محل اجرا : استان گیلان
تاریخ شروع : ۹۰/۱/۱
مدت اجرا : ۱ سال و ۶ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۵
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»

پروژه : کنترل بهداشتی پرورش ماهیان خاویاری در قفس در دریای خزر

کد مصوب : ۹۰۰۰۳-۹۰۵۱-۱۲-۸۶ -۱۴

شماره ثبت (فروست) : ۴۹۶۲۹ تاریخ : ۹۵/۳/۲۳

با مسئولیت اجرایی جناب آقای جلیل جلیل پور رودکلی دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشددر رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماریهـای آبزیـان در تاریخ ۹۵/۲/۲۵ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت کارشناس در انستیتو تحقیقات بین المللی تاسـماهیان دریـای خزر مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- کلیات ۳
۱-۱- مقدمه ۳
۱-۲- تاسماهیان ۴
۱-۲-۱- رژیم غذایی و دستگاه گوارش تاسماهیان ۵
۱-۲-۲- سیستماتیک و معرفی فیل ماهی ۵
۱-۳- پرورش ماهی در قفس ۷
۱-۳-۱ : مزایای پرورش ماهی در قفس ۷
۱-۳-۲- انواع قفس ۷
۱-۳-۳- محل استقرار قفس ۱۰
۱-۳-۴- کیفیت آب محل استقرار قفس ۱۰
۱-۳-۵- حمل و نقل و رهاسازی ماهی در قفس ۱۰
۱-۳-۶- غذادهی در قفس ۱۰
۱-۳-۷- مدیریت بهداشتی پرورش ماهیان در قفس ۱۱
۱-۳-۸- مروری بر منابع ۱۲
۲- مواد و روش کار ۱۶
۲-۱- وسایل مورد نیاز ۱۸
۲-۱-۱- مواد مصرفی ۱۸
۲-۱-۲: مواد غیر مصرفی ۱۸
۲-۲-۱: مطالعات انگل شناسی ۱۸
۲-۲-۱: مطالعات باکتری شناسی ۱۹
۲-۲-۱: مطالعات قارچ شناسی ۲۰
۲-۲-۱: مطالعات هماتولوژی و سرولوژی ۲۱
۲-۲-۱: مطالعات آسیب شناسی بافتی ۲۴
۲-۲-۱: مطالعات ویروس شناسی ۲۵
۲-۲-۱: روش های آماری ۲۶

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

۳- نتایج ۲۷
۳-۱: بررسی بچه فیل ماهیان پرورشی قبل از انتقال به قفس..... ۲۷
۳-۱-۱: بررسی های ظاهری..... ۲۷
۳-۱-۲: مطالعات انگل شناسی ۲۷
۳-۱-۳: مطالعات باکتری شناسی..... ۲۷
۳-۱-۴: مطالعات قارچ شناسی ۲۸
۳-۲: بررسی بچه فیلماهیان پرورشی پس از انتقال به قفس ۲۹
۳-۲-۱: مطالعات باکتری شناسی..... ۳۰
۳-۲-۲: نتایج آنتی بیوگرام ۳۳
۳-۲-۳: مطالعات قارچ شناسی..... ۳۴
۳-۲-۴: خونریزی و جراحات پوستی ۳۶
۳-۲-۵: مطالعات خون شناسی ۳۷
۳-۲-۶: کالبد گشایی ۵۶
۳-۲-۷: بررسی بافت شناسی کبد فیل ماهیان پرورشی..... ۵۸
۳-۲-۸: ویروس شناسی ۵۹
۴-بحث ۶۰
۴-۱: باکتری شناسی ۶۱
۴-۲: قارچ شناسی ۶۲
۴-۳: کبد چرب..... ۶۴
۴-۴: مطالعات انگل شناسی ۶۵
۴-۵: مطالعات خون شناسی ۶۶
۴-۶: مطالعات ویروس شناسی ۷۱
۵- نتیجه گیری کلی ۷۲
پیشنهادها ۷۳
منابع..... ۷۵
چکیده انگلیسی..... ۸۱

چکیده

پرورش ماهیان خاویاری در راستای تولید گوشت و خاویار از مهمترین برنامه های توسعه در زمینه تولید آبزیان محسوب می شود ، لذا بررسی وضعیت بهداشتی آنها در محیط های پرورشی به منظور کسب اطلاعات از وضعیت موجود و اتخاذ بهترین روشهای پیشگیری و درمان بیماریهای تاسماهیان ضروری می باشد. در این طرح، مطالعات بهداشتی ۳۰۰۰ عدد فیل ماهی پرورشی، قبل و پس از انتقال آنها به قفس از تاریخ ۹۰/۳/۱۶ الی ۹۰/۱۰/۲۰ به مدت ۷ ماه انجام پذیرفت. در بررسی ظاهری از بچه فیل ماهیان پرورشی قبل از معرفی به قفس تعداد ۱۰۰ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند که هیچگونه علائم بیماری در آنها مشاهده نگردید در مطالعات انگل شناسی قبل از رهاسازی انگل *Trichodina*. Sp. در آبشش و پوست دارای آلودگی ۴۰ درصد و میانگین شدت ۱/۷۱± ۲۰ عدد بود و در محیط دریا طی مدت مطالعه، انگلی در بررسی چشم، آبشش، پوست و امعاء احشاء و... مشاهده نگردید. در بررسی های باکتری شناسی میزان شمارش باکتریایی آب پرورشی در حوضچه های بتنی $Log\ cfu\ ml^{-1}$ ۵/۸۴ –۵/۸۰ ، آبشش ماهیان $cfu\ gr^{-1}$ ۳/۴۱– ۳/۲۸ و دامنه شمارش باکتریایی پوست $cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۵/۵۸– ۵/۳۶ بوده است. دامنه شمارش باکتریایی آب پرورشی در محیط دریا $Log\ cfu\ ml^{-1}$ ۵/۹۲ – ۳/۹۷ ، پوست $cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۵/۴۱ – ۳/۷۴ و آبشش $cfu\ gr^{-1}$ ۳/۴۰ – ۲/۰۱ تعیین گردید. ایزوله های جداسازی شده از ماهی و آب پرورشی قبل و بعد از رهاسازی شامل Enterobacteriaceae، *Aeromonas* sp.، *Pseodomonas* sp.، *Acinetobacter* spp.، *Staphylococcus* ، *Halomunas* sp.، *Shewanella* sp. بودند. در بررسی های قارچ شناسی میزان شمارش قارچی آب پرورشی در حوضچه های بتنی $cfu\ ml^{-1}$ ۱۸ –۱۲/۶۶ ، آبشش ماهیان $cfu\ gr^{-1}$ ۴– ۲/۶۶ و دامنه شمارش قارچی پوست $cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۸/۶۶– ۵/۳۳ تعیین گردید. دامنه شمارش قارچی آب پرورشی در محیط دریا ml^{-1} ۵۲/۵ – ۲۲ ، پوست، $(cm^2)^{-1}$ ۳۵/۴۱ – ۱۳ و آبشش $cfu\ gr^{-1}$ ۲۳/۵۰ – ۸ تعیین گردید. فلور قارچی جداسازی شده از ماهی و آب پرورشی قبل و بعد از رهاسازی شامل *Cladosporium* sp.، *Penicillium* spp.، mucor sp.، *Aspergilus* sp.، و *Yeasts* بودند.

در آب پرورشی دریا و در آب شیرین میانگین شمارش یاخته های قرمز ۱۱۰۲۵۰۰ و ۱۰۶۷۵۰۰ و سفید ۲۴۹۱۶/۶۷ و ۲۰۶۲۵ و شمارش افتراقی گلبول های سفید شامل نوتروفیل ۱۹/۴۱ و ۲۱/۲۵ ، ائوزینوفیل ۵/۰۸ و ۴ ، لنفوسیت ۷۲/۷۵ و ۷۱/۲۵ و مونوسیت ۲/۷۵ و ۳/۵ تعیین گردید. همچنین درصد هماتوکریت ۲۰/۱۷ و ۲۳/۷۵ ، هموگلوبین ۴/۳۴ و ۴/۲۷ ، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) ۱۸۳/۰۶ و ۲۲۲/۷۹، غلظت متوسط هموگلوبین در یاخته قرمز (MCH) ۳۹/۴۲ و ۳۹/۴۳ و میانگین غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) ۲۱/۶۹ و ۱۷/۷۷محاسبه شد. میزان فاکتور های سرمی خون ماهیان شامل کل پروتئین ۱/۸۰ و ۲/۸۹ ، آلبومین ۰/۵۵ و ۱/۸۹، کلسترول ۷۰/۱۶ و ۷۶/۹۲ ، تری گلیسیرید ۶۱۵/۷۴ و ۳۳۰/۰۴، گلوکز ۶۴/۳۲ و ۵۱/۹۰ ، منیزیم ۹/۱۲ و ۹/۵۱ و کلسیم ۵/۳۷ و ۱۴/۸۴ به ترتیب در آب دریا و آب شیرین تعیین و مقایسه گردید. بر اساس نتایج حاصل میزان آلبومین و کلسیم خون ماهیان در آب شیرین و میزان تری گلیسیرید در آب شور افزایش معنی داری را

نسبت به یکدیگر نشان داده است ($p<0.05$). همچنین در مقایسه فاکتور های سرمی بین ماههای مختلف اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید($p<0.05$) . در بررسی های ظاهری تعداد ۲۴۰ عدد ماهی بررسی شده ، ۱۰/۴۱ درصد دارای علائم خونریزی در محل پلاک های استخوانی بوده اند. در مطالعه اندامهای داخلی ماهیان پرورشی پس از کالبد گشایی تعدادی از ماهیان پرورشی دارای علائم مشکوک به کبد چرب بودند. به طور کلی علیرغم بروز برخی جراحات جلدی و کبد چرب در ماهیان مورد بررسی هیچگونه بیماری منجر به تلفات مشاهده نگردید و ماهیان پرورشی در قفس از وضعیت بهداشتی مناسبی برخوردار بودند.

کلمات کلیدی: دریا، فیل ماهی، وضعیت بهداشتی، پرورش، قفس های شناور

۱- کلیات

۱-۱-مقدمه

تا کنون مطالعاتی در خصوص بررسی وضعیت بهداشتی ماهیان خاویاری پرورشی در قفس در دریای خزر صورت نپذیرفته است. بر اساس مطالعات بعمل آمده طی دهه اخیر در خصوص پرورش این ماهیان تا مرحله انگشت قدی در مراکز پرورشی ایران و برخی کشورهای حاشیه دریای خزر و یا بصورت پرواری در سایر نقاط دنیا، حاکی از ابتلای این ماهیان به برخی عفونتهای باکتریایی، ویروسی و یا انگلی بوده است که از آن جمله می توان به عفونتهای ناشی از فلکسی باکتر[1]، ویبریوزیس[2]، یرسینیوزیس[3]، اپی تلیوسیستیس[4] در برخی نواحی فرانسه در تاسماهی سیبری، هرپس ویروس[5] و ایریدو ویروس[6] در تاسماهی سفید آمریکا و همچنین سپتی سمی ناشی از آئروموناس هیدروفیلا[7] در ایران اشاره نمود(سلطانی، ۱۳۷۹) .

بر اساس گزارش Moring (1982) میل به افزایش تولید، رشد سریع تر، تراکم بالا و ساختار عملکردی قفس می توانند شرایط مساعد برای شیوع بیماری های عفونی ایجاد کنند. بیماری های عفونی در پرورش ماهی نه تنها از آلودگی شیمیایی و محیطی منشا می گیرند، بلکه عواملی مانند افزایش تراکم، نحوه حمل و نقل، تغییرات درجه حرارت و رسوبات زیستی نیز در این امرموثرند. طبق نظر Boydstun (1977) شایع ترین بیماری مشاهده شده در ماهی پرورشی قفس ویبریوزیس ناشی از گونه های مختلف ویبریو و جراحات پوستی و پوسیدگی باله ها می باشد. احتمال وقوع بیماری های عفونی با انتخاب یک سایت مناسب، رعایت تراکم مطلوب، حمل و نقل و جابجایی مناسب می تواند به حداقل برسد.

بر اساس مطالعات Okaeme (1989) به طور کلی در سیستمهای پرورش در قفس دو دسته از بیماری ها مطرح می باشند، دسته اول بیماری هایی هستند که در هنگام انتخاب ماهیان برای پرورش در قفس و ذخیره سازی ماهیان را مبتلا کرده اند(قبل از این که به قفس منتقل شوند آلوده بوده اند) و دومین دسته بیماری هایی هستند که یا به دلیل نا مساعد بودن شرایط زیستی و یا به علت نواقص ساختاری در قفس بروز می کنند. نظر به این که کنترل بیماری ها در سیستم های پرورشی دارای جریان آب (جریان های دریایی) بسیار مشکل است و حذف عوامل بیماریزا در ستون آب کاری غیر ممکن، انجام مطالعات اپیدمیولوژیک در بحث کاهش بروز بیماری ها و مرگ و میر از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

با توجه به مطالعات مذکور و با توجه به نوپا بودن مطالعه بهداشتی ماهیان خاویاری در قفس ضرورت شناسایی و تعیین عوامل بیماریزا در این سیستم پرورشی امری ضروری است.

---

[1] Flexibacter
[2] Vibriosis
[3] Yersiniosis
[4] Epitheliocystis
[5] Herpesvirus
[6] Iridovirus
[7] Aeromonas hydrophila

هدف از این بررسی :

۱- شناسایی عوامل پاتوژن باکتریایی، قارچی و انگلی و ... در محیط پرورش ماهیان خاویـاری در قفـس دریـای خزر.

۲- ارائه دستورالعمل های عملیاتی و کاربردی بهداشتی برای پیشگیری از بیماریهای احتمالی.

بی شک شناسایی عوامل بیماریزا در مراحل مختلف تکثیر وپرورش ماهیان خاویـاری و نیـز جداسـازی آنهـا مـی تواند دراتخاذ روشهای مناسب به منظور کنترل و حذف عوامل مذکور و افزایش کیفیـت و کمیـت تولیـد بسـیار موثر باشد. در این راستا بررسی وضعیت بهداشتی پرورش ماهیان خاویـاری در قفـس در دریـای خـزر بـه منظـور جداسازی، شناسایی عوامل مختلف بیماریزا در امر کنترل و پیشگیری از بیماریها نقش اساسی ایفا نموده و زمینـه را برای ایجاد یک نظام پـایش و مراقبـت از بیمارهـای اپـی زئوتیـک (Monitoring and surveillance) بـه کمـک سازمانهای ذیربط فراهم می سازد.

۲-۱- تاسماهیان Acipenseridae

خانواده تاسماهیان که در تصرف محدوده وسیع و گوناگون زیستگاه های آبی از نظر فیزیکی، شیمیایی و زیستی شهرت دارند، از دیدگاه آفرینش و سیر تکاملی به راسته تاسماهی سانان، یگانه راسته از فوق راسته ماهی های غضروفی– استخوانی تعلق دارند که در اواخر دوره دونین از دوران اول زمین شناسی روی زمین پدیدار شدند. این ماهیان به صورت جنس های متعدد از راسته ماهیان سنگواره ای دیرینه زیان شکل Paleoniciform (که ریزتر و دمی همسان تر به دم کوسه ماهیان امروزی داشتند)، مشتق شده اند. در اواخر دوره ژوراسیک، دیرینه زیان شکل ها از بین رفتند ولی راسته تاس ماهی سانان (Acipenseriforms) با سه خانواده به زندگی خود ادامه دادند. ماهی های خانواده اول به نام خانواده Chondrostidae که در آغاز دوره ژوراسیک پدیدار شده و شباهت بیشتری به پالئونیسی ها نسبت به ماهیان خاویاری امروزی داشتند، در اواسط دوره کرتاسه از بین رفتند. اما دو خانواده دیگر یعنی خانواده تاسماهیان (Acipenseridae) و خانواده پاروپوزه ماهیان (شبه تاس ماهیان) می سی سی پی یا Polyodontidae با انتشار خود در تمامی نیمکره شمالی باقی مانده به زندگی خود ادامه می دهند (کیوان، ۱۳۸۱). ماهیان خاویاری (acipenseriforms) که اغلب ماهیانی رود کوچ (anadromous) و نیمه رود کوچ (semi-anadromous) هستند و برای تخم ریزی به رودخانه ها کوچ می کنند، بیش از ۲۰۰ میلیون سال است که از پیدایش آنها در پهنه گیتی می گذرد. آنها یکی از کهن ترین مهره داران زنده دنیا با عنوان فسیل های زنده هستند (Mims *et al.*, 2002) که ۲۷ گونه از آنها باقی مانده، اغلب در معرض خطر انقراض قرار دارند (Daprà *et al.*, 2009). تاسماهیان که عموماً عمر طولانی دارند، عمدتاً در نواحی سرد و معتدل نیمکره شمالی در شمال آمریکا، اروپا و آسیا و در رودخانه ها، مصب ها، آب های لب شور، آب های اقیانوسی، دریاچه ها و دریاهای بسته (در سواحل شرق و غرب کانادا، ایالات متحده آمریکا و حوضه آبریز رودخانه می سی سی پی)، رودخانه

های اروپا بویژه رودهایی که به اقیانوس اطلس، دریای آدریاتیک و دریای بالتیک می ریزند، دریاهای سیاه، آزوف، خزر و آرال و نیز در مناطقی از آسیا که آب رودها به دریاهای Gkhostsk، Berting (بین آلاسکا و سیبری)، Barent، Kara و دریای سفید می ریزند) (Coppense, 2009)، پراکنده هستند.

۱-۲-۱: رژیم غذایی و دستگاه گوارش تاسماهیان

تاسماهی شکلان در تمام مراحل زندگی گوشتخوار هستند. پارو پوزه های بالغ فیلتر کننده و تاسماهیان بالغ ممکن است ماهی یا بی مهرگان کف زی را مورد تغذیه خود قرار دهند. همه لاروها زئوپلانکتون خوارند. همانند تغییرات رژیم غذایی در مسیر رشد و نمو، اهمیت نسبی مواد مغذی چون چربی، پروتئین و اسیدهای آمینه نیز تغییر می کند. در تاسماهیان کربوهیدرات ها و چربی ها و تغذیه از زئوپلانکنون ها در مرحله لاروی بر سایر مواد چیره می شوند، در حالی که در جیره غذایی بالغین مواد پروتئینی مهمتر است. سیستم گوارشی تاسماهیان نمونه ای از سیستم گوارشی گوشتخواران اولیه است. روی هم رفته، طول سیستم گوارش تاسماهیان کوتاه (۱۰۰-۷۰٪ طول بدن) متشکل از مری، پیش معده تراوشی، معده غیر تراوشی یا پیلوریک (حد فاصل معده و روده باریک)، روده، پیلوریک روده کور، دریچه مارپیچ روده و راست روده می باشد (Singer *et al.*, 2004).

۲-۲-۱- سیستماتیک و معرفی فیل ماهی *Huso huso* linnaeus,1758

با نام علمی *Huso huso* linnaeus,1758 ماهی آنادرموس Anadromous (رود کوچ) بوده که در آبهای شور و لب شور زندگی و رشد می نماید اما برای تخمریزی به آب شیرین مهاجرت می کند. این ماهی در دریای خزر، دریای سیاه، آزوف و شرق دریای مدیترانه زیست می نماید. از رده ماهیان استخوانی (Osteichthyes) و زیر رده (Teleostomi) و فوق راسته ماهیان غضروفی – استخوانی (Chondrostes) و راسته تاسماهی شکلان (Acipenseriformes) می باشد. در تقسیم بندی Berg (۱۹۴۸) و Holcik (۱۹۸۹) خانواده Acipenseridae شامل دو زیر خانواده تاسماهیان Acipenserini و Scaphirhychini بوده که زیرخانواده تاسماهیان دارای دو جنس *Acipenser* و *Huso* است. جنس فیل ماهی شامل دو گونه فیل ماهی دریای خزرو فیل ماهی آمور می باشد (بهمنی، ۱۳۷۷). زیستگاه اصلی این ماهیان در حوضه دریای خزر، سیاه و آزوف بوده و در حوضه دریای آدریاتیک نیز وجود دارند (Holcik, 1989) که قبل از مهاجرت برای تخمریزی به رودخانه ها ، در آب لب شور در ناحیه میانی زیست می کنند. در دریای سیاه تا عمق ۱۶۰ متر و حتی تا عمق ۱۸۰ متر پایین می روند و در دریای خزر در اعماق ۱۰۰ تا ۱۴۰ متر زندگی می کنند (Holcik, 1989).

Kingdom:	Animalia
Phylum:	Chordata
Class:	Osteichthes
Subclass:	Actinoptergii
Order:	Acipenseriformes
Family:	Acipenseridae
Sub-Family:	Acipenserinae
Genus:	*Huso*
Species :	*Huso huso*
Trinomial name :	*Huso huso* (Linne)1758

فرم بدن دوکی شکل قسمت پشت تیره رنگ، ناحیه شکمی سفید رنگ می باشد. دهان بزرگ و نیمه هلالی است (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). تاکنون نمونه های از این گونه با طول عمر حدود ۱۰۰ سال و وزن تقریبی۲ تن صید شده است. جنس نر در سن ۱۴-۱۳ سالگی و جنس ماده در سن ۱۸-۱۶ سالگی در محیط طبیعی بالغ می گردند. البته این مدت در محیط پرورشی در استخرهای بتونی به ۱۰-۱۲ سال نیز می رسد. مولدین این ماهی پس از ورود به رودخانه برای تخمریزی به قسمت های علیای رودخانه مهاجرت کرده و تعداد تخـم آنها به اندازه (وزن ماهی) بستگـی دارد و بین ۷۰۰ - ۳۶۰ هزار عدد متغیر است. تعداد تخمک در گرم لارو این ماهیان از بی مهرگان آبزی و سپس با افزایش سن از سایر ماهی ها نظیر ماهی کلمه، گاو ماهی و ... تغذیه می نمایند. این ماهیان به راحتی به غذای کنسانتره عادت کرده و قابلیت رشد و پرورش در آب شیرین را دارند. پرورش آنها با استفاده از آب رودخانه و چاه در استانهای شمالی ایران میسر شده به نحوی که هم اکنون تعدادی از این ماهیان در آب شیرین تخمدار شده و در مرحله ۴ رسیدگی جنسی قرار دارند. به دلیل قدرت تحمل دامنه وسیع دمایی(Eurotherm)، شوری (Eurohalin) و دامنه وسیع رژیم غذایی و استعداد فراوان برای رشد، از گونه های پرورشی در بین ماهیان خاویاری می باشد. فیلماهی حتی در مراحل اولیه آنتوژنز به راحتی از سایر گونه ها و جنس های تاسماهیان به دلیل دهان بزرگ نیمه هلالی متمایز می گردند. این نشانه بعنوان مشخصه مورفومتریک برای جنس فیل ماهی و همچنین برای نماینده دوم آن، یعنی کالوگای آمور می باشد.

در ایران، گونه فیل ماهی به دلیل رشد سریعتر و قابلیت انطباق بهتر با شرایط پرورشی به عنوان گونه اصلی جهـت فعالیت‌های پرورشی انتخاب و در دستور کار قرارگرفته است و گونه های دیگر از قبیـل تاسـماهی ایـران و ازون برون در حد بسیار محدود و تحقیقاتی پرورش داده می شوند. از محدودیت های اصلی توسعه پرورش فیل ماهی می توان کمبود بچه فیل ماهی، بلوغ دیرهنگام و طولانی بودن دوره پرورش تا مولد سازی، کاهش ذخایر طبیعی این گونه تا احتمال سقوط به ضمیمه شماره یک سایتس ذکرکرد.

۳-۱- پرورش ماهی در قفس

امروزه در بسیاری از نقاط جهان بیش از ۱۳۰ گونه ماهی و حدود ۱۲ گونه میگو درون محیط های محصور پرورش داده می شود. در کشور ایران نیز از سال ۱۳۷۲ پرورش ماهی در محیط های محصور به نحوی آغاز شده است. منظور از پرورش ماهی در قفس یا Cage، بخشی از آب دریا، سراب، آب پشت سد و..... است که از اطراف و کف توسط ابزارهای مختلفی مثل توری با چشمه های مختلف محصور گردد و در آن محیط محصور، ماهی پرورش داده شود.

محیط های محصور به سه نوع تقسیم می شوند:

۱) قفس ۲) پن (سواحل محصور شده) ۳) کانال های آب رسانی

این ها، بخش هایی از منابع آبی نظیر دریاچه های پشت سد، دریاچه های طبیعی و مصنوعی، آبگیرها، مرداب ها، رودخانه ها و کانال های آبرسانی هستند که توسط تور، محصور و در آنها اقدام به پرورش ماهی می شود.

۱-۳-۱ - مزایای پرورش ماهی در قفس

- سهولت کار نسبت به استخر های خاکی و بتونی چه در احداث و چه در اجرا.
- هزینه سرمایه گذاری کم تر و تولید بیشتر در واحد سطح.
- استفاده اصولی از منابع آب های طبیعی و نیمه طبیعی با توان تولید پایین.
- محصور کردن ماهیان در یک سطح کم و مصرف انرژی کم تر و تبدیل انرژی به ماده بیشتر.
- امکان توسعه بیشتر و قابلیت جابجایی راحت تر.
- استفاده از غذای طبیعی و زنده و در نتیجه کیفیت گوشت بالاتر.

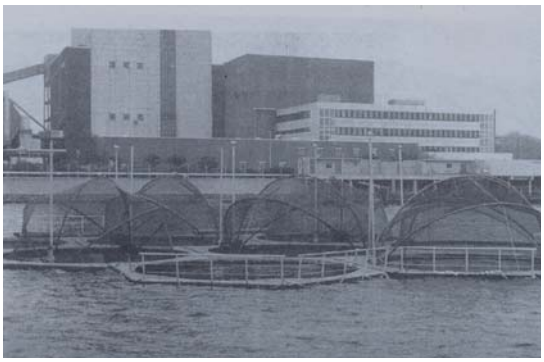
۲-۳-۱- انواع قفس

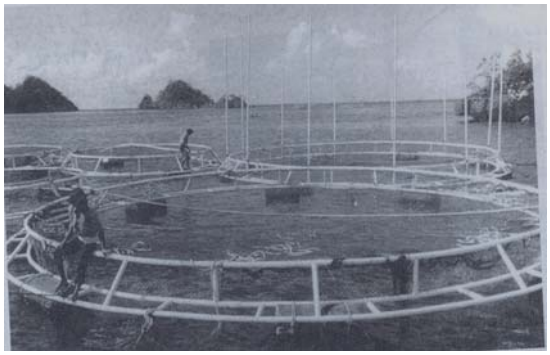
قفس ها در مقایسه با انواع اولیه آن توسعه زیادی یافته و امروزه انواع و طرح های متنوعی از آنها وجود دارد چهار نوع اصلی قفس عبارتند از: ثابت، شناور، قابل غوطه وری و غوطه ور که استفاده از ۲ مدل ثابت و شناور رایج تر است.

۱) قفس های ثابت: از یک کیسه توری تشکیل شده اند که به وسیله تیرک هایی در کف دریاچه یا رودخانه در آب نگهداری می شود. این قفس ها نسبتاً ارزان و ساختن آن ها آسان است، ولی از لحاظ اندازه و شکل محدودیت دارند و فقط در محل های کم عمق با بستر مناسب مستقر میشوند(شکل ۱-۱).

شکل ۱ -۱ : قفس ثابت (اقتباس از مالکوم ۱۳۸۰)

۲) **قفس های شناور:** کیسه قفس های شناور توسط یک حلقه یا چارچوب شناور نگهداری می شود. کاربرد این قفس نسبت به سایر انواع قفس بیشتر است و می توان آن ها را در اشکال و اندازه های مختلف طراحی کرد و می توان از آنها در محل هایی که در معرض جریان های یا طوفان های شدید هستند استفاده کرد (شکل۱-۲).

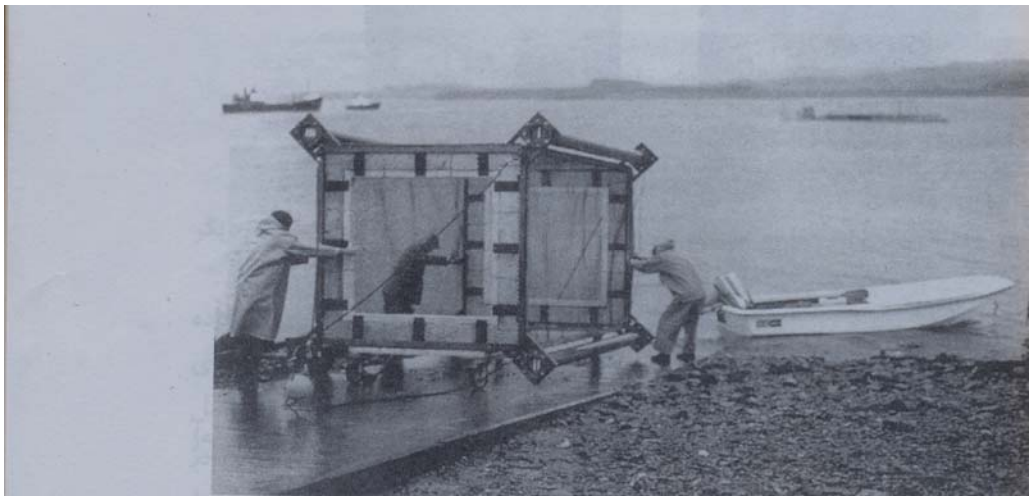




شکل ۱ - ۲ : قفس های شناور (اقتباس از مالکوم ۱۳۸۰)

۳) **قفس های قابل غوطه وری:** کیسه توری قفس قابل غوطه وری، متکی به یک چارچوب یا دکل است و می تواند در عمق های مختلف آب قرار گیرد. این مزیت باعث می شود که در شرایط آب و هوایی بد از

صدمات در امان باشد. این مدل قفس در زمان آرامش آب، در سطح آب نگه داشته می شود و هنگام بدی آب و هوا درون آب غوطه ور می گردد(شکل ۱-۳).



شکل ۱ - ۳ : قفس قابل غوطه وری (اقتباس از مالکوم ۱۳۸۰)

۴) **قفس های غوطه ور:** قفس های غوطه ور ساده، معمولاً از تعدادی جعبه چوبی ساخته می شوند که در میان آن ها شکاف هایی وجود دارد و آب از درون آن ها عبور می کند. این قفس ها توسط سنگ یا پایک به بستر آب محکم می شوند. (شکل ۱-۴).

۳-۳-۱- محل استقرار قفس

جهت انتخاب محل استقرار قفس ۳ معیار اصلی وجود دارد که همواره باید مورد ملاحظه قرار گیرند:

- شرایط فیزیکی وشیمیایی محیط که تعیین می کند آیا یک گونه می تواند در آن محیط به لحاظ دما، شوری، اکسیژن، جریان ها و ..... پرورش یابد یا خیر.
- عواملی که با موفقیت یک سیستم قفس ارتباط دارند (آب وهوا، محفوظ بودن، عمق و بستر)
- دسترسی سریع به امکانات درمانی

۴-۳-۱- کیفیت آب محل استقرار قفس

دما، شوری، اکسیژن، گل آلودگی و آلودگی آب، پارامترهایی هستند که قبل از نصب قفس در محل مورد نظر، باید مورد توجه قرار گیرند. هر یک از گونه های ماهی برای رشد بهتر به درجه معینی از دما، شوری، اکسیژن و ..... نیاز دارند.میزان گل آلودگی کمتر از ۱۰۰ میلی گرم در لیتر برای بیشتر گونه ها قابل تحمل است. البته مدت در معرض قرار گرفتن نیز مهم است.

از نقطه نظر پرورش ماهی در قفس، یک آلوده کننده عاملی است که می تواند به ساختمان قفس صدمه بزند، اثرات منفی روی ماهی های درون قفس یا غذای مصرفی بگذارد، یا در بدن ماهی به مقداری جمع شود که دیگر قابل مصرف نباشد. در نتیجه محل استقرار قفس باید تا حد امکان دور از صنایع و نقاط پر جمعیت باشد تا خطر این آلودگی ها کاهش یابد(مالکوم، ۱۳۸۰).

۵-۳-۱- حمل و نقل و رهاسازی ماهی در قفس

۲۴ تا ۴۸ ساعت قبل از حمل و نقل بچه ماهی ها، غذادهی قطع می شود و با وسیله مناسبی بچه ماهی ها به محل استقرار قفس منتقل می شوند. پس از رسیدن وسیله حمل و نقل، قفس را به کنار ساحل نزدیک کرده و ماهی ها را توسط لوله های پلاستیکی یا برزنتی به داخل قفس تخلیه می کنند یا اینکه ماهی ها را توسط قایق به محل مورد نظر می برند. پیش از رهاسازی، باید دمای آب ماهی با دمای محیط جدید تقریباً برابر باشد. بلافاصله پس از انتقال ماهی در قفس، نباید به آن ها غذا داد. بر مبنای تولید نهایی هر قفس و محاسبه تعداد تلفات، ماهی ها را در قفس رهاسازی می کنند (مالکوم، ۱۳۸۰).

۶-۳-۱- غذادهی در قفس

ماهی های قفس را بایستی، به زمان های مشخص غذادهی عادت داد. با توجه به طول و وزن متوسط هر ماهی، غذا با سایز مشخصی استفاده می شود. در هنگام سرما یا گرمای شدید، هنگام طوفان، تاریکی و یا کدورت آب به ماهی هاغذا نمی دهند چون در این مواقع اشتهای مناسبی ندارند (مالکوم، ۱۳۸۰).

۷-۳-۱- مدیریت بهداشتی پرورش ماهیان در قفس

با توجه به شرایط ویژه پرورش ماهی در قفس و تاثیر عوامل محیطی در این سیستم پرورشی، اتخاذ روشهای مدیریت بهداشتی ویژه ای جهت کنترل عوامل بیماریزا و درنتیجه کاهش تلفات و تولید ماهیان سالم ضروری می باشد. در سیستم پرورش در قفس با توجه به تراکم نسبتاً بالای ماهیان پرورشی و نیز عدم امکان حذف عوامل بیماریزا بدلیل وسعت نسبتاً زیاد محل استقرار قفسها در دریاچه ها و سایر منابع آبی لازم است تدابیر ویژه ای جهت مدیریت بهداشتی اتخاذ گردد که از آن جمله می توان به موارد ذیل اشاره نمود.

الف- بررسی های منظم دوره ای : این بررسی ها به منظور شناسایی بیماریهای احتمالی خصوصا بیماریهای عفونی مزمن و بیماریهای غیر عفونی مانند بیماریهای تغذیه ای، بیماریهای مدیریتی و محیطی(مانند تاثیرات سوء ناشی از تغییرات فاکتورهای فیزیکی وشیمیایی آب، جراحات ناشی از انواع دستکاریها ، آسیب های ناشی از برخورد با تور قفسها، حمله حیوانات شکارچی، مسمومیتهای خفیف با انواع سموم) و نیز شناسایی ماهیان به ظاهر سالم اما حامل انواع عوامل بیماریزا و در نهایت تعیین سیاست های پیشگیری و درمان بیماریهای احتمالی و شناسایی و حذف عوامل ایجاد کننده استرس در ماهیان انجام می پذیرند. این بررسی ها شامل: بررسی و نمونه برداری قبل از انتقال به قفس، مشاهدات روزانه و نمونه برداری های ماهانه خواهد بود.

ب- شناسایی عوامل بیماریزای موجود در محل پرورش : قبل از استقرار قفسهای پرورشی ضمن بررسی سوابق بیماریهای ماهیان موجود در منطقه و شناسایی میزبانهای واسط انتقال دهنده عوامل بیماریزا می توان نسبت به اعمال مدیریت بهداشتی جهت پیشگیری از بیماریهای موجود در منطقه اقدام نمود.

ج- پیشگیری :

با توجه به نوع سیستم پرورشی، پیشگیری از بروز بیماریها در ماهیان موجود درقفسها به دو شکل عمومی و اختصاصی صورت خواهدگرفت. در پیشگیری عمومی، مقاومت ماهیان در مقابل برخی ازعوامل بیماریزا قبل از معرفی به قفسها با استفاده از محرکهای سیستم ایمنی مانند پروبیوتیک ها تقویت خواهد شد. همچنین در این روش می توان بصورت دوره ای با استفاده از مواد ضدعفونی کننده عمومی در محلی غیر از قفسها (وان های فایبرگلاس) نسبت به ضدعفونی ماهیان پرورشی اقدام می گردد. پیشگیری اختصاصی بمنظور جلوگیری از ظهور و گسترش بیماریهای خاص مانند بیماریهای موجود در منطقه صورت می گیرد. در این حالت همزمان با شروع دوره فعالیت عوامل بیماریزای شناسایی شده در منطقه نسبت به ضدعفونی اختصاصی ماهیان پرورشی بر

علیه عوامل بیماریزا اقدام می گردد. همچنین با مشاهده علائم ظهور بیماری بلافاصله پس از تشخیص نوع عامل بیماریزا نسبت به ضدعفونی کلیه ماهیان موجود در قفسهای پرورشی اقدام می گردد (مالکوم، ۱۳۸۰).

د- درمان :

در پرورش ماهیان در قفس، امکان درمان ماهیان بیمار در قفسها ممکن نبوده و این امر در خارج از قفسها (وانهای فایبر گلاس) صورت می گیرد.

۸-۳-۱- مروری بر منابع

در ارتباط با شناسائی عوامل بیماریزای باکتریائی وقارچی در تخم، لارو و بچه ماهیان خاویاری می توان به مواردی در این خصوص اشاره نمود: در مطالعات صورت پذیرفته توسط Brun و همکاران در سال ۱۹۹۱ باکتریهای یرسینیا راکری[8]، ویبریو آنگوئیلاروم[9] و فلکسی باکتر کولومناریس[10] و نیز توسط Lartseva در سال ۱۹۹۲ باکتریهای آئروموناس ، انتروباکتریاسه ها[11] وسودوموناس ها[12] جداسازی گردید. Czeczuga و همکاران در سال ۱۹۹۵ قارچهایی چون ساپرولگنیا[13] ، آچلیا[14] ، آلومایسس[15] و لپتولگنیا[16] را از تاسماهیان جداسازی نمودند.در ایران سادات اخوی (۱۳۷۲) قارچهای ساپرولگنیا پارازیتیکا ، موکور[17] ، فوزاریوم[18] ، کلادو سپوریوم[19] و انواع گونه های آسپرژیلوس را از تخم تاسماهیان جدا نمود. بر اساس بررسی صورت پذیرفته توسط خلخال (۱۳۷۹) از مراحل مختلف تکثیر تاسماهیان قارچهایی نظیرآسپرژیلوس نایجر[20] ، آسپرژیلوس فلاووس[21] ، فوزاریوم ، پنی سیلیوم[22] و آلترناریا[23] جداسازی گردید . مطابق مطالعات صورت پذیرفته توسط شناور وهمکاران (۸۰ - ۷۹) از بچه ماهیان خاویاری باکتریهایی چون موراکسلا[24] ، کلبسیلا[25] ، اسینه توباکتر[26] ، آئروموناس ، یرسینیا ، سودوموناس و قارچهایی چون فوزاریوم ، پنی سیلیوم ، رایزوپوس[27] و

[8] Yersinia ruckeri
[9] Vibrio anguillaram
[10] Flexibacter columnaris
[11] Entrobacteriacea
[12] Pseudomunasea
[13] Saprolegnia
[14] Achlia
[15] Allomyces
[16] Leptolegnia
[17] Mucor
[18] Fusarium
[19] Cladosporium
[20] *Aspergilus niger*
[21] *Aspergilus Flaveus*
[22] *Penicilliium*
[23] *Alternaria*
[24] Moraxella
[25] Klebsiella
[26] Acinetobacter
[27] Raizopus

آسپرژیلوس جداسازی شد. سفلائی در سال ۱۳۷۸ از بچه ماهیان خاویاری باکتریهایی نظیر آئروموناس ، سودوموناس ، کلبسیلا و یرسینیا را جدا نمود.در ارتباط با آلودگیهای انگلی ماهیان مذکور بر اساس مطالعات ، Raikova (1984) Dogiel & Bykhovskiy (1939) انگلهایی نظیر تریکودینا[۲۸] ، آمفیلینا فولیاسه آ[۲۹] ، بوتریوسفالوس[۳۰] ، نیتشیا[۳۱] ، کوکولانوس اسفروسفالوس[۳۲] ، کورینوزوما استروموزوم[۳۳] مورد شناسایی قرار گرفت . همچنین بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط مخیر (۱۳۵۲) انگلهایی چون پلی پودیوم هیدروفوروم[۳۴] ، سودو تراکلیاستس[۳۵] ، نیتشیا استوریونیس[۳۶] ، کوکولانوس اسفروسفالوساز تاسماهیان جدا گردید. در سال ۱۳۶۴ رحمانی انگل آمفیلینا فولیاسه آ را از غدد تناسلی ماهیان خاویاری جدا نمود. بر اساس مطالعات پورغلام (۱۳۷۲) انگل پلی پودیوم هیدروفوروم از تخم ماهیان خاویاری جدا گردید. مطالعات غروقی(۱۳۷۳) از وجود انگلهایی چون اسکریا بینوپسولوس سمی آرماتوس[۳۷] ، اوبوتریوم آسپنزرینوم[۳۸] و کوکولانوس اسفروسفالوس در مولدین قره برون و فیل ماهی حکایت دارد. همچنین بر اساس مطالعات ستاری (۱۳۷۸) انگلهایی چون کوکولانوس اسفروسفالوس ، کورینوروما استروموزوم و اوبوتریوم آسپنزرینوم از تاسماهیان جداسازی گردید. همچنین نیاک وهمکاران (۱۳۴۹) مطالعاتی بر روی تریکودینا در ماهیان خاویاری انجام دادند . در زمینه شناسائی فون انگلی بچه ماهیان خاویاری مطالعات انجام شده توسط مخیر (۱۳۵۹) ، غروقی (۱۳۷۵) ، و شناور ماسوله و همکاران (۸۳ - ۷۹) از وجود انگلهای دیپلوستوموم اسپاته سئوم[۳۹] ، تریکودینا ، ژیروداکتیلوس[۴۰] در بچه ماهیان خاویاری حکایت دارد. شناور و همکاران (۱۳۸۸) هفت گونه انگل به نامهای: کوکولانوس اسفرو سفالوس ، اسکریابینوپسولوس سمی آرماتوس ، لپتورینکوئیدس پلاژی سفالوس[۴۱] و اوبوتریوم آسیپنزرینوم ، نیشیا استوریونیس، دیپلوزئون[۴۲] و دیکلوبوتریوم آرماتوم[۴۳] از مولدین تاسماهی ایرانی جداسازی و مورد شناسایی قراردادند و در بررسی بچه تاسماهیان ایرانی در استخرهای خاکی نیز انگلهای دیپلوستوموم اسپاتاسه اوم و تریکودینا رتیکولاتا[۴۴] را گزارش نمودند. گزارش مربوط به ویروس ها در ماهیان خاویاری بسیار محدود است ویروس های عمده بیماریزا در ماهیان خاویاری(Sturgeon) شامل:

---

[28] Trichodina
[29] Amphilina foliacea
[30] Bothriocephalus
[31] Nitzschia
[32] *Cuculanus sphaerocephalus*
[33] Corynosoma strumosum
[34] Polypodium hydriforme
[35] *Pseudotracheliastes*
[36] *Nitzschia sturionis*
[37] *Skrjabinopsolus semiarmatus*
[38] *Eubothrium acipenserinum*
[39] *Diplostomum spathaceum*
[40] gyrodactilus
[41] *Leptorhynchoides plagicephalus*
[42] *Diplozoon* sp.
[43] *Diclobothrium armatum*
[44] *Trichodina reticulata*

۱- ایریدوویروس ماهیان خاویاری سفید[45] (WSIV)

۲- هرپس ویروس تیپ ۱ ماهیان خاویاری سفید[46] (WSHV1)

۳- هرپس ویروس تیپ ۲ ماهیان خاویاری سفید[47] (WSHV2)

۴- ایریدوویروس ماهیان خاویاری شولنوز[48] (SSIV)

۵- سایر ویروس ها که شامل آدنوویروس ماهیان خاویاری سفید[49]، ویروس نکروز عفونی بافت های خونساز[50] (IHNV) و نوداویروس عامل بیماری نکروز عصبی ویروسی[51] (VNN)

ایریدوویروس ماهیان خاویاری سفید(WSIV) تمایل به بافتهای اپیتلیال[52] مانند پوست، آبشش و قسمت های بالایی دستگاه گوارش دارد. بیماری و مرگ و میر بیشتر در ماهیان خاویاری سن کمتر از ۱۲ ماه رخ می دهد. بالاتر از ۹۵٪ موارد مرگ و میر تجمعی در هچری و ماهیان درگیر عفونت ثانویه با انگل های خارجی و باکتری گزارش شده است که اغلب منجر به مرگ و میر کلی شده اند. منبع ویروس به نظر می رسد که ماهیان وحشی که به عنوان مولد در شرایط اسارت نگهداری می شوند باشند(Hedrick et al.,1990). امروزه WSIV به عنوان پاتوژن اصلی در مرگ و میر ماهیان خاویاری سفید در شمال آمریکا و ماهیان خاویاری روسی، چالباش(*Acipenser gueldenstaedtii*) می باشد. با توجه به وجود چالباش در آبهای دریای خزر بررسی این بیماری در این پروژه ضروری به نظر می رسد. انتقال این ویروس از طریق افقی(از آب) و در شرایط آزمایشگاهی ثابت گردیده است(Hedrick et al., 1992).

Georgiadis در سال ۲۰۰۱ گزارش نمود که این ویروس احتمالاً به صورت عمودی از مولد به نسل بعد انتقال می یابد در حالیکه انتقال تانک به تانک راه غالب گسترش این ویروس نیست اما ویروس هرگز از ماهیان بزرگ جداسازی نشده است. دمای آب در تکثیر ویروس نقش مهمی دارد به طوریکه در دمای ۲۰-۱۵ درجه سانتیگراد تکثیر خوبی دارند و خارج از این محدوده دمایی تکثیر ویروس کم یا متوقف می شود(Watson *et al*., 1998). در سال ۱۹۹۱، Hedrick اولین گزارش WSHV را که باعث عفونت شدید در سلولهای پوششی و موکوسی دهان و حلق شده بود یعنی عکس اپیتلیوتروف(بافت سطحی پوست) ارائه نمود. این ویروس ماهیان با سن کمتر از ۶ ماه را درگیر می کند و نشانه های کلینیکی خارجی قابل شناسایی وجود ندارد و ماهیان همچنان تا زمان مرگ به غذا خوردن ادامه می دهند (Hedrick et al., 1991).

---

[45] White sturgeon iridovirus
[46] White sturgeon herpesvirus1
[47] White sturgeon herpesvirus 2
[48] Shovelnose sturgeon iridovirus
[49] White sturgeon adenovirus
[50] infectious hematopoietic necrosis virus
[51] Viral Nervouse Necrosis
[52] .Epitheliotropic

هرپس ویروس تیپ ۲ ماهیان خاویاری سفید (WSHV2) نیز اولین بار از مایعات تخمدانی یک ماهی خاویاری بالغ جداسازی شد و بعدها نیز به عنوان یک عامل مرگ و میر در ماهیان خاویاری سفید جوان نیز مشخص گردید(Watson et al., 1995).

در ماهیان خاویاری سفید وحشی و پرورشی و تاسماهی ترانس مونتاننوس در آمریکای شمالی و ایتالیا ایجاد بیماری می کند. ماهیان بیمار علایمی همچون ضایعات کمرنگ روی سطح بدن، عدم تعادل، کاهش هوشیاری و شنای نامتعادل را نشان می دهند. مرگ و میر در ماهیان بالغ کمتر از ۱۰ ٪ می باشد در شرایط آزمایشگاهی نیز در گونه های Pallid و Shovelnose هم بیماری ایجاد شد. WSHV-2 در ماهیان خاویاری بزرگتر با ایجاد آبسه های سفید کوچک روی سطح بدن آشکار می گردد که این ضایعات خیلی از اوقات منجر به عفونت ثانویه با باکتریها و انگل ها می گردد(Mao et al., 1999، Hua and Wang 2005 ، Plumb and Hanson 2011). Shchelkunov و همکاران(۲۰۰۹) یک نوع شبه هرپس ویروس

(SbSHV) را از تخم و لارو ماهیان بستر و تاسماهی سیبری بر روی تیره های سلولی SSF-2 ، SSO-2 و WSSK-1 جدا کردند.

در سال ۲۰۰۱، Macconnell و همکاران یک ایریدوویروس (SSIV) را در مزرعه پرورش ماهیان خاویاری Pallid(Scaphirhynchus albus) و Shovelnose sturgeon(S. scaphirhynchus) گزارش نمودند. نشانه های کلینیکی ایریدوویروس در ماهیان خاویاری سفید، بی اشتهایی و ضایعه پوستی بود که در Pallid و Shovelnose که با ایریدوویروس جدید درگیر شده بودند دیده نشد. این ویروس یک پاتوژن جدید ویروسی بود که شباهت به WSIV داشت که در ماهیان خاویاری رودخانه میسوری شناسایی شده بود داشت و بنابراین آنرا ایریدوویروس ماهیان خاویاری شولنوز(SSIV) نامیدند. ماهیان مبتلا لاغر بودند و عفونت قارچی در پوزه و آبشش آنها مشاهده شده بود.

سایر ویروسهای ماهیان خاویاری

آدنوویروس ماهیان خاویاری سفید از سطوح موکوسی و دستگاه گوارش را در ماهیان جوان درگیر می کند. در سالهای ۱۹۸۴ تا ۱۹۸۶ گزارش شد(Hedrick et al., 1985) اما هیچ گزارشی از این ویروس تاکنون وجود ندارد. ویروس نکروز عفونی بافت های خونساز که توسط Lapatra و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش شد و مشخص گردید که ماهیان خاویاری سفید می توانند حامل ویروس IHN باشند ولی گزارشی مبنی بر مرگ و میر و عفونت ماهیان توسط این ویروس وجود ندارد.

ذریه زهرا و همکاران در سال ۱۳۹۲ در مواجهه سوپرناتانت سلول SSN-1 دارای CPE نوداویروس عامل بیماری نکروز عصبی ویروسی(VNN) جداشده از کفال طلائی و بررسی امکان انتقال آن به گونه های دیگر، با ماهیان گوپی و بچه ماهیان قره برون علاوه بر بروز علایم بالینی، واکوئولاسیون شدید در مغز و شبکیه چشم را نیزمشاهده نمود.

۲ - مواد و روش کار

در این طرح، ۳۰۰۰ عدد فیل ماهی پرورشی، قبل و پس از انتقال آنها به قفس از تاریخ ۹۰/۳/۱۶ الی ۹۰/۱۰/۲۰ به مدت ۷ ماه مورد بررسی قرار گرفت. قفس شناور دریایی از نوع SCD از جنس پلی اتیلن به قطر ۲۰متر و ارتفاع ۸ متر و در فاصله ۷۰۰۰ متری ساحل و در عمق ۵۰ متری دریا در منطقه جفرود شهرستان بندر انزلی مستقر بوده. تعداد نمونه های مورد بررسی قبل از انتقال بچه ماهیان به قفس بر اساس استانداردهای بین المللی OIE انجام شد. نمونه برداری جهت انجام مطالعات بهداشتی و شناسایی بیماریهای احتمالی پس از انتقال بچه ماهیان به قفس های پرورشی نیز هر ماه یکبار طی دوره پرورش (۵ ماه) در دریا انجام گرفت .

شکل۲-۱ : ساختار و نحوه استقرار قفس های مدور پلی اتیلنی در دریا

شکل۲-۲ : نحوه صید ماهیان بوسیله تور پره جهت نمونه برداری و بررسی

شکل۲-۳ : ماهیان صید شده بوسیله تور پره جهت زیست سنجی و بررسی های بهداشتی

شکل۲-۴ : زیست سنجی ماهیان پرورشی

شکل ۲-۵ : بررسی های ظاهری و ثبت علائم کلینیکی احتمالی ماهیان پرورشی

شکل ۲-۶ انتقال ماهیان به آزمایشگاه

۲-۱- وسایل مورد نیاز

۲-۱-۱- فهرست مواد و وسایل مصرفی

محیط های کشت پایه TSA.TSB,SDA ، مولر هیلتون آگار و گلوکز، تریپتون، عصاره مخمر، کلرید سدیم، پپتون مرک و... انواع معرف های بیوشیمیایی مانند معرف های اکسیداز، کاتالاز. اتانول مرک، پلیت های یکبار مصرف، کیت رنگ آمیزی گرم، رنگ لاکتوفنل کاتن بلو، کیت تشخص باکتری API 20E، ست آنتی بیوگرام، سرنگ (انسولین، ۱ccو ۲cc) ، چوبک، ظروف نمونه برداری یک بار مصرف، هپارین، و سر سمپلر ۱۰۰و۱۰۰۰ میکرولیتر، دستکش لاتکس، ماسک، فرمالین، محلول بوئن.

۲-۱-۲: مواد و لوازم غیر مصرفی

سبد حمل و نقل، کپسول اکسیژن، وان فایبر گلاس ۰/۵ و ۲ تنی، پمپ های هوا و سنگ های هواده، دماسنج، اکسیژن متر وpH متر دیجیتال مدل WTW ساخت کشور آلمان، بن ماری، آون، میکروتوم مدل ۱۵۱۲ Leitz ساخت کشور آلمان با دقت ۱ میکرون، تخته بیومتری برای اندازه گیری طول بچه ماهیان با دقت ۰/۱ سانتی متر، ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم جهت توزین، هود آزمایشگاهی، اسپاچوک، سمپلر قابل تنظیم اپندورف ۱۰۰تا ۱۰۰۰ میکرولیتر، ظروف شیشه ای جهت نمونه برداری بافت، اسکالپل و تیغ ، پنس، قیچی، ساچوک.

۲-۱-۳- مطالعات انگل شناسی

بمنظور این مطالعه تعداد ۶۰ عدد فیل ماهی ۱۰۰ گرمی قبل از انتقال به قفس در دریا و نیز هر ماهه تعداد ۳۰ تا ۴۰ عدد از ماهیان موجود در قفس بصورت تصادفی انتخاب و پس از ثبت فاکتورهای زیست سنجی، نسبت به تهیه و بررسی لام مرطوب از پوست، جراحات سطحی، آبشش، چشم ، همچنین از لوله گوارشی و اندامهای

داخلی(۳ عدد ماهی) جهت شناسایی انگل های احتمالی با استفاده از روشهای میکروسکوپیک و ماکروسکوپیک اقدام گردید. بررسی های انگل شناسی بر اساس روش های Stoskope (1993) انجام شد.

۴-۱-۲- مطالعات باکتری شناسی

ماهیان پس از انتقال به آزمایشگاه زیست سنجی شده و پس از ضدعفونی سطح شکمی ماهیان با الکل ۷۰ درصد ، در شرایط استریل اقدام به باز کردن شکم ماهی گردید و اندام های داخلی مورد بررسی و مشاهده قرار گرفت. جهت برداشت نمونه با رعایت موارد استریل، با کمک آنس استریل از کلیه و کبد نمونه گیری شد و کشت بر روی محیط های کشت باکتریایی TSB[۵۳]و TSA [۵۴] انجام گرفت. پس از انجام کشت اولیه و انکوباسیون، در محیط هایی که پرگنه های باکتری رشد نمودند اقدام به کشت ایزولاسیون و خالص سازی پرگنه ها گردید، بدینگونه که با توجه به رنگ، اندازه و خصوصیات مورفولوژی پرگنه ها، در برخی از محیط های کشت که رشد باکتری وجود داشت یک نوع پرگنه باکتری و در برخی دو یا چند نوع تشخیص داده شد که اقدام به کشت جداگانه هر نوع از پرگنه ها با روش کشت ایزولاسیون و بدست آوردن پرگنه خالص (تک) برای جدا سازی گونه های باکتری گردید.

همچنین جهت تعیین شمارش باکتریایی از پوست و آبشش ۱ سانتی متر مربع از بافت های مذکور وسیله اسکالپل و قیچی استریل جدا گردید و پس از انتقال به سرم فیزیولوژی و تهیه رقت های مورد نظر ، ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت برروی محیط کشت TSA به صورت سطحی کشت انجام شد. پلیت ها در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳-۵ روز مورد ارزیابی قرار می گیرند. پس از تعیین تعداد باکتریها بر اساس CFU اقدام به خالص سازی باکتریها گردید و سپس جهت شناسایی علاوه بر استفاده از روشهای شناسایی استاندارد باکتریها (Holt., 1994) از کیت تشخیصی API 20E (مخصوص باکتری های گرم منفی) استفاده شد. این روشها شامل رنگ آمیزی گرم و مشاهده زیر میکروسکوپ که باکتریها مورد بررسی مورفولوژیکی قرار گرفته سپس با انجام آزمایشهای اکسیداز، کاتالاز ، تحرک، اکسیداسیون و احیاء ، اندول، آزمایشهای دکربوکسیله کننده شامل آرژنین، لیزین، اورنتین و آزمایشهای هیدرولیز کننده مثل اسکولین و ... انجام شد کلیه مراحل فوق برای کشت آب پرورشی نیز انجام شد (Holt, 1994 & Austin, 1993& Baron, 1990& Collee, 1989& Soltani, 1998)

همچنین به منظور تعیین حساسیت باکتریهای جداسازی شده از کلیه به انواع آنتی بیوتیک های مورد استفاده از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. در این روش از سویه های باکتریایی جدا شده، سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند[1] cfu ml ۱۰۸×۱/۵ تهیه و سپس با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد.سپس دیسک های حاوی آنتی بیوتیک در غلظت های

[1]. Tryptic soy Broth
[2] . Tryptic soy Agar

مشخص را با فاصله معین از یکدیگر روی سطح محیط کشت حاوی باکتریها قرار داده و پلیت ها به انکوباتورها منتقل می گردند. پس از گذشت مدت زمان انکوبه شدن با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ها نتایج حاصل با نتایج تستهای آنتی بیوگرام مقایسه می گردید.

۵-۱-۲- مطالعات قارچ شناسی

این بررسی با نمونه برداری تصادفی از بچه ماهیان خاویاری و آب پرورشی ، قبل و پس از انتقال به قفس پرورشی به صورت ماهانه انجام شد. پس از ثبت مشخصات، نمونه ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند. درآزمایشگاه و در شرایط استریل قطعه ای از پوست و آبشش (۱ سانتی متر مربع) به وسیله اسکالپل و قیچی استریل جدا شده و ۳ تا ۵ بار بوسیله آب مقطر استریل شستشو داده شدند. جهت شمارش کلی (تعداد کلنی در میلی لیتر=CFU) پس از تهیه محلول سوسپانسیون رقیق سازی (۰/۱، ۰/۰۱) در لوله های آزمایش استریل انجام گردید. ۰/۵ میلی لیتر از رقت های بدست آمده و همچنین آب پرورشی توسط پیپت استریل بر روی محیط های کشت SDA[55] حاوی کلرامفنیکل ۱٪ و جنتامایسین ۸۰ میلی گرم کشت داده شدند. پلیتهای کشت شده (از هر رقت دو کشت) به مدت ۷۲-۴۸ ساعت به منظور شمارش کلی و ۵ – ۳ روز به منظور رشد کامل پرگنه های قارچی در دمای ^{0C} ۲۵ انکوبه شدند. شمارش قارچ ها بر اساس میانگین حسابی دو شمارش که در ضریب رقت ضرب شده محاسبه گردید. همچنین به منظور جداسازی و شناسائی قارچ ساپرولگینا پوسته تخم و قطعاتی به ابعاد ۳- ۲ میلی متر از پوست و آبشش پس از شستشو با آب مقطر استریل و به منظور القا و ایجاد زئوسپور در لوله های آزمایش درب دار حاوی آب مقطر استریل و آنتی بیوتیک پس از ۲ – ۱ روز گرمخانه گذاری در دمای ۱۵ – ۱۰ درجه سانتیگراد، به محیط GP حاوی آنتی بیوتیک تلقیح و در حرارت ۱۷ – ۱۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از رشد کلنی در کشت اولیه (معمولا پس از ۴۸ – ۲۴ ساعت) و خالص سازی در محیط SDA و تهیه لام و رنگ آمیزی، توسط میکروسکوپ مورد بررسی و بر اساس کلید های شناسایی و ساختار اسپورانژیوم شناسائی شدند. به منظور شناسایی قارچ های ساپروفیت، پس از رشد پرگنه های قارچی، در مرحله نخست خالص سازی صورت گرفته و در پاساژ دوم اسلاید کالچر تهیه گردید ، پس از تشکیل ساختمان اسپورزائی، بوسیله یک قطره الکل متیلیک نمونه تثبیت شده و بوسیله رنگ لاکتوفنل کاتن بلو رنگ آمیزی گردید. پس از این مراحل قارچ ها بر اساس ساختار میسیلیوم و اندامهای زایشی بوسیله میکروسکوپ معمولی و با بزرگنمائی × ۱۰ و ×۴۰ مورد بررسی و شناسائی قرار گرفتند. کلیه مطالعات قارچ شناسی بر اساس شیوه های Willoughby (1994) و شریف پور (۱۳۸۵) انجام پذیرفت.

[55] . Saboard dsextrose Agar

۶-۱-۲- مطالعات هماتولوژی و سرولوژی

خون گیری با استفاده از سرنگ های cc ۵، از طریق سیاهرگ دمی (caudal vein) و از پشت باله مخرجی انجام شد. در هر مرحله مقدار ۳cc خون از ماهیان دریافت و جهت انجام مطالعات سرولوژی به آزمایشگاه خون شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو منتقل گردید. هر نمونه خون به دو ویال مجزا (یکی جهت بررسی سلول های خونی و دیگری جهت بررسی فاکتور های سرمی خون) منتقل گردید. قبل از خون گیری یک قطره هپارین برای جلوگیری از انعقاد خون به سرنگ ها اضافه شد. برای جلوگیری از فساد خون های گرفته شده تا رسیدن به آزمایشگاه نمونه ها را در یخچال نگهداری شدند. پس از انتقال لوله های آزمایش دردار حاوی cc ۳ خون به آزمایشگاه، جدا سازی سرم از سلول های خونی توسط سانتریفوژ (مدل ۲۰۰ Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatech، ساخت آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور انجام گرفت. سپس با استفاده از پیپت پاستور، سرم به ظروف اپندورف های شماره گذاری شده و با مشخصات کامل منتقل و تا زمان سنجش پارامترهای مورد نظر در دمای ^{oC} ۲۰- نگهداری شدند (Pottinger & Carrick, 2001).

تشخیص افتراقی گلبول سفید:

جهت شمارش افتراقی یاخته های سفید خون بلافاصله پس از خون گیری قطره کوچکی از خون روی لام آزمایشگاهی قرار داده می شود و با روش دو لامی با زاویه ۴۵ درجه گسترش خونی تهیه شد. پس از خشک و تثبیت گسترش خونی با الکل متانول در هوای آزاد، گسترش ها به کمک محلول رقیق شده گیمسا با غلظت ۱۰ درصد رنگ آمیزی شد. پس از رنگ آمیزی، برای هر نمونه خون از سه گسترش خونی برای شمارش افتراقی گلبول های سفید و محاسبه درصد فراوانی هر گروه از آنها (یاخته های نوتروفیل، بازوفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت) استفاده می گردد. از روش زیگزاگ جهت شمارش اسلاید ها استفاده شده و برای دقت بیشتر در محاسبات، از خون هر ماهی دو اسلاید تهیه و از هر اسلاید ۲۰۰ سلول شمارش شد (Gao *et al*., 2007).

روش تعیین پارامتر های خونی (CBC (Complet blood cell:

برای شمارش یاخته های قرمز و سفید، نمونه خون ها پس از همگن سازی به کمک پیپت ملانژور و محلول رقیق کننده رنگی ریس، رقیق می شوند (به علت تراکم بالای یاخته های خونی ماهیان) و روی لام هموسیتومتر نئوبار دو حجره ای تعداد یاخته های قرمز و یاخته های سفید در میلی متر مکعب خون برای هر نمونه در دو حجره محاسبه خواهند شد. رقت انجام شده برای یاخته های قرمز خون ۱:۲۰۰ و برای یاخته های سفید خون ۱:۲۰ خواهد بود. یاخته های قرمز با لنز ۴۰ و یاخته های سفید با لنز ۲۰ برابر میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 شمارش شدند.(Gao *et al*., 2007, Klontz, 1994).

فرمول ۲-۱: محاسبه تعداد گلبولهای قرمز Red Blood Cell

RBC (N/mm3) = (R1 + R2 + R3 + R4 + R5) ×5×10×200= R×10000

فرمول ۲-۲: محاسبه تعداد گلبولهای سفید White Blood Cell

$$WBC(N/mm3)=\frac{(W_1+W_2+W_3+W_4)\times 20\times 10}{4}=(W_1+W_2+W_3+W_4)\times 50$$

روش تعیین حجم فشرده گلبولی یا هماتوکریت

برای محاسبه درصد هماتوکریت خون، بلافاصله پس از خون گیری و پیش از لخته شدن خون، ۲/۳ حجم لوله های موئینه هپارینه با خون همگن شده پر می شوند. پس از سانتریفیوژ لوله های مویینه با میکروهماتوکریت (مدل D-78532 Tuttlingen. شرکت Hettich آلمان) با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه (Houston, 1990)، درصد هماتوکریت هر نمونه خون روی خط کش مخصوص محاسبه گردید.

روش تعیین غلظت هموگلوبین

مقدار هموگلوبین هر نمونه خون به روش کالریمتریک سیانو هموگلوبین و بوسیله محلول معرف با طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران، غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر محاسبه شد.

روش تعیین شاخص های گلبول قرمز

حجم متوسط گلبول قرمز با تقسیم درصد هماتوکریت خون بر تعداد گلبول های قرمز برحسب میلیون در میلی متر مکعب ضربدر عدد ۱۰ و بر حسب واحد فمتولیتر (fl) از رابطه ۱، غلظت متوسط هموگلوبین در یاخته قرمز با تقسیم مقدار هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر تقسیم بر تعدادیاخته های قرمز خون و برحسب میلیون در میلی متر مکعب ضربدر عدد ۱۰ بر حسب پیکو گرم (pg) از رابطه ۲ و میانگین غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز با تقسیم مقدار هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر تقسیم بر درصد هماتوکریت ضربدر عدد ۱۰۰ بر حسب درصد از رابطه ۳محاسبه گردید. (Anderson and Klontz 1965)و (Klontz,1994)

فرمول ۲-۳: حجم متوسط گلبولی Mean Corpuscular volume

$$MCV=\frac{Hematocrit}{RBC(million/mm^3)}\times 10$$

فرمول ۲-۴: محاسبه غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز Mean Corpuscular Hemoglobin

$$MCH=\frac{Hemoglobin\ \ (g/dcl)}{RBC\ (million\ /mm^3)}$$

فرمول ۲-۵: محاسبه غلظت متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

$$MCHC = \frac{Hemoglobin(g/dcl)}{Hematocrit} \times 100$$

روش تعیین مقادیر پروتئین کل

جهت تعیین پروتئین کل سرم خون از روش کالریمتریک و صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS– ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در طول موج ۵۴۰ نانومتر استفاده شد. مقدار پروتئین کل سرم خون بر حسب گرم بر دسی لیتر محاسبه گردید.

روش تعیین مقادیر آلبومین

آلبومین به روش بروموکروزول گرین (BCG) و بر اساس تشکیل ترکیب آلبومین با بروموکروزول سبز آبی انجام می شود که شدت رنگ با غلظت آلبومین متناسب می باشد. آلبومین به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری می شود. واحد سنجش آلبومین گرم در دسی لیتر می باشد.

روش تعیین مقادیر گلوکز

تعیین مقادیر گلوکز به صورت آنزیمی و کالریمتریک با روش فتومتریک صورت پذیرفت. در این آزمون آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز با فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین در مجاورت پراکسیداز تشکیل کینونمین داد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

روش تعیین مقادیر کلسترول

تعیین مقادیر کلسترول به صورت آنزیمی و کالریمتری با روش فتومتریک صورت پذیرفت. در این آزمون پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴-آمینو آنتی پرین در مجاورت پراکسیداز تشکیل کینونمین می دهد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

تعیین مقادیر تری گلیسرید

تعیین مقادیر تری گلیسرید به صورت آنزیمی و کالریمتری با روش فتومتریک انجام شد. در این آزمایش ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین لیپاز از اسیدهای چرب جدا شده، پراکسید هیدروژن از گلیسرول با ۴-آمینوآنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

روش تعیین مقادیر کلسیم سرم خون

تعیین مقادیر کلسیم به روش فتومتریک با استفاده از Cresolphthalein complexone انجام شد. در این آزمون کلسیم در محیط قلیایی با Cresolphthalein complexone تشکیل یک کمپلکس ارغوانی رنگ می دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار کلسیم در نمونه سرم خون می باشد. کلسیم تولید شده به صورت فتومتریک و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۷۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

۷-۱-۲- مطالعات آسیب شناسی بافتی

نمونه ها ی بافتی اخذ شده تا قبل از انتقال به آزمایشگاه در ظروف شیشه ای تیره حاوی بوئن نگهداری و فیکس شدند. مقاطع بافتی تهیه شده با روش هماتوکسیلین _ائوزین رنگ آمیزی شده و جهت مقایسه مورد مطالعه قرار گرفتند.

پس از تثبیت نمونه ها در محلول بوئن جهت مراحل آماده سازی بافت، مراحل آبگیری، شفاف سازی، پارافینه نمودن، قالب گیری، تهیه برش و رنگ آمیزی بشرح ذیل انجام پذیرفت (Haaparanta,1997).

۱) تثبیت نمونه ها در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت (شامل ml ۱ اسید استیک گلاسیال + ml ۱۵ اسید پیکریک + 5ml فرمالین ۳۷ درصد تجاری).

۲) پس از شستشوی بافت تثبیت شده با آب مقطر، نمونه بافت ها جهت آبگیری از الکل های ۵۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۶ درجه و الکل ۱ - بوتانل عبور داده شدند.

۳) مرحله شفاف سازی بافت از طریق عبور دو مرحله نمونه های بافتی از کلروفرم.

۴) پارافینه کردن بافت در مخلوط کلروفرم و پارافین خالص به نسبت ۱:۱در دمای ۳۷oC به مدت۱۲-۱۰ ساعت.

۵) عبور نمونه بافتها از پارافین خالص در دو مرحله به مدت یک ساعت در دمای ۵۶oC.

۶) مرحله قالب گیری بافت ها در قالبهای پر شده توسط پارافین مذاب، سپس سرد نمودن قالبها در آب معمولی جهت سفت شدن. و سوار کردن روی پایه های چوبی جهت برش

۷) تهیه برش با استفاده از دستگاه میکروتوم (Letiz مدل ۱۵۱۲ ساخت آلمان) با ضخامت ۵ الی ۷ میکرون.

۸) قراردادن در حمام آب گرم ^{oC} ۳۷ به منظور رفع چین چروکها و تهیه بافتهای صاف و مونته کردن بافت ها روی لام.

۹) رنگ آمیزی اسلایدهای بافتی با روش هماتوکسیلن - ائوزین (H&E).

۱۰) نصب لامل روی لام با استفاده از چسب بالزام به منظور شفاف سازی بافت و نگهداری طولانی مدت.

۱۱) انجام مطالعات میکروسکوپی مورد نظر و عکسبرداری با میکروسکوپ نیکون ۶۰۰ - E متصل به رایانه.

۸-۱-۲- مطالعات ویروس شناسی

مقرر گردید که در صورت مشاهده نمونه های مشکوک ترجیحاً از ماهیان دارای علایم ضعف، بیحالی، تیرگی رنگ یا دارای تورم شکمی نمونه برداری صورت گیرد. بدین منظور و جهت آماده سازی و انتقال نمونه قطعات بافتی با استفاده از لوازم تشریح استریل جدا شده و در لوله های پلاستیکی استریل حاوی محیط انتقال ویروس(VTM) (دارای ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، ۲۰۰ واحد پنی سیلین، ۲۰۰ میکروگرم استرپتومایسین در هر لیتر) قرار داده شود. روش نمونه برداری بر اساس اندازه ماهی متفاوت می باشد و در ماهیان بزرگتر از ۶ سانتی متراز کلیه، طحال، قلب نمونه برداری می شود. میزان نمونه بافتی مناسب یک گرم بوده که باید در ۱۰ cc محیط قرار داده شود. نمونه ها در زمان نمونه برداری و در تمام مدت انتقال باید در کنار یخ قرار داده شود و دمای نمونه هرگز از $^{\circ}C$ ۱۰ بالاتر نرود. بهتر است آزمایشات ویروس شناسی طی مدت ۴۸ ساعت پس از نمونه برداری انجام شود و در غیر اینصورت نمونه ها در دمای ۲۰- یا کمتر نگهداری شود.مشخصات کامل نمونه شامل تاریخ نمونه برداری، نوع ماهی و اندام نمونه برداری شده ذکر گردد. بهتر است نمونه ها قبل از آزمایش فقط یکبار فریز شده باشد و فریز و دفریز شدن بیشتر منجر به کاهش احتمال جداسازی ویروس خواهد شد.

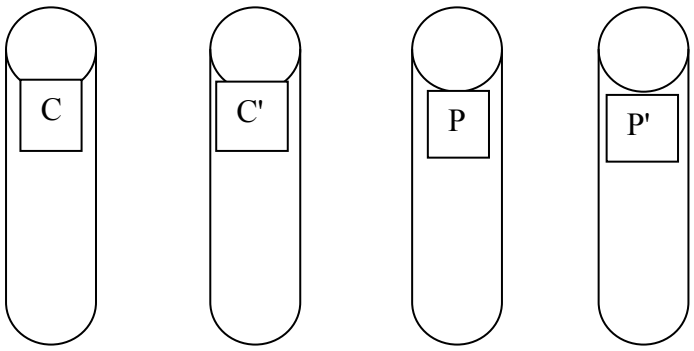
نمونه برداری عوامل ویروسی VHSV ، IHNV و IPNV

ارگان های مناسب جهت نمونه برداری شامل کلیه، طحال، قلب و مایعات تخمدانی در مولدین در فصل تولید مثل می باشد و مقاطعی از آبشش، کلیه، طحال و قلب در داخل فرمالین ۱۰٪ جهت انجام آزمایشات پاتولوژی قرار داده شده و پس از۲۴ ساعت تعویض فرمالین صورت پذیرد. توجه شود که بافت کبد در صورت لزوم به صورت جداگانه نمونه برداری گردد و با سایر اندامها مجاور نباشد.

نمونه برداری ایریدوویروس ماهیان خاویاری

از اندامهای آبشش، پوست اطراف لب و باله ها نمونه برداری شده و در داخل محیط انتقال ویروس و در کنار یخ در اسرع وقت به آزمایشگاه انتقال داده شود و مقاطعی از آبشش، لب، سر و باله در داخل فرمالین ۱۰٪ جهت انجام آزمایشات پاتولوژی قرار داده شده و پس از۲۴ ساعت تعویض فرمالین صورت پذیرد.

توصیه می شود از هر نمونه یک تکرار هم تهیه گردد.



C = نمونه کشت سلولی و مولکولی

C' = تکرار نمونه کشت سلولی و مولکولی

P = نمونه فرمالینه

P' = تکرار نمونه فرمالینه

در این بررسی در هر مرحله از نمونه برداری قطعات بافتی از ماهیان کالبد گشایی شده (۲ تا ۳ عدد ماهی) طبق روشهای مذکور اخذ و و جهت بررسی های بعدی در آزمایشگاه نگهداری گردید.

۹-۱-۲- روش های آماری

کلیه داده های به دست آمده توسط نرم افزارهای آماری Excel 2007 و Spss 20 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور بررسی توزیع نرمال داده ها در گروه ها و تکرار ها جهت تشکیل تیمار ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. به منظور مقایسه میزان شمارش کلی باکتری ها در فاز قبل و پس از انتقال به قفس و همچنین مقایسه میزان شمارش کلی باکتری ها در پوست، آبشش، آب و فاکتور های خونشناسی از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (Oneway anova) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد.

همچنین جهت مقایسه مقادیر فاکتور های خونشناسی در ماهیان آب شیرین و در قفس ۲ از آزمون Independent Samples T- Test **استفاده شده است.**

۳- نتایج

۳-۱- بررسی بچه فیل ماهیان پرورشی قبل از انتقال به قفس

بمنظور این مطالعه در مورخه ۹۰/۳/۱۶ تعداد ۶۰ عدد فیل ماهی با میانگین وزنی ۳۸/۲۷± ۷۸/۳۴ گرمی و میانگین طول ۵/۰۶±۲۷/۶۴ قبل از انتقال به قفس در دریا بصورت تصادفی از حوضچه های بتنی مرکز شادروان یوسف پور انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه بهداشت و بیماری های انستیتو توسط تانکر مجهز به کپسول اکسیژن، پس از ثبت فاکتورهای زیست سنجی و بررسی های لازم اقدامات ذیل به عمل آمد:

۳-۱-۱- بررسی های ظاهری

در بررسی های ظاهری و مشاهدات ماکروسکوپیک از بچه فیل ماهیان پرورشی در مرکز شادروان دکتر یوسف پور و قبل از معرفی به قفس تعداد ۱۰۰ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند که هیچگونه علائم خونریزی و ضایعه در پلاکهای استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن مشاهده نگردید. کلیه ماهیان مورد بررسی دارای رنگ و ظاهری طبیعی بودند. همچنین در بررسی های ظاهری ۲ درصد (۲ عدد) از ماهیان مورد مطالعه دارای ناهنجاری در باله های سینه ای بودند.

۳-۱-۲- مطالعات انگل شناسی

بمنظور انجام مطالعات انگل شناسی قبل از معرفی به قفس تعداد ۶۰ عدد فیل ماهی مورد بررسی قرار گرفتند. بر این اساس نمونه برداری از چشم، آبشش، پوست و امعاء احشاء انجام گرفته و مطالعات میکروسکوپی صورت پذیرفت. نتایج حاکی از مشاهده انگل *Trichodina*. Sp در آبشش و پوست بوده که میزان شیوع این انگل ۴۰ درصد و میانگین شدت آن ۱/۷۱± ۲۰ عدد بود. در سایر اندامهای مورد مطالعه نیز انگلی مشاهده نشد.

۳-۱-۳ : مطالعات باکتری شناسی

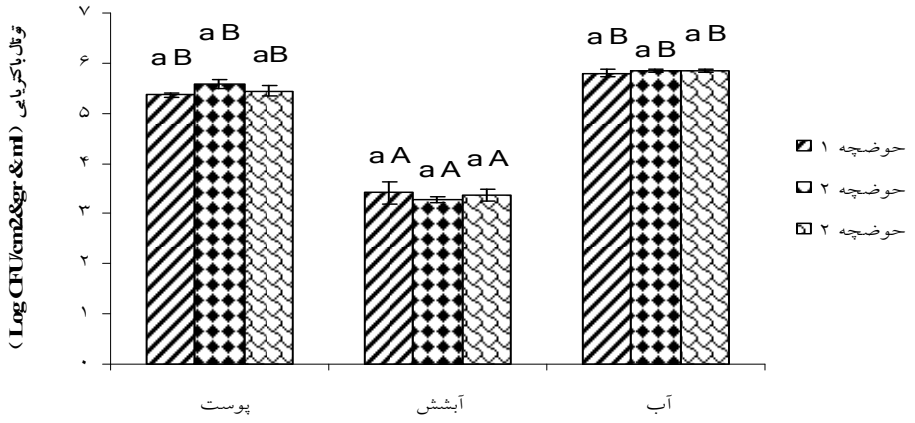
شمارش باکتریایی آب در حوضچه های بتنی مرکز $Log\ cfu\ ml^{-1}$ ۰/۰۷۸ ±۵/۸۲ تعیین گردید. همچنین میانگین شمارش باکتریایی آبشش ماهیان مورد بررسی $Log\ cfu\ gr^{-1}$ ۰/۲۲ ±۳/۳۵ و میانگین شمارش باکتریایی پوست ماهیان مورد بررسی $Log\ cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۰/۱۶ ±۵/۴۶ تعیین گردید. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) به منظور مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی درآب، آبشش و پوست بچه ماهیان در سه محل نمونه برداری اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$). اما میزان شمارش باکتریایی آبشش به طور معنی داری کمتر از میزان شمارش باکتریایی پوست و آب پرورشی بوده است ($p<0.05$).

جدول ۳-۱: مقاسیه میانگین لگاریتم شمارش باکتری‌ها در پوست ، آبشش و آب پرورشی قبل از معرفی بچه ماهیان به قفس

مکان نمونه	حوضچه ۱	حوضچه ۲	حوضچه ۳
پوست	۵/۳۶±۰/۰۹۷ ^{aB}	۵/۵۸±۰/۱۵ ^{aB}	۵/۴۴±۰/۱۹ ^{aB}
آبشش	۳/۴۱±۰/۳۶ ^{aA}	۳/۲۸±۰/۱۱ ^{aA}	۳/۳۶±۰/۲۱ ^{aA}
آب	۵/۸۰± ۰/۱۳ ^{aB}	۵/۸۳± ۰/۰۵۴ ^{aB}	۵/۸۴±۰/۰۵۶ ^{aB}

حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

حروف غیر همنام لاتین بزرگ در ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.



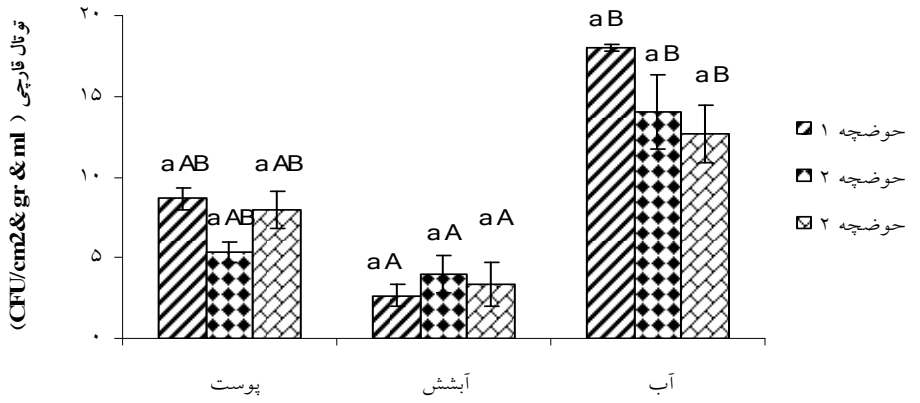
نمودار ۳-۱: مقایسه شمارش باکتریایی آب ، آبشش و پوست در حوضچه های پرورشی

۴-۱-۳- مطالعات قارچ شناسی

میانگین شمارش قارچی آب پرورشی در حوضچه های بتنی مرکز $^{-1}$ ml ۲/۷۸ ±۱۳/۵۵تعیین گردید. همچنین میانگین شمارش قارچی آبشش ماهیان مورد بررسی $^{-1}$ cfu gr ۳/۳۳ ±۱/۷۳ و میانگین شمارش قارچی پوست ماهیان مورد بررسی $^{-1}$ (cm^2) cfu ۷/۳۳ ±۲ تعیین گردید. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) به منظور مقایسه میانگین شمارش کل قارچی درآب، آبشش و پوست بچه ماهیان در سه محل نمونه برداری اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$). اما میزان شمارش قارچی در آبشش به طور معنی داری کمتر از میزان شمارش باکتریایی پوست و آب پرورشی بوده است ($p<0.05$).

جدول ۳-۲: مقاسیه میانگین شمارش کل قارچی در پوست، آبشش و آب قبل از معرفی بچه ماهیان به قفس

مکان نمونه	حوضچه ۱	حوضچه ۲	حوضچه ۳
پوست (cfu/cm)	۸/۶۶±۱/۱۵ a AB	۵/۳۳±۱/۱۵ a AB	۸±۲ a AB
آبشش(cfu/gr)	۲/۶۶±۱/۵۳ a A	۴±۲ a A	۳/۳۶±۰۲/۳۰ a A
آب (cfu/ml)	۱۸± ۵/۲۹ a B	۱۴±۴ a B	۱۲/۶۶±۳/۰۵ a B



نمودار ۳-۲: مقایسه میانگین شمارش کل قارچی آب پرورشی، آبشش و پوست در حوضچه های پرورشی

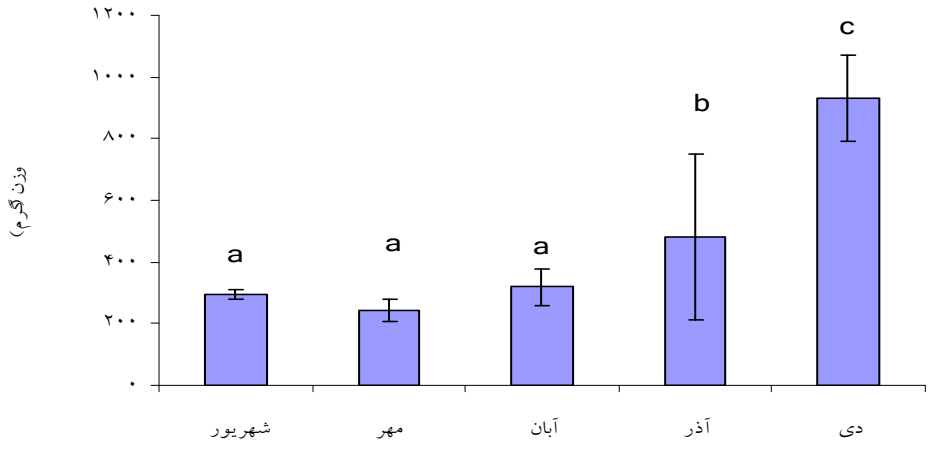
۲-۳- بررسی بچه فیلماهیان پرورشی پس از انتقال به قفس

بمنظور این مطالعه در هر مرحله از نمونه برداری پس از صید، به صورت تصادفی تعداد ۳۰ تا ۴۰ عدد ماهی به شکل ظاهری بررسی شدند و در صورت مشاهده علائم بیماری و سایر موارد مشکوک نسبت به ثبت علائم مذکور اقدام گردید. همچنین جهت بررسی های آزمایشگاهی، ۳ عدد فیل ماهی بصورت تصادفی انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه بهداشت و بیماری های انستیتو توسط تانک مجهز به کپسول اکسیژن، نسبت به ثبت فاکتورهای زیست سنجی و بررسی های لازم اقدامات ذیل انجام پذیرفت :

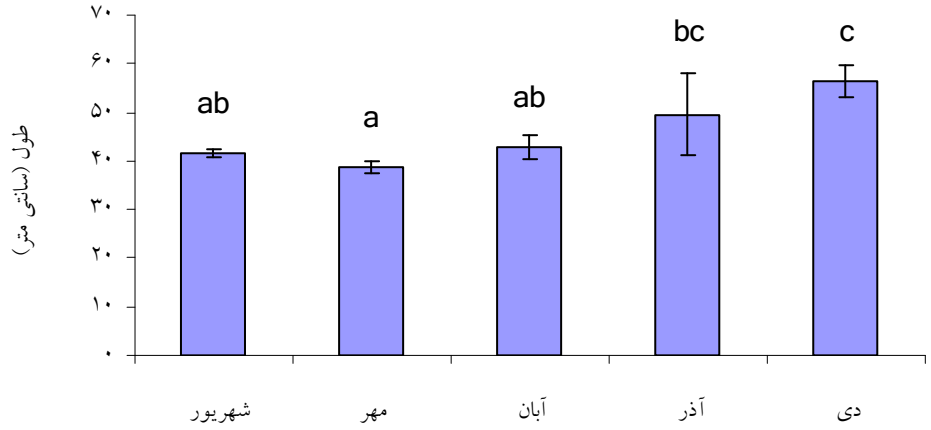
جدول ۳-۳: مقاسیه میانگین وزن و طول بچه ماهیان طی دوره پرورش در قفس

ماه	طول (سانتی متر)	وزن (گرم)
شهریور	۴۱/۶۴±۰/۸۸ ab	۲۹۴±۱۴/۵۱ a
مهر	۳۸/۷±۱/۴۱ a	۲۴۳±۳۸/۵۵ a
آبان	۴۲/۸۳±۲/۴۵ ab	۳۱۹±۶۱/۰۱ a
آذر	۴۹/۵±۸/۵۰ bc	۴۸۰±۲۷۰ b
دی	۵۶/۴±۳/۳۲ c	۹۳۰/۶۶±۱۴۱/۲۰ c

*حروف غیر همنام لاتین در ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.



نمودار ۳-۳: مقاسیه میانگین وزن بچه ماهیان طی دوره پرورش در قفس



نمودار ۳-۴ : مقاسیه میانگین طول بچه ماهیان طی دوره پرورش در قفس

۱-۲-۳- مطالعات باکتری شناسی

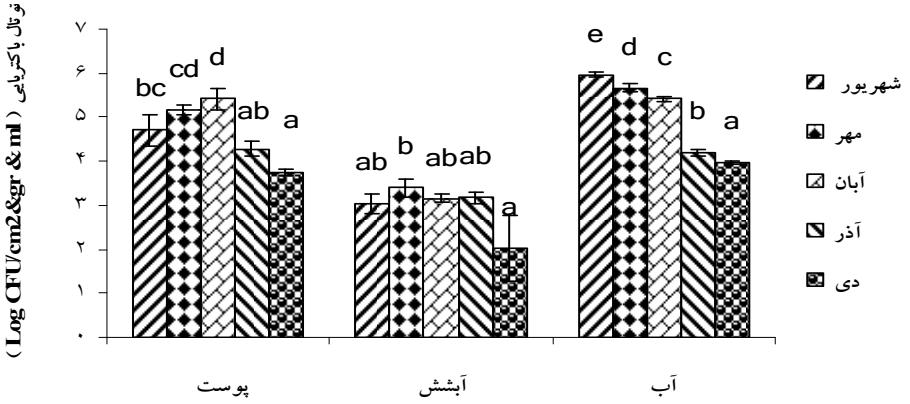
بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) به منظور مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی در آب ، پوست و آبشش بچه ماهیان پس از معرفی به قفس دریا در ماه های شهریور تا دی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). در این ارتباط و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن، میانگین شمارش کل باکتریایی در در ماه های مورد بررسی روند کاهشی داشته است و در دی ماه در آب ، پوست و آبشش از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی داری با میزان میانگین شمارش باکتریایی ماه های شهریور ، مهر و آبان مشاهده شده است ($p<0.05$) (جدول ۱ نمودار ۴).

جدول۳-۴: میزان شمارش کل باکتریایی در آب، پوست و آبشش ماهیان در ماه های مختلف

زمان / نمونه	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی
پوست	۵/۹۲±۰/۰۹۰ $^{c\,C}$	۵/۶۶±۰/۱۷ $^{b\,B}$	۵/۴۱±۰/۱۰ $^{b\,B}$	۴/۱۹±۰/۱۳ $^{a\,B}$	۳/۹۷±۰/۰۶۹ $^{a\,B}$
آبشش	۴/۷۰±۰/۵۸ $^{abc\,B}$	۵/۱۶±۰/۲۰ $^{bc\,B}$	۵/۴۱±۰/۴۱ $^{c\,B}$	۴/۲۷±۰/۲۸ $^{ab\,B}$	۳/۷۴±۰/۱۱ $^{a\,B}$
آب	۳/۰۲±۰/۳۷ ^{bA}	۳/۴۰±۰/۳۶ $^{b\,A}$	۳/۱۵±۰/۱۶ $^{b\,A}$	۳/۱۶±۰/۲۲ $^{b\,A}$	۲/۰۱±۱/۷۴ $^{a\,A}$

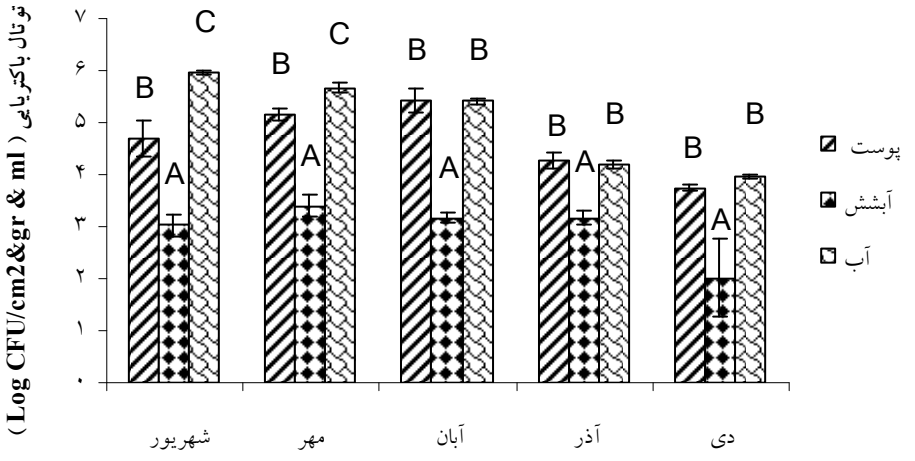
حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

حروف غیر همنام لاتین بزرگ در ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.



نمودار ۳-۵: مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی آب ، آبشش و پوست طی دوره بررسی در قفس دریا

همچنین در مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی در آب دریا با پوست و آبشش بچه ماهیان پس از معرفی به قفس دریا بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). در این ارتباط و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن، میانگین شمارش کل باکتریایی در کلیه ماه ها به ترتیب در آب و پوست بیش از آبشش بوده ($p<0.05$) (جدول ۳-۴ و نمودار ۳-۶).



نمودار ۳-۶: مقایسه میانگین شمارش کل باکتریایی آب ، آبشش و پوست در قفس دریا

از نظر درصد فراوانی باکتریها در حوضچه های بتنی و قبل از معرفی به قفس در محیط دریا از ۵ ایزوله جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی بیشترین فراوانی مربوط به جنس Enterobacteriaceae با ۳۷/۵ درصد و کمترین فراوانی مربوط به *Aeromonas* sp ، *Acinetobacter* sp و *Staphylococcus* با ۱۲/۵ درصد بود. همچنین در آب پرورشی از ۶ ایزوله بیشترین فراوانی مربوط به مربوط به جنس Enterobacteriaceae با ۵۰ درصد و کمترین آن مربوط به *Aeromonas* sp و *Pseodomonas* sp با ۷/۱۴ درصد بوده است. در این ارتباط و بر اساس نتایج حاصل از تعیین فراوانی باکتری های جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی در قفس دریا از ۶ ایزوله جداسازی شده *Pseodomonas luteola* و *Acinetobacter baumanni* با ۲۳/۵۳ درصد دارای بیشترین فراوانی و *Acinetobacter caloacetiicus* با ۵/۸۸ درصد از کمترین فراوانی برخوردار بود.همچنین در آب محیط دریا از ۸ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراوانی مربوط به جنس *Halomunas sp* با ۳۱/۸۱ درصد و کمترین آن مربوط به Enterobacteriaceae و *Pseodomonas luteola* با ۴/۵۵ درصد بوده است (جدول ۳-۵) .

جدول ۳- ۵: فلور باکتریایی جداسازی شده از آب پرورشی و ماهی قبل و پس از معرفی به قفس

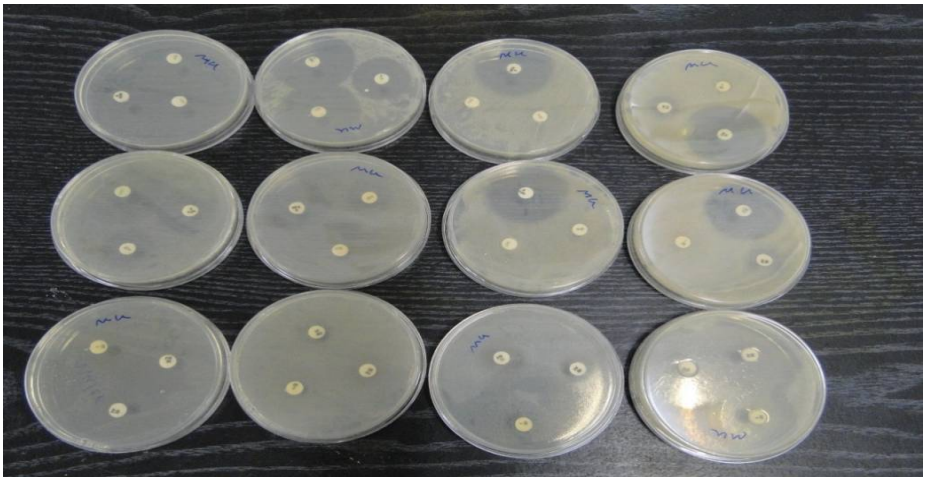
گونه های باکتریایی	ماهی		آب پرورشی		ماهی		آب دریا	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Enterobacteriaceae	۳	۳۷/۵	۷	۵۰	۲	۱۱/۷۶	۱	۴/۵۵
Aeromonas	۱	۱۲/۵	۱	۷/۱۴	-	-	-	-
Pseodomonas sp.	۲	۲۵	۱	۷/۱۴	۳	۱۷/۶۵	۲	۹/۰۹
Pseodomonas luteola	-	–	-	–	۴	۲۳/۵۳	۱	۴/۵۵
Pseodomonas fluorecenns	-	–	-	–	۳	۱۷/۶۵	۲	۹/۰۹
Acinetobacter	۱	۱۲/۵	۲	۱۴/۲۹	-	-	-	-
Acinetobacter baumanni	-	–	-	–	۴	۲۳/۵۳	۱	۴/۵۵
Acinetobacter caloaceticus	-	–	-	–	۱	۵/۸۸	۲	۹/۰۹
Staphylococcus	۱	۱۲/۵	۳	۲۱/۴۳	-	-	-	-
Halomonas sp.	-	-	-	-	-	-	۷	۳۱/۸۱
Shewanella sp.	-	-	-	-	-	-	۶	۲۷/۲۷
جمع کل	**۸**	**۱۰۰**	**۱۴**	**۱۰۰**	**۱۷**	**۱۰۰**	**۲۲**	**۱۰۰**

۲-۲-۳- نتایج آنتی بیوگرام

در کشتهای باکتریایی انجام شده از پوست ، کلیه و کبد باکتری های *Pseodomonas luteola* ، *Acinetobacter baumanni*، *Acinetobacter caloacetiicus* جداسازی گردید که نتایج آنتی بیوگرام (بر حسب میلیمتر) در جدول ۳-۶ آمده است.

جدول ۳-۶ – نتایج آنتی بیوگرام باکتری های جداسازی شده از جراحات پوستی، کلیه و کبد به (قطر هاله به میلیمتر)

باکتری نوع آنتی بیوتیک	***Pseodomonas luteola***	***Acinetobacter baumanni***	***Acinetobacter caloacetiicus***
فلوموکوئین	۲۰	۳۵	۳۵
سلفومتوپریم	–	۲۵	۲۵
فلور فنیکل	–	۱۰	۱
اینروفلوکسازین	۳۰	۴۰	۴۰
اکسی تتراسایکلین	۱۵	۱۵	۱۵
اریترو مایسین	–	۱۰	۱۰



شکل ۳-۱: نتایج آنتی بیوگرام

۳-۲-۳: مطالعات قارچ شناسی :

بچه فیل ماهیان مورد بررسی فاقد هرگونه علائم قارچ زدگی بر روی پوست، امعاء و احشاء و آبشش بودند.

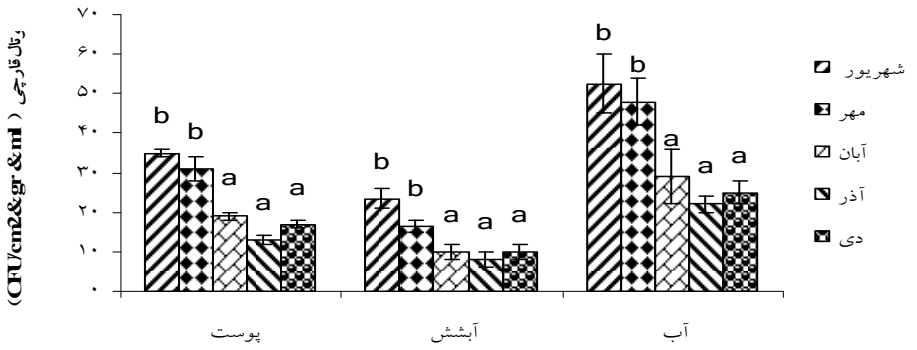
بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) به منظور مقایسه میانگین شمارش کل قارچی در آب،پوست و آبشش بچه ماهیان پس از معرفی به قفس دریا در ماه های شهریور تا دی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). در این ارتباط و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن، میانگین شمارش کل قارچی در ماه های مورد بررسی روند کاهشی داشته است و در ماه های آبان، آذر و دی ماه در آب ، پوست و آبشش از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی داری را با میانگین شمارش کل قارچی در ماه های شهریور و مهر نشان داده است ($p<0.05$) (جدول ۳-۷ نمودار ۳-۷).

جدول۳-۷ : مقایسه میانگین شمارش قارچی در آب، پوست و آبشش ماهیان در ماه های مختلف

زمان / نمونه	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی
آب (cfu/ml)	۵۲/۵ ±۱۰/۶ $^{b\,C}$	۴۸±۸/۴۸ $^{b\,C}$	۲۹±۹/۸۹ $^{a\,C}$	۲۲±۲/۸۲ $^{a\,C}$	۲۵±۴/۲۴ $^{a\,C}$
پوست (cfu/cm)	۳۵/۵±۱/۴۱ $^{b\,B}$	۳۱±۴/۲۴ $^{b\,B}$	۱۹±۱/۳۸ $^{a\,B}$	۱۳±۱/۴۲ $^{a\,B}$	۱۷/۲۴۱±۰/۱۱ $^{a\,B}$
آبشش(cfu/gr)	۲۳/۵±۳/۵۳ $^{b\,A}$	۱۶/۵±۲/۱۲ $^{b\,A}$	۱۰±۲/۸۲ $^{a\,A}$	۸±۲/۲۴ $^{a\,A}$	۱۰±۱/۴۱ $^{a\,A}$

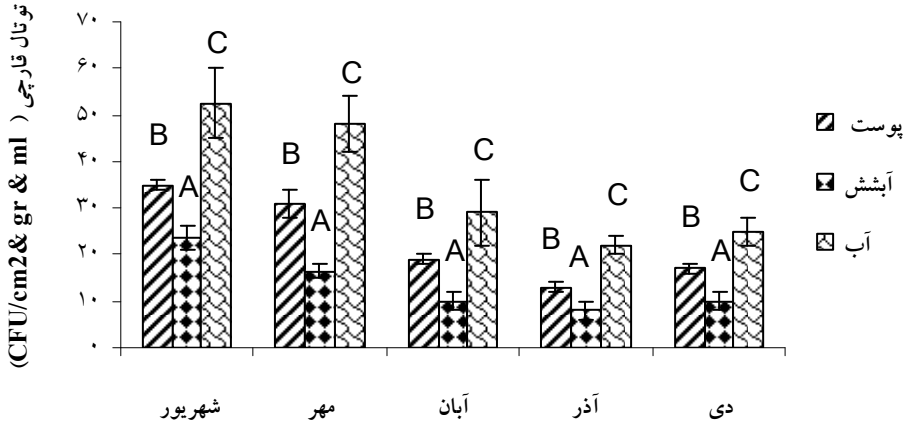
حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

حروف غیر همنام لاتین بزرگ در ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد .



نمودار ۳- ۷: مقایسه میانگین شمارش کل قارچی آب ، آبشش و پوست طی دوره بررسی در قفس دریا

همچنین در مقایسه میانگین شمارش کل قارچی در آب با پوست و آبشش بچه ماهیان پس از معرفی به قفس دریایی بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). در این ارتباط و بر اساس آزمون چند دامنه دانکن، میانگین شمارش کل قارچی در کلیه ماه ها به ترتیب در آب و پوست بیش از آبشش بوده ($p<0.05$) (جدول ۳-۷ نمودار ۳-۸).



نمودار ۳-۸: مقایسه میانگین شمارش کل قارچی آب ، آبشش و پوست در قفس دریایی

بر اساس نتایج بدست آمده نوع، تعداد و فراوانی قارچها بترتیب در ماهی و و آب پرورشی قبل و پس از معرفی به قفس در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج درصد فراوانی قارچها در حوضچه های بتنی و قبل از معرفی به قفس در محیط دریا از ۵ ایزوله جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی بیشترین فراوانی مربوط به جنس *Penicillium* spp. با ۵۵/۵۶ درصد و کمترین فراوانی مربوط به *Aspergilus niger* و *Mucor* spp. با ۳/۷ درصد بود. همچنین در آب از ۶ ایزوله بیشترین فراوانی مربوط به جنس *Penicillium* spp. با ۵۰ درصد و کمترین آن مربوط به *Aspergilus flaveus* با ۵ درصد بوده است.در این ارتباط و بر اساس نتایج حاصل از تعیین

فراوانی قارچ های جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی در قفس دریا از ۴ ایزوله جداسازی شده *Penicillium* spp. با ۸۱/۸۱ درصد دارای بیشترین فراوانی و *Aspergilus niger* و مخمر با ۴/۵۵ درصد از کمترین فراوانی برخوردار بود.همچنین در آب پرورشی محیط دریا از ۸ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراوانی مربوط به جنس *Penicillium* spp. با ۵۹/۴۶ درصد و کمترین آن مربوط به *Cladosporium* sp با ۲/۷۱ درصد بوده است(جدول۳-۸)

.

جدول ۳- ۸: فلور قارچی جداسازی شده از آب و ماهی قبل و پس از معرفی به قفس دریایی

گونه های قارچی	ماهی		آب پرورشی		ماهی		آب دریا	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Cladosporium sp.	۸	۲۹/۶۳	۳	۷/۵	۲	۹/۰۹	۱	۲/۷۱
Penicillium spp.	۱۵	۵۵/۵۶	۲۰	۵۰	۱۸	۸۱/۸۱	۲۲	۵۹/۴۶
Mucor spp.	۱	۳/۷	۳	۷/۵	–	–	–	–
Yeasts	۰	۰	۰	۰	۱	۴/۵۵	–	–
Aspergilus fumigatus	۲	۷/۴	۳	۷/۵	–	–	–	–
Aspergilus niger	۱	۳/۷۱	۹	۲۲/۵	۱	۴/۵۵	۱۴	۳۷/۸۳
Aspergilus flavous	–	–	۲	۵	–	–	–	–
جمع کل	**۲۷**	**۱۰۰**	**۴۰**	**۱۰۰**	**۲۲**	**۱۰۰**	**۳۷**	**۱۰۰**

۴-۲-۳- خونریزی و جراحات پوستی

از تعداد ۲۰۰ عدد ماهی بررسی شده در مدت ۵ ماه بررسی، ۲۵ نمونه (۱۰/۴۱ ٪) دارای علائم خونریزی در محل پلاک های استخوانی بوده اند. در این ارتباط علاوه بر مطالعات باکتری شناسی نمونه های هیستوپاتولوژی اخذ و اقدامات لازم در خصوص شناسایی عامل احتمالی انجام گردید.

جدول۳-۹ : میزان فراوانی جراحات پوستی بچه فیل ماهیان در قفس از تعداد ۴۰ عدد نمونه مورد بررسی در هر مرحله

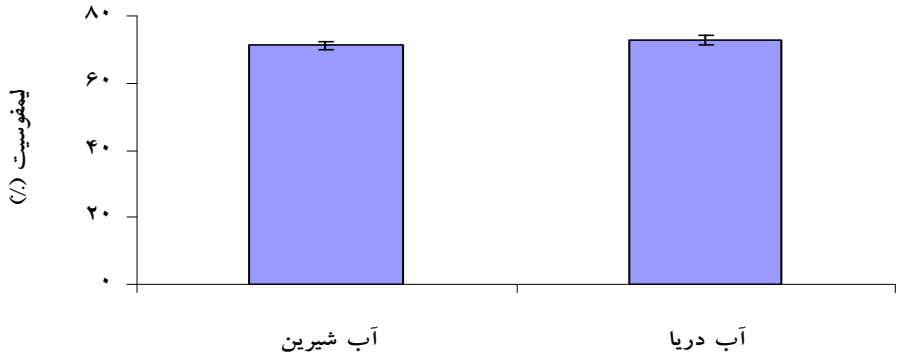
زمان	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	کل
تعداد	۵	۳	۴	۶	۷	۲۵
فراوانی (درصد)	۲/۰۸	۱/۲۵	۱/۶۷	۲/۵	۲/۹۲	۱۰/۴۱

شکل ۳-۲: نمای ظاهری زخم در پلاکهای شکمی ماهیان خاویاری

۵-۲-۳- مطالعات خون شناسی

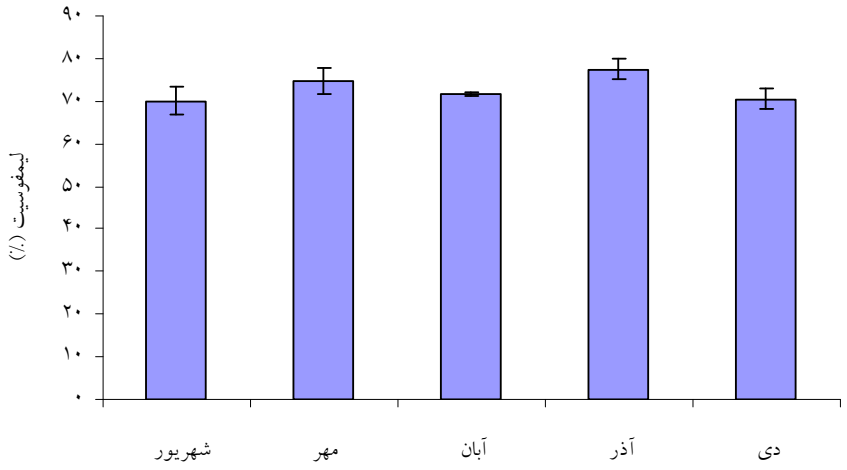
لیمفوسیت

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان لیمفوسیت خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۹ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۹ : مقایسه میانگین لیمفوسیت خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

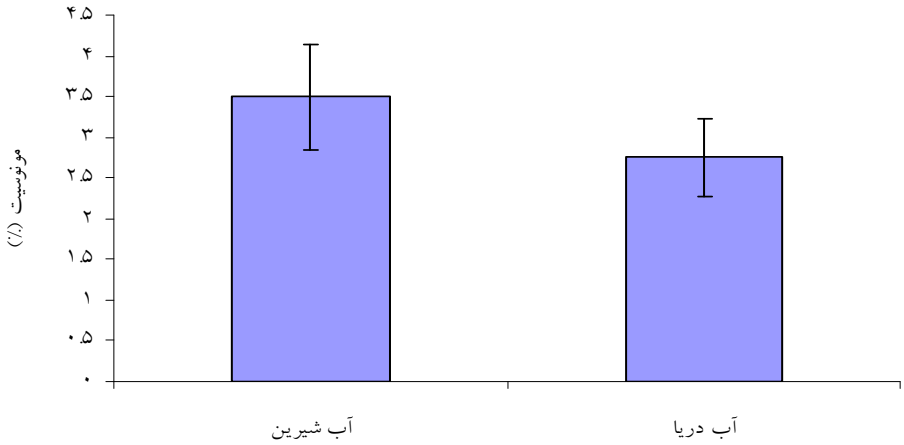
همچنین طبق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (به منظور مقایسه میزان لیمفوسیت در خون بچه ماهیان بین در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۰ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۱۰ : مقایسه میانگین لیمفوسیت خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

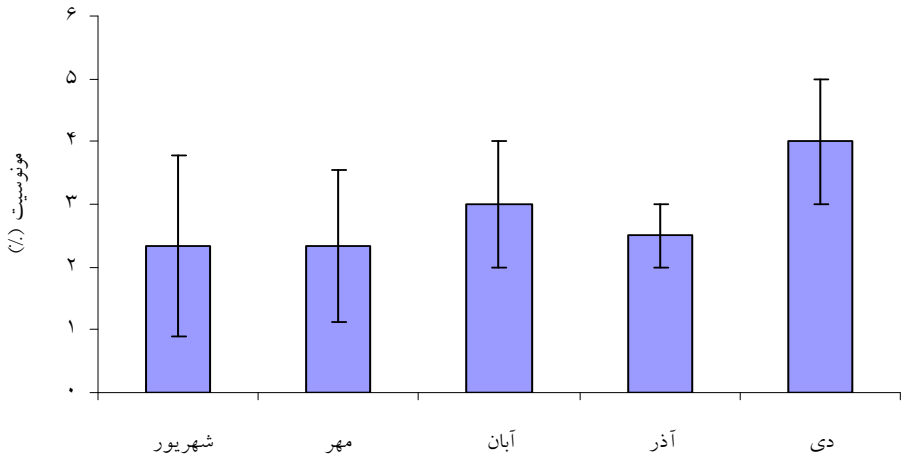
مونوسیت

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان مونوسیت خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۱ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۱۱ : مقایسه میانگین مونوسیت خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

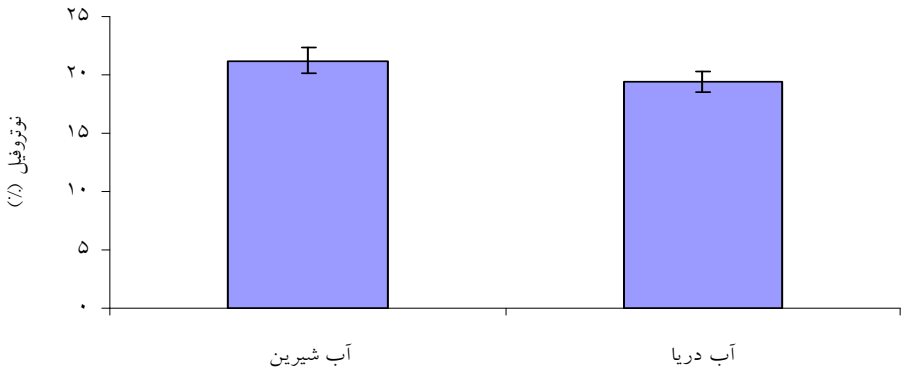
همچنین طبق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (به منظور مقایسه میزان مونوسیت در خون بچه ماهیان در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۲ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۱۲ : مقایسه میانگین مونوسیت خون ماهیان طی ۵ ماه بررسی در قفس دریایی

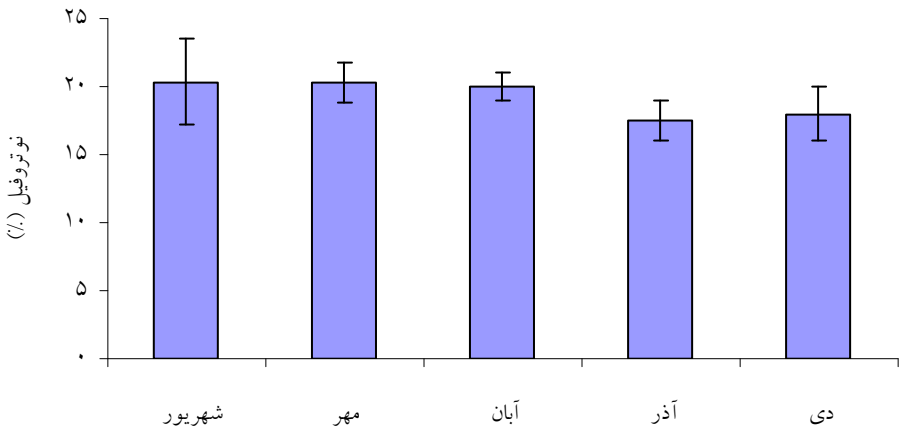
نوتروفیل

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان نوتروفیل خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۳ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۱۳ : مقایسه میانگین نوتروفیل خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

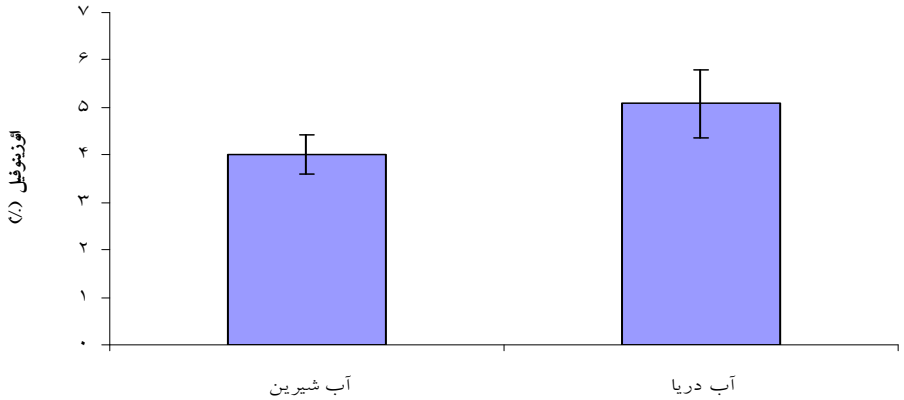
همچنین طبق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان نوتروفیل در خون بچه ماهیان در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۴ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۱۴ : مقایسه میانگین نوتروفیل ماهیان پرورشی در قفس دریایی

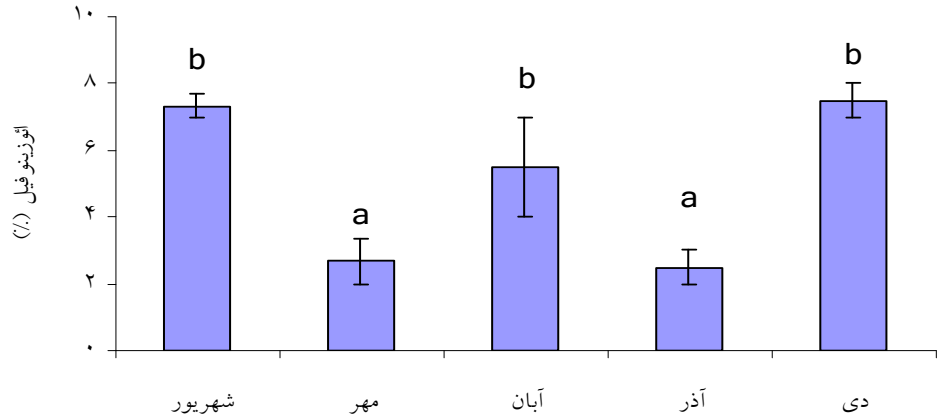
ائوزینوفیل

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان ائوزینوفیل خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۵ و جدول ۳-۱۰).



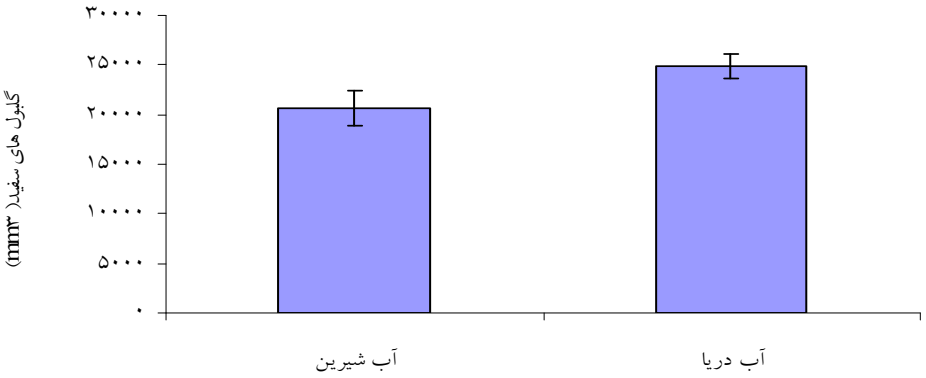
نمودار ۳-۱۵ : مقایسه میانگین ائوزینوفیل خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

همچنین طبق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان ائوزینوفیل در خون بچه ماهیان در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان ائوزینوفیل خون بچه ماهیان در ماه های شهریور، آبان و دی افزایش معنی داری نسبت به مهر و آذر نشان داده اشت ($p<0.05$) (نمودار ۳-۱۶ و جدول ۳-۱۱).



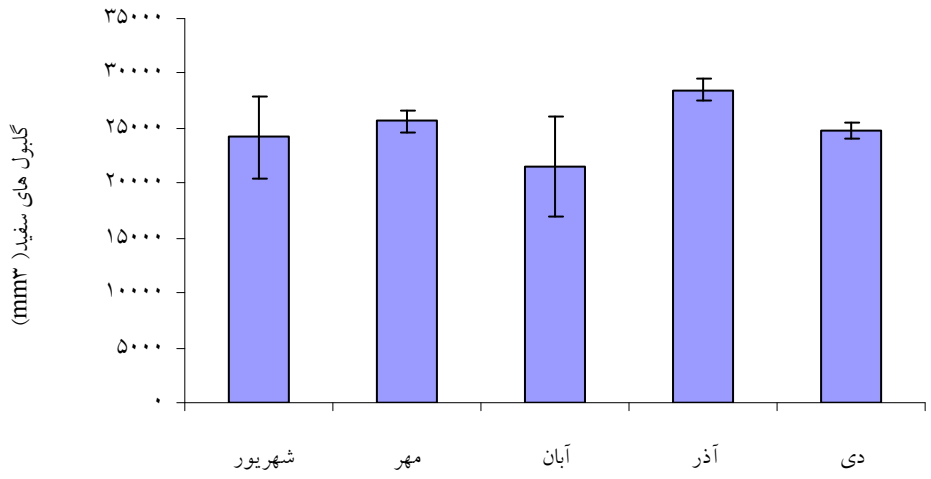
نمودار ۳-۱۶ : مقایسه میانگین ائوزینوفیل ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان گلبول های سفید خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۷ و جدول ۳-۱۰).



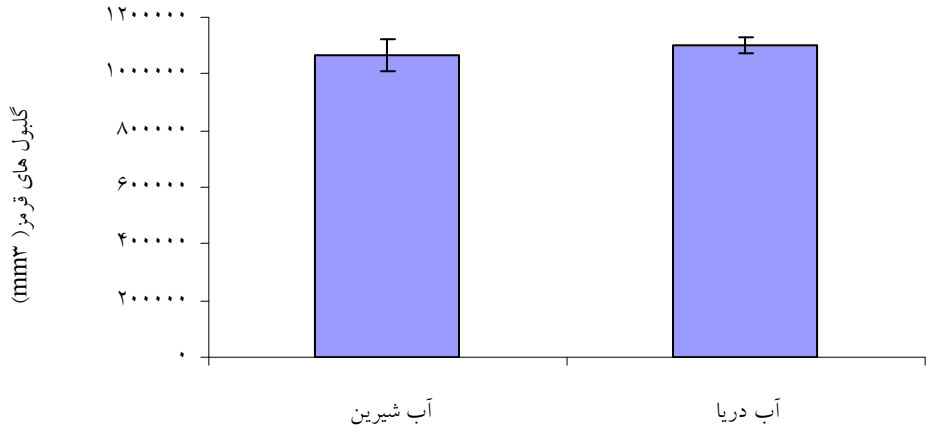
نمودار ۳-۱۷ : مقایسه میانگین گلبول های سفید خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان گلبول های سفید در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۸ و جدول ۳-۱۱).



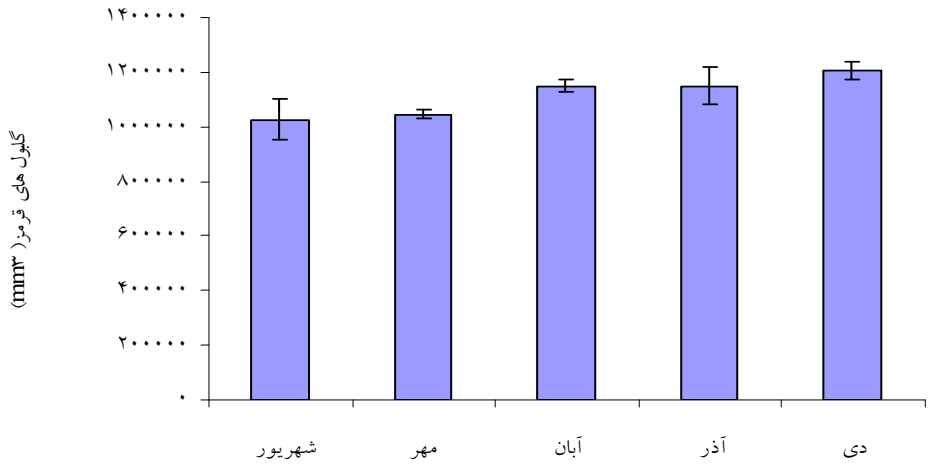
نمودار ۳-۱۸ : مقایسه میانگین گلبول های سفید ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان گلبول های قرمز خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۱۹ و جدول ۳-۱۰).



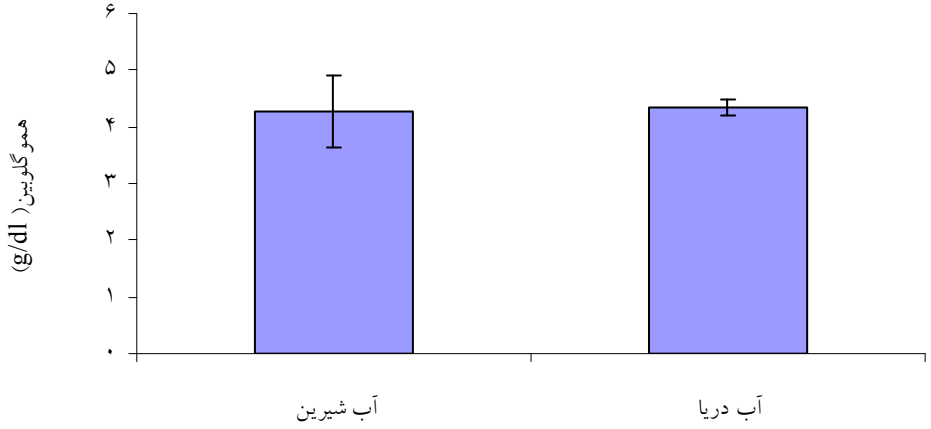
نمودار ۳-۱۹ : مقایسه میانگین گلبول های قرمز خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان گلبول های قرمز در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$). (نمودار ۳-۲۰ و جدول ۳-۱۱).



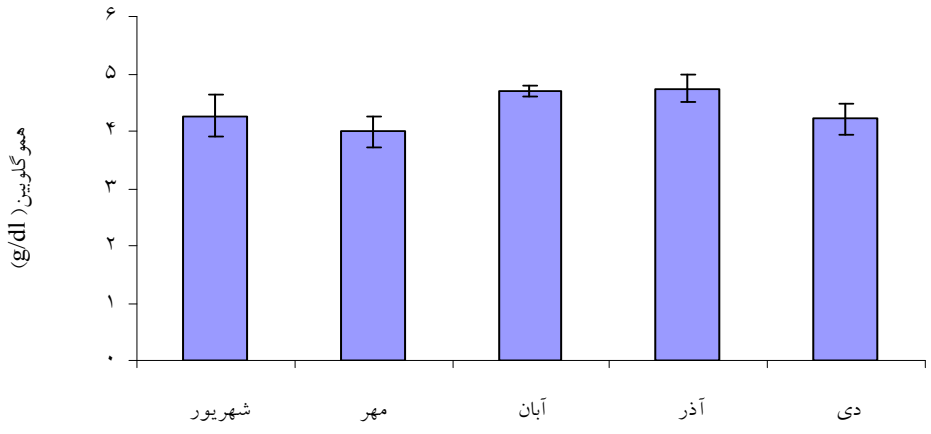
نمودار ۳-۲۰ : مقایسه میانگین گلبول های قرمز ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان هموگلوبین خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۱ و جدول ۳-۱۰).



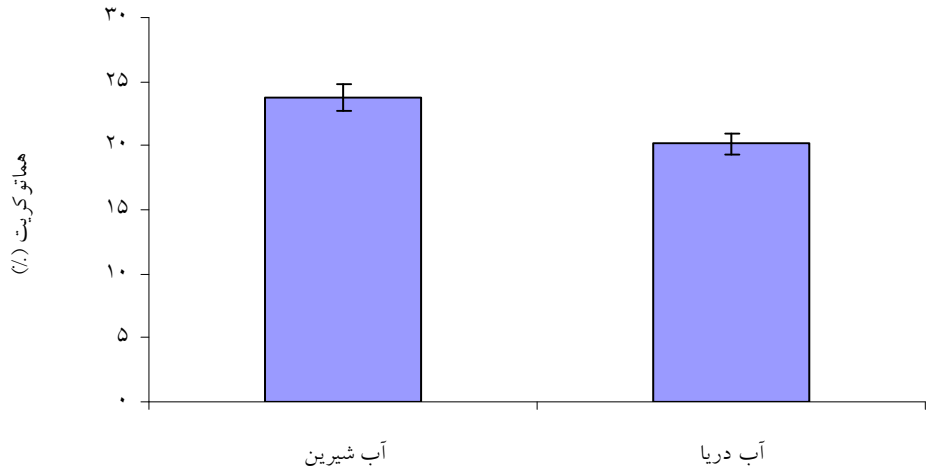
نمودار ۳-۲۱ : مقایسه میانگین هموگلوبین خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان هموگلوبین در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۲ و جدول۳-۱۱).



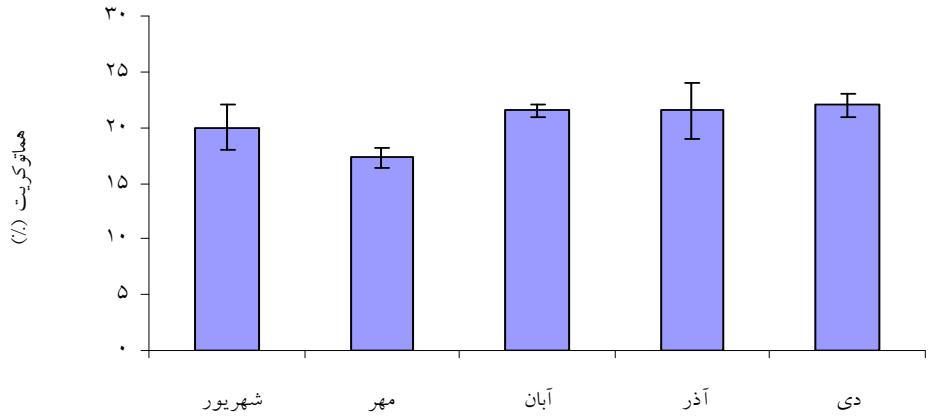
نمودار ۳-۲۲ : مقایسه میانگین هموگلوبین خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه درصد هماتوکریت خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۲ و جدول ۳-۱۰).



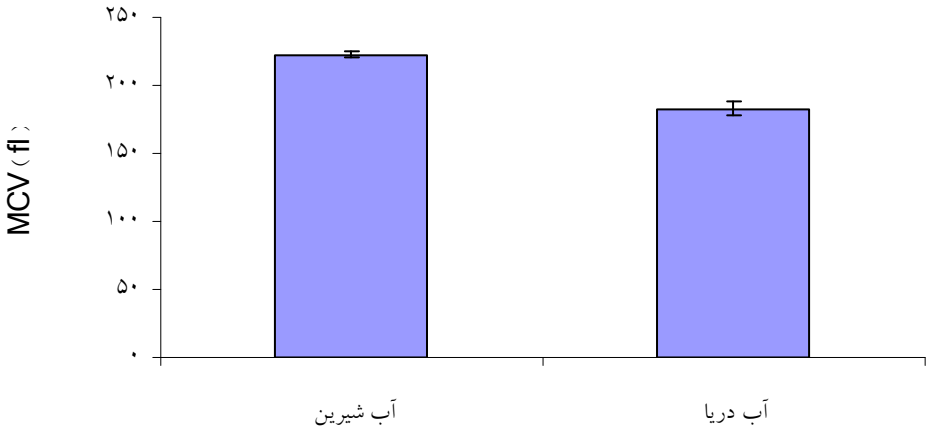
نمودار ۳-۲۳ : مقایسه میانگین هماتوکریت خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان هماتوکریت در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۴ و جدول ۳-۱۱).



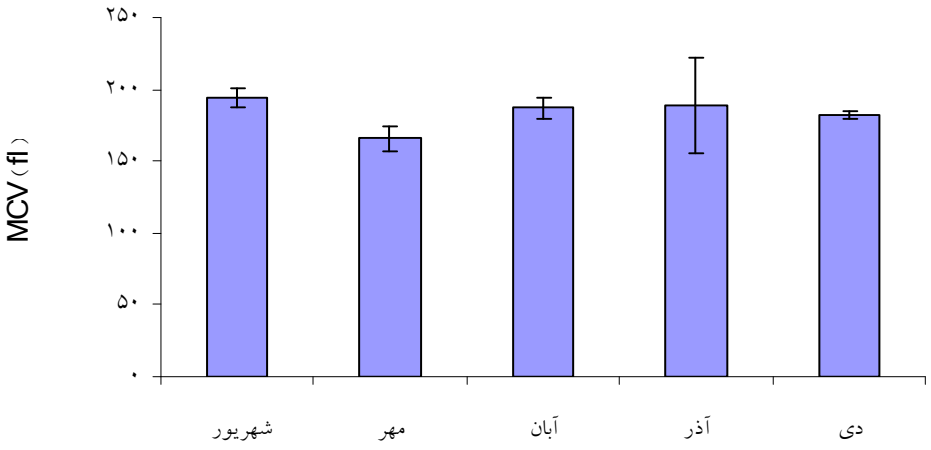
نمودار ٣-٢٤ : مقایسه میانگین هماتوکریت خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه درصد MCV خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ٣-٢٥ و جدول ٣-١٠).



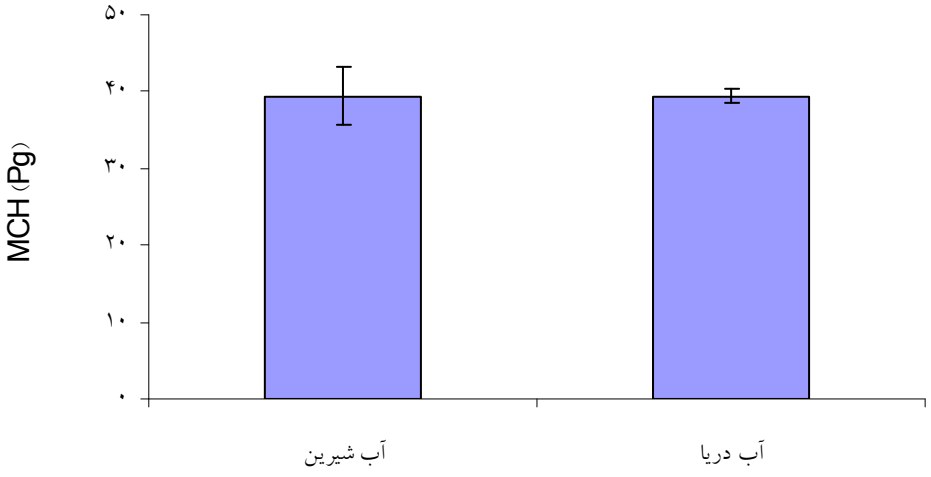
نمودار ٣-٢٥ : مقایسه میانگین MCV خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان MCV در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ٣-٢٦ و جدول٣-١١).



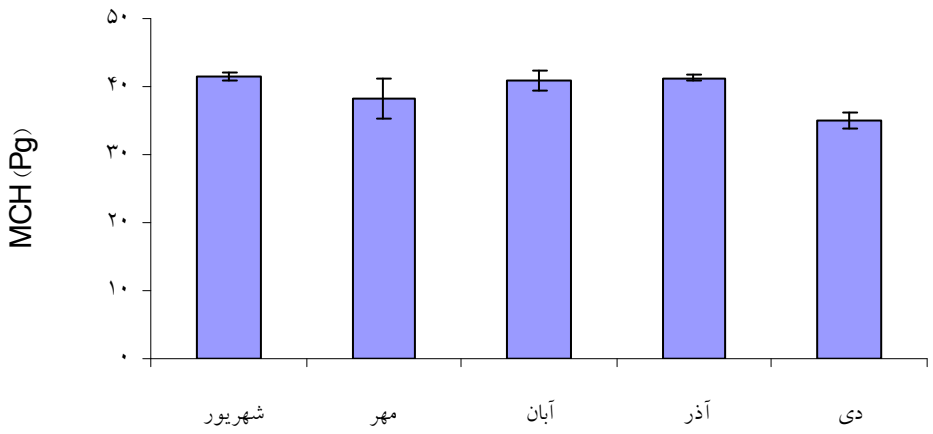
نمودار ۳-۲۶ : مقایسه میانگین MCV خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه MCH خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۷ و جدول ۳-۱۰).



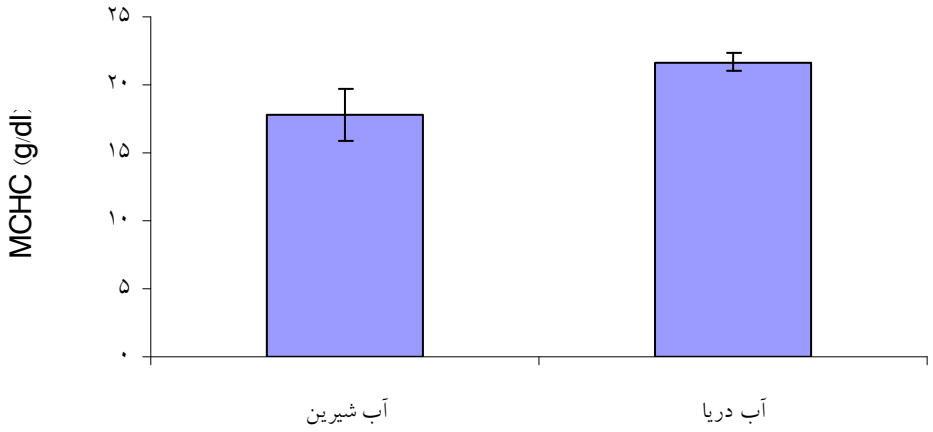
نمودار ۳-۲۷ : مقایسه میانگین MCH خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان MCH در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۸ و جدول ۳-۱۱).



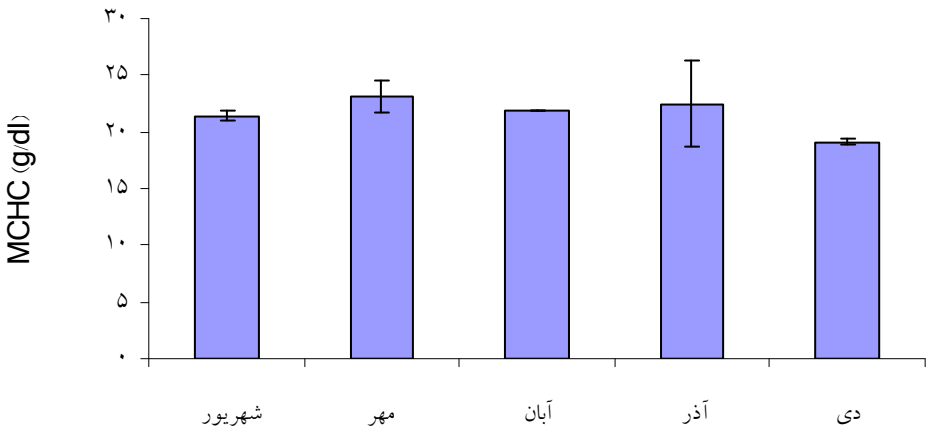
نمودار ۳-۲۸ : مقایسه میانگین MCH خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه MCHC خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در آب دریا(قفس) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۲۹ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۲۹ : مقایسه میانگین MCHC خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

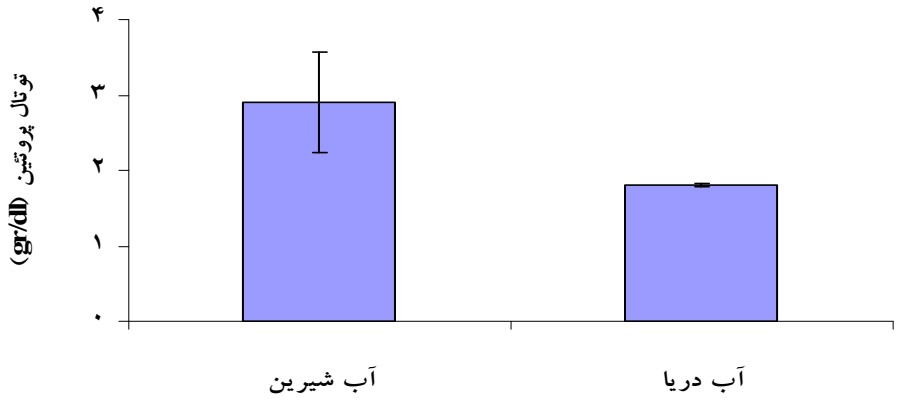
بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میزان MCHC در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۳۰ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۳۰: مقایسه میانگین MCHC خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

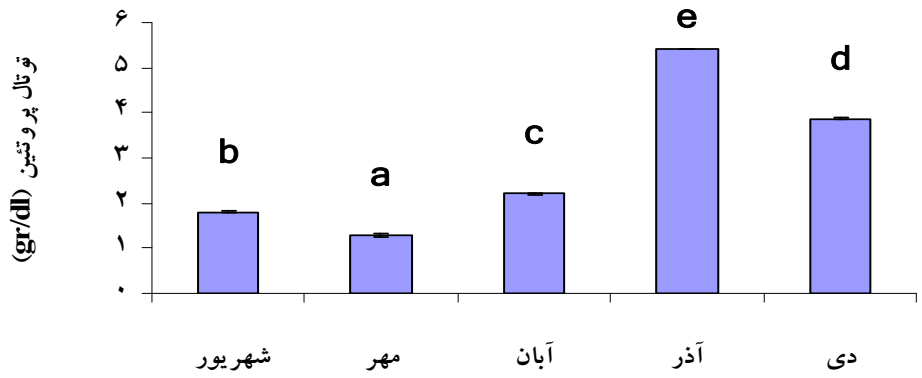
پروتئین کل خون

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان پروتئین کل در خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۳۱ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۳۱: مقایسه میانگین پروتئین کل سرم خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

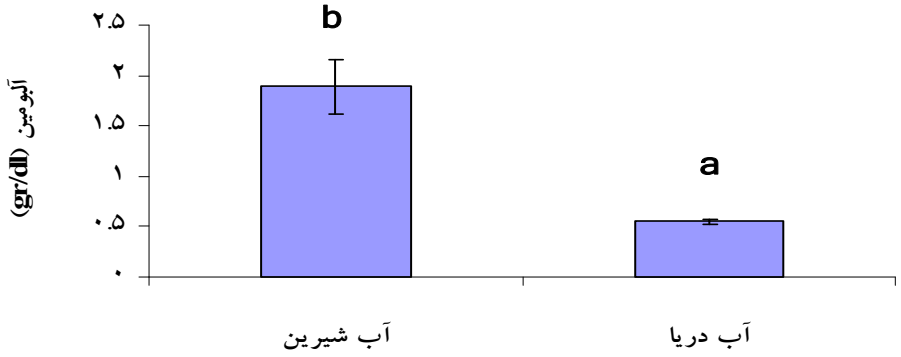
طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه میزان توتال پروتئین در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان توتال پروتئین خون بچه ماهیان از آبان ماه روند افزایشی داشته و درآذر ماه از بیشترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) . (نمودار ۳-۳۲ و جدول ۳-۱۱)



نمودار ۳-۳۲ : مقایسه میانگین پروتئین کل خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

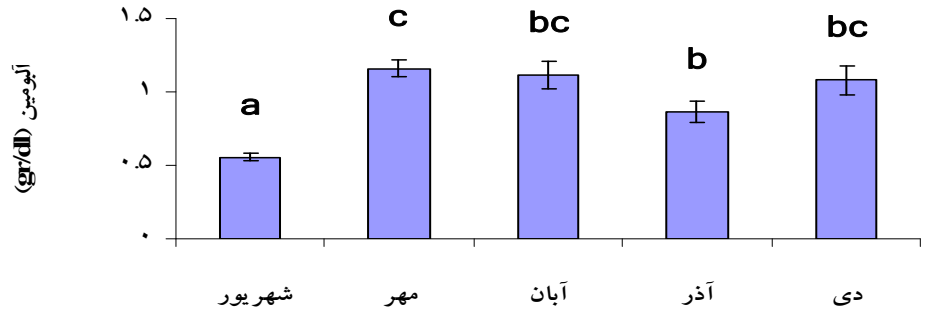
آلبومین

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان آلبومین در خون ماهیان داخل قفس با میانگین ۰/۰۲۴± ۰/۵۵ نسبت به میزان آلبومین خون ماهیان آب شیرین کاهش داشته است و اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$) (نمودار ۳-۳۳ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۳۳ : مقایسه میانگین آلبومین سرم خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

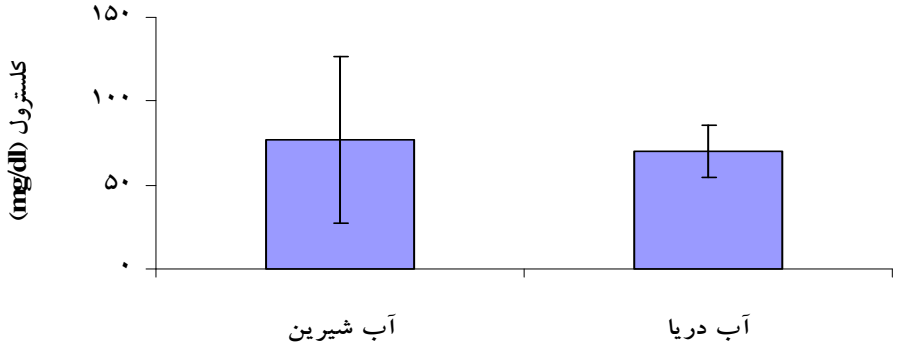
طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه میزان آلبومین در خون بچه ماهیان بین در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن، میزان آلبومین خون بچه ماهیان در مهر ماه از بیشترین میزان برخوردار بوده اگرچه روند افزایش معنی داری در میزان میانگین آلبومین از مهر ماه تا دی نسبت به شهریور مشاهده شده است اما در آذر نیز نسبت به ماه های مهر، آبان و دی کاهش معنی داری مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۳۴ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۳۴ : مقایسه میانگین آلبومین خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

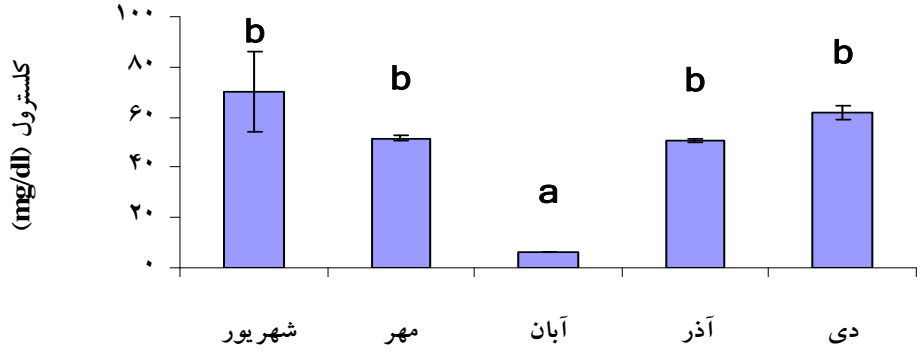
کلسترول

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان کلسترول در خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۳۵ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۳۵ : مقایسه میانگین کلسترول خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

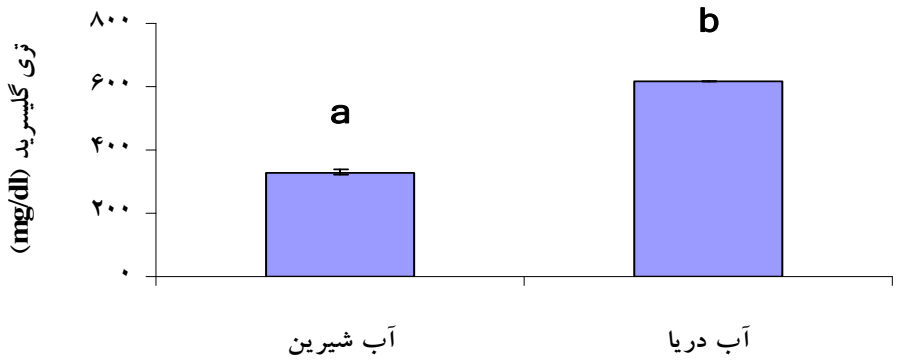
طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه در دریا و به منظور مقایسه میزان کلسترول در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان کلسترول خون ماهیان در آبان ماه کاهش داشته و از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۳۶ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۳۶: مقایسه میانگین کلسترول خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

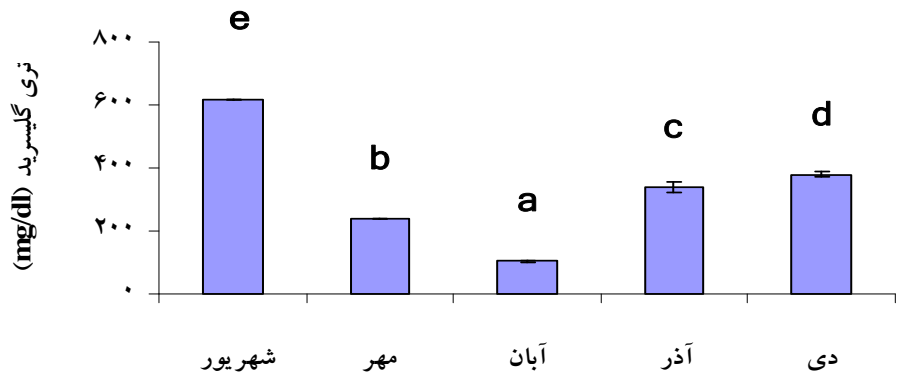
تری گلیسرید

بر اساس آزمون T- Test میزان تری گلیسرید ی در خون ماهیان داخل قفس با میانگین ۰/۹۹± ۶۱۵/۷۴ نسبت به میزان تری گلیسرید خون ماهیان آب شیرین افزایش داشته است در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$) (نمودار ۳-۳۷ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۳۷: مقایسه میانگین تری گلیسرید خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

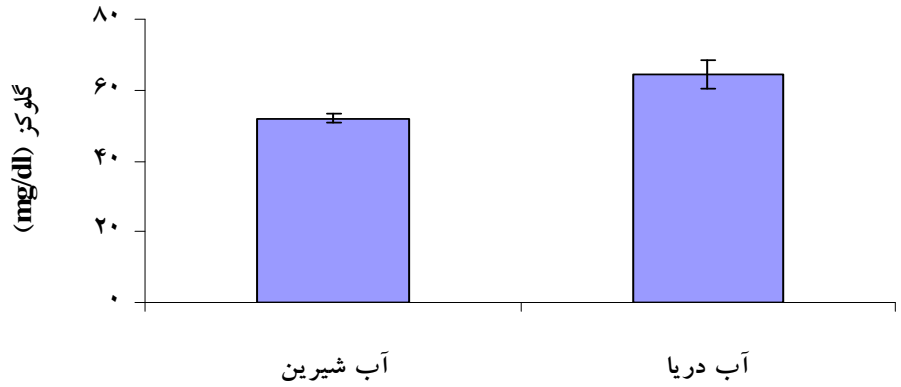
همچنین میزان تری گلیسرید در خون بچه ماهیان در ماه های مورد بررسی در دریا اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان تری گلیسرید خون بچه ماهیان در شهریور از بیشترین مقدار برخوردار بوده است و در آبان ماه از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۳۸ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۳۸ : مقایسه میانگین تری گلسیرید خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

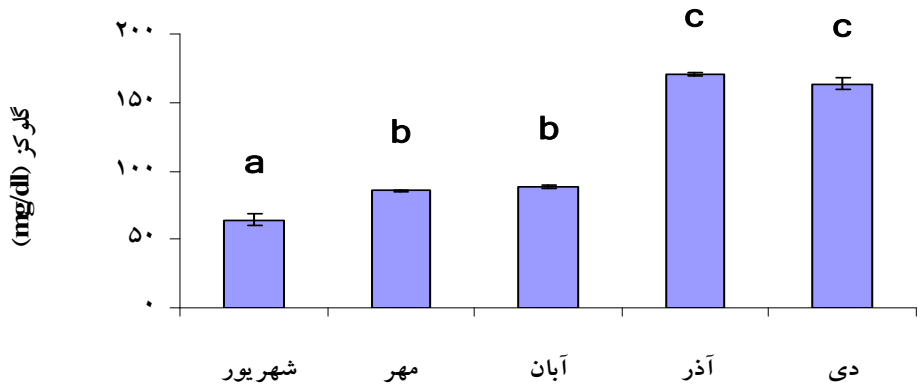
گلوکز

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان گلوکز در خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۳۹ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۳۹ : مقایسه میانگین گلوکز خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

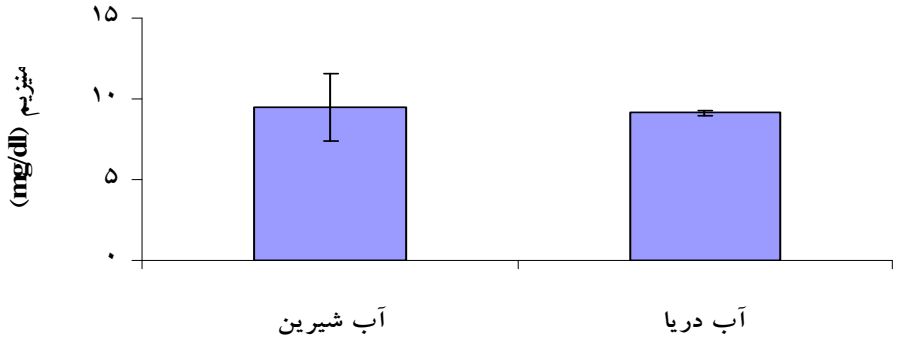
میزان گلوکز در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان گلوکز خون بچه ماهیان در آذر و دی بیشترین مقدار برخوردار بوده و در شهریور ماه از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۴۰ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۴۰: مقایسه میانگین گلوکز خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

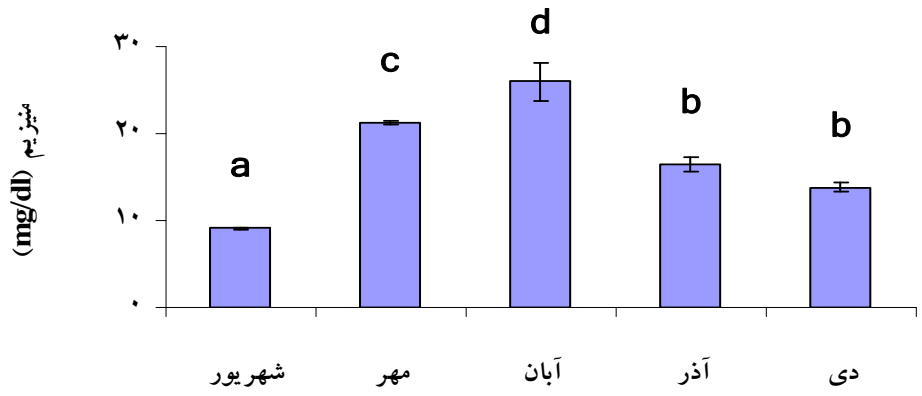
منیزیوم

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان منیزیم در خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$) (نمودار ۳-۴۱ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۴۱ : مقایسه میانگین منیزیم خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

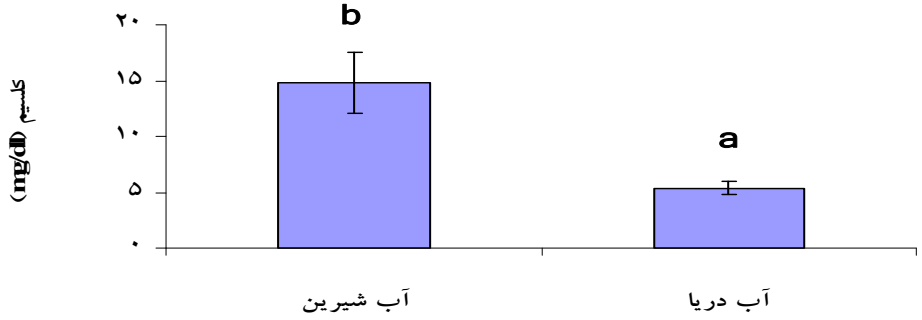
طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه میزان منیزیم در خون بچه ماهیان بین ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان منیزیم خون بچه ماهیان در آبان از بیشترین مقدار برخوردار بوده و در شهریور ماه از کمترین مقدار برخوردار بوده است و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۴۲ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۴۲ : مقایسه میانگین منیزیم خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

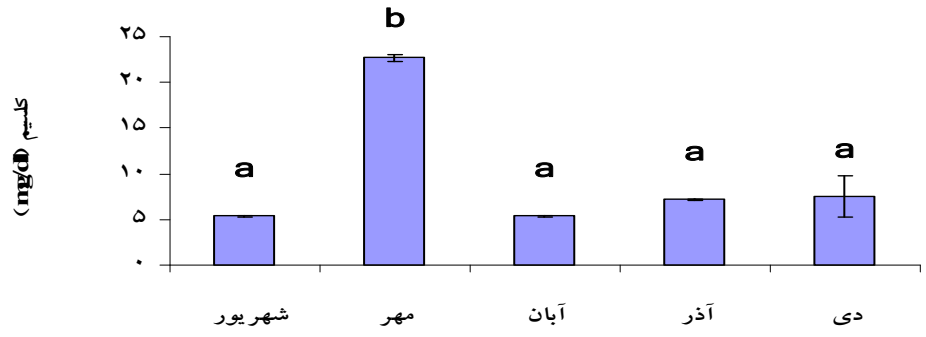
کلسیم

بر اساس آزمون T- Test به منظور مقایسه میزان کلسیم در خون ماهیان مورد بررسی در دو گروه از ماهیان آب شیرین و در قفس اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و بر اساس نتایج میزان این عامل در خون ماهیان داخل قفس با میانگین ۰/۵۴± ۵/۳۷ نسبت به میزان کلسیم خون ماهیان آب دریا کاهش داشته است (نمودار ۳-۴۳ و جدول ۳-۱۰).



نمودار ۳-۴۳ : مقایسه میانگین کلسیم خون ماهیان پرورشی در آب دریا و آب شیرین

میزان کلسیم در خون بچه ماهیان بین در ماه های مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و براساس آزمون دانکن جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر، میزان کلسیم خون بچه ماهیان در مهر از بیشترین مقدار برخوردار بوده و اختلاف معنی دار آماری با سایر ماهها مشاهده گردید ($p<0.05$) (نمودار ۳-۴۴ و جدول ۳-۱۱).



نمودار ۳-۴۴ : مقایسه میانگین کلسیم خون ماهیان پرورشی در قفس دریایی

جدول ۳-۱۰: میانگین ± اشتباه معیار فاکتور های خونی ماهیان پرورشی در دو محیط آب شور و شیرین

فاکتور	آب شور	آب شیرین
لیمفوسیت (٪)	۷۲/۷۵ ±۱/۳۲	۷۱/۲۵ ±۱/۳۱
مونوسیت (٪)	۲/۷۵ ±۰/۶۴	۳/۵ ±۰/۶۴
نوتروفیل (٪)	۱۹/۴۱ ±۰/۸۹	۲۱/۲۵ ±۱/۱۰
ائوزینوفیل (٪)	۵/۰۸±۰/۷۱	۴ ±۰/۴۰
گلبول سفید (mm3)	۲۴۹۱۶/۶۷±۱۱۸۵/۱۸	۲۰۶۲۵±۱۷۴۸/۵۱۱
گلبول قرمز (mm3)	۱۱۰۲۵۰۰±۲۸۰۱۸/۵۳	۱۰۶۷۵۰۰±۵۵۴۳۳/۸۹
هموگلوبین (g/dl)	۴/۳۴±۰/۱۴	۴/۲۷ ±۰/۶۴
هماتوکریت (٪)	۲۰/۱۷ ±۰/۷۹	۲۳/۷۵ ±۱/۰۳
حجم متوسط گلبولی MCV (fl)	۱۸۳/۰۶ ±۵/۷۷	۲۲۲/۷۹ ±۲/۸۷
غلظت متوسط هموگوبین در گلبول قرمز MCH (pg)	۳۹/۴۲ ±۰/۹۹	۳۹/۴۳ ±۳/۷۸
غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز MCH (g/dl)	۲۱/۶۹ ±۰/۶۸	۱۷/۷۷ ±۱/۹۵
پروتئین خون (gr/dl)	۱/۸۰ ±۰/۰۱۲	۲/۸۹ ±۰/۶۶
آلبومین (gr/dl)	۰/۵۵ ±۰/۰۲۴ [a]	۱/۸۹ ±۰/۳۸ [b]
کلسترول خون (mg/dl)	۷۰/۱۶ ±۱۵/۸۰	۷۶/۹۲ ±۴۹/۷۷
تری گلیسرید (mg/dl)	۶۱۵/۷۴ ±۰/۹۹ [b]	۳۳۰/۰۴ ±۷/۸۸ [a]
گلوکز خون (mg/dl)	۶۴/۳۲ ±۳/۸۷	۵۱/۹۰ ±۱/۸۰
منیزیوم (mg/dl)	۹/۱۲ ±۶/۲۴	۹/۵۱ ±۲/۹۷
کلسیم (mg/dl)	۵/۳۷ ±۰/۰۴۳ [a]	۱۴/۸۴ ±۲/۷۱ [b]

حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

جدول ۳-۱۱: میانگین ± اشتباه معیار فاکتور های خونی ماهیان پرورشی در قفس (دریا)

عامل	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی
لیمفوسیت (٪)	۷۰ ±۳/۲۱۲	۷۴/۶۷ ±۲/۹۰	۷۱/۵ ±۰/۵	۷۷/۵ ± ۲/۵	۷۰/۵ ± ۲/۵
مونوسیت (٪)	۲/۳۳ ±۱/۴۵	۲/۳۳ ±۱/۲۰	۳ ±۱	۲/۵ ± ۰/۵	۴ ± ۱
نوتروفیل (٪)	۲۰/۳۳ ±۳/۱۷	۲۰/۳۳ ±۱/۴۵	۲۰ ±۱	۱۷/۵ ± ۱/۵	۱۸ ± ۲
ائوزینوفیل (٪)	۷/۳۳ ± ۰/۳۳^{b}	۲/۶۷ ± ۰/۶۶^{a}	۵/۵ ±۱/۵۰^{b}	۲/۵ ± ۰/۵^{a}	۷/۵ ± ۰/۵^{b}
گلبول سفید (mm3)	۲۴۱۶۶/۶۷ ±۳۷۲۳/۰۵	۲۵۶۶۶/۶۷ ±۱۰۱۳/۷۹	۲۱۵۰۰ ±۴۵۰۰	۲۸۵۰۰ ± ۱۰۰۰	۲۴۷۵۰ ± ۲۷۷۵۰
گلبول قرمز (mm3)	۱۰۲۶۶۶۷ ±۷۳۱۰۵/۷۱	۱۰۴۶۶۶۷ ±۱۷۶۳۸/۳۴	۱۱۵۰۰۰۰ ±۲۰۰۰۰	۱۱۵۰۰۰۰ ± ۷۰۰۰۰	۱۲۰۵۰۰۰ ± ۳۵۰۰۰
هموگلوبین (g/dl)	۴/۲۷ ±۰/۳۷	۳/۹۹ ±۰/۲۶	۴/۷ ±۰/۱	۴/۷۴ ± ۰/۲۴	۴/۲۲ ± ۰/۲۷
هماتوکریت (٪)	۲۰ ±۲	۱۷/۳۳ ±۰/۸۸	۲۱/۵ ±۰/۵۰	۲۱/۵ ± ۲/۵	۲۲ ± ۰/۷۹
حجم متوسط گلبولی MCV (fl)	۱۹۴/۱۲ ±۶/۱۹	۱۶۵/۶۵ ±۸/۵۲	۱۸۷/۰۸ ±۷/۶۰	۱۸۸/۹۸ ± ۳۳/۲۴	۱۸۲/۴۹ ± ۲/۹۹
غلظت متوسط هموگوبین در گلبول قرمز(pg) MCH	۴۱/۴۷۱۲ ±۰/۶۳	۳۸۵/۱۷ ±۲/۹۵	۴۰/۵۹ ±۱/۵۸	۴۱/۲۴ ±۰/۴۲	۳۴/۹۴ ± ۱/۱۸
غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (g/dl) MCH	۲۱/۳۹ ±۰/۴۲	۲۳/۰۴ ±۱/۴۲	۲۱/۸۶ ±۰/۰۴	۲۲/۴۹ ±۳/۷۳	۱۹/۱۴ ± ۰/۳۳
پروتئین خون (gr/dl)	۱/۸۰ ±۰/۰۱۲ ^{b}	۱/۲۸ ±۰/۰۲۶ ^{a}	۲/۲۰ ±۰/۰۲۵ ^{c}	۵/۴۰ ± ۰/۰۰۵^{e}	۳/۸۷ ± ۰/۰۰۲۶^{d}
آلبومین (gr/dl)	۰/۵۵ ±۰/۰۲ ^{a}	۱/۱۶ ±۰/۰۶ ^{c}	۱/۱۲ ±۰/۰۹ ^{bc}	۰/۸۶ ± ۰/۰۷^{b}	۱/۰۸ ± ۰/۱ ^{bc}
کلسترول خون (mg/dl)	۷۰/۱۶ ±۱۵/۸۰ ^{b}	۵۱/۴۴ ±۱/۰۳ ^{b}	۶/۱۵ ±۰/۱۷ ^{a}	۵۰/۴۹ ± ۰/۷۲^{b}	۶۱/۴۷ ± ۲/۷۸^{b}
تری گلیسرید (mg/dl)	۶۱۵/۷۴ ±۰/۹۹ ^{e}	۲۳۹/۴۶ ±۱/۰۳ ^{b}	۱۰۳/۳۳ ±۱/۱۰ ^{a}	۳۳۷/۹۴ ± ۱۷/۷۱^{c}	۳۷۹/۶۴ ± ۹/۵۲^{d}
گلوکز خون (mg/dl)	۶۴/۳۲ ±۳/۸۷ ^{a}	۸۵/۷۸ ±۰/۵۲ ^{b}	۸۸/۰۷ ±۰/۹۹ ^{b}	۱۷۰/۹۳ ± ۱/۳۱^{c}	۱۶۳/۶۶ ± ۴/۰۲^{c}
منیزیوم (mg/dl)	۹/۱۱ ±۰/۱۴ ^{a}	۲۱/۱۵ ±۰/۲۱ ^{c}	۲۵/۹۵ ±۲/۱۵ ^{d}	۱۶/۴۰ ± ۰/۷۹^{b}	۱۳/۸۱ ±۰/۵۴^{b}
کلسیم (mg/dl)	۵/۳۷ ±۰/۰۴ ^{a}	۲۲/۶۶ ±۰/۴۴ ^{b}	۵/۳۶ ±۰/۰۳ ^{a}	۷/۱۷ ± ۰/۰۶^{a}	۷/۵۳ ±۲/۲۴^{a}

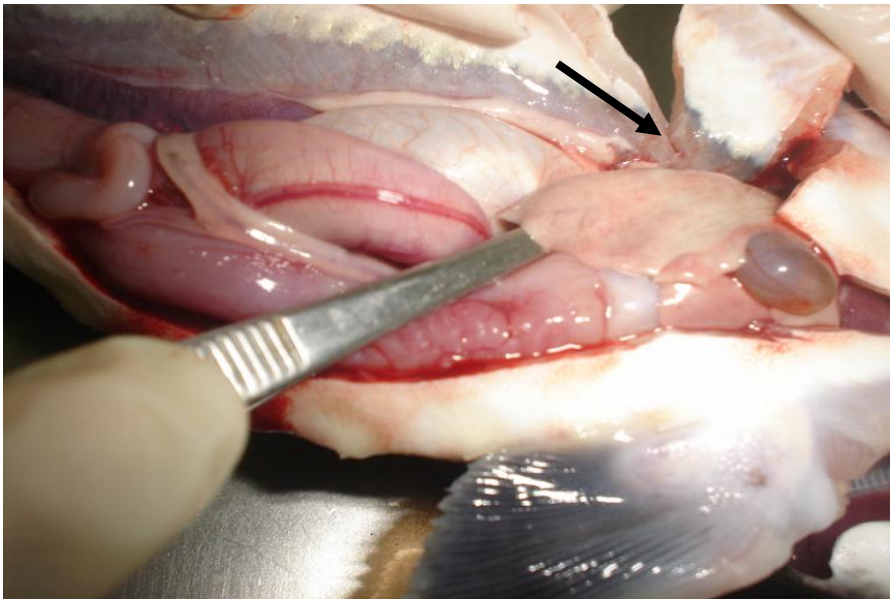
حروف غیر همنام لاتین کوچک در ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد.

۶-۲-۳-کالبد گشایی

در مطالعه اندامهای داخلی ماهیان پرورشی (۲ نمونه در هر مرحله) که پس از کالبد گشایی انجام پذیرفت، ملاحظه گردید که برخی از ماهیان پرورشی دارای کبد بیرنگ با لبه های متورم بودند شکل (۳-۳). در مطالعه هیستوپاتولوژیک این کبدها، دژنراسیون چربی ، رکود صفرا، نکروز و آتروفی هسته مشاهده شد (شکل ۴-۳ تا ۷-۳).

جدول۳-۱۲ : میزان شیوع کبد چرب در فیل ماهیان قفس از تعداد ۲ عدد نمونه مورد بررسی در هر مرحله

زمان	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	کل
تعداد	۰	۱	۰	۲	۱	۴
درصد فراوانی	۰	۵۰	۰	۱۰۰	۵۰	۴۰



شکل۳-۳: تغییرات ظاهری کبد فیل ماهی پرورشی در قفس دریا

شکل۳-۴: کبد فیل ماهی پرورشی دارای کبد کم رنگ با قوام چربی

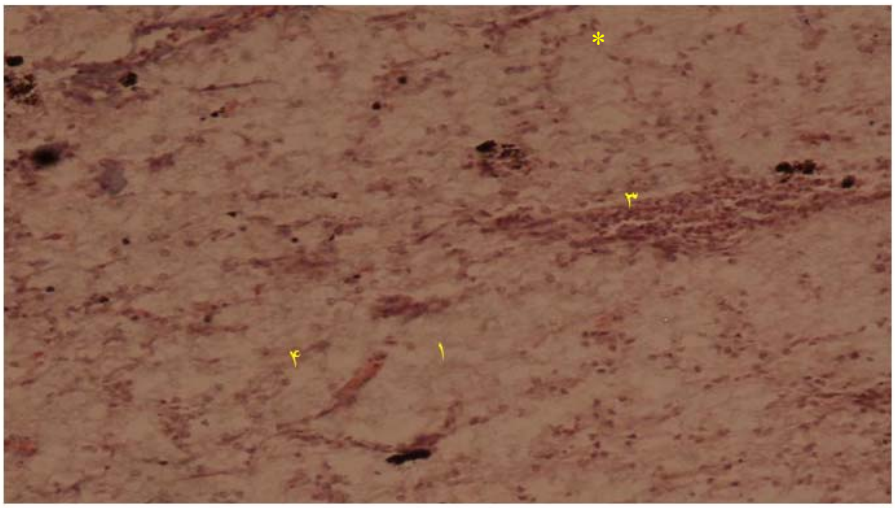
۷-۲-۳- بررسی بافت شناسی کبد فیل ماهیان پرورشی

کبد۱ شکل ۳-۴: پرخونی و خونریزی و دژنرسانس چربی(زیاد)، واکوئله شدن سلول، رکود صفرا و آتروفی سلولی (کم)

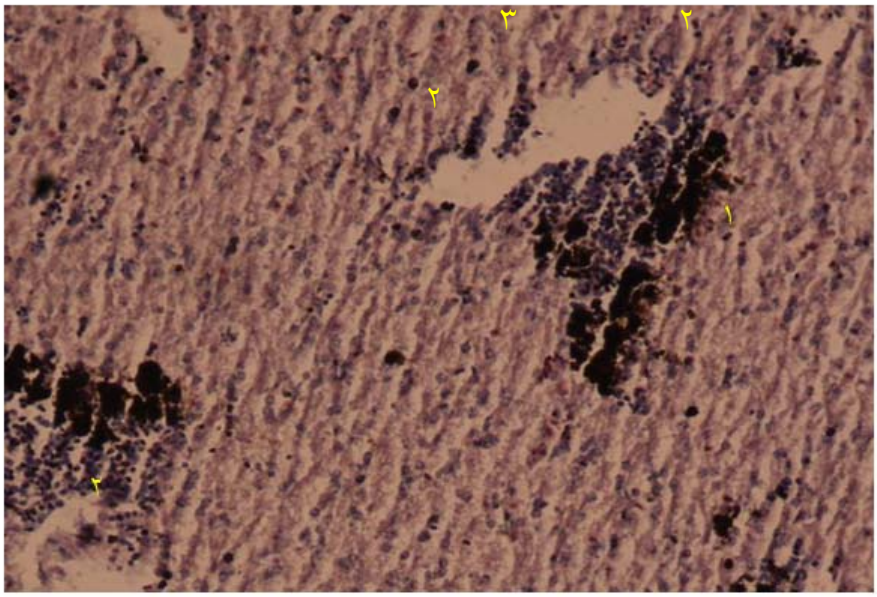
کبد ۲ شکل ۳-۵: خونریزی (کم) و آتروفی سلولی (زیاد)

کبد ۴ شکل ۳-۶: خونریزی و دژنرسانس چربی(زیاد)، و آتروفی سلولی و پرخونی (کم)

کبد ۵ شکل ۳-۷: و آتروفی سلولی (زیاد) خونریزی و پرخونی و تورم ابری (کم)

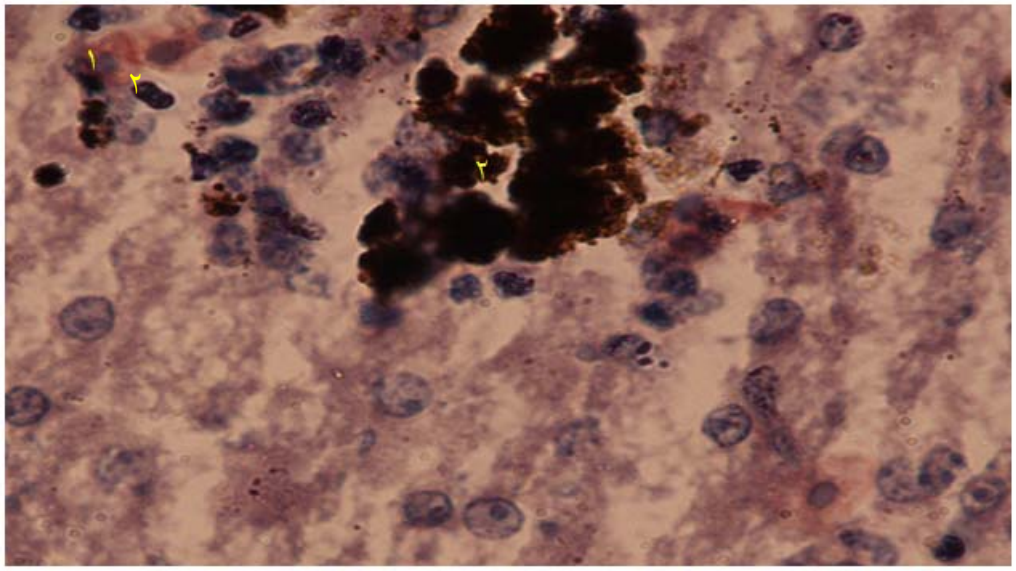


شکل ۳-۵: دژنرسانس چربی(۱)، رکود صفرا(۲)،خونریزی(۳) و واکوئله شدن سلول(ستاره) در کبد (H&E ،x۲۰)



شکل۳-۶: رکود صفرا (۱) و آتروفی سلولی(۲) در کبد(H&E ،x۲۰)

۱



شکل ۳-۷: خونریزی(۱)، رکود صفرا(۲) در کبد(H&E ،x۱۰۰)

۸-۲-۳- ویروس شناسی

در پروژه حاضر علیرغم نمونه برداری های انجام شده از ماهیان پرورشی در زمان قبل و پس از معرفی در قفس دریایی، به دلیل محدودیت های مالی امکان انجام آزمایشات ویروس شناسی میسر نگردید ولی پیشنهاد می گردد که با توجه به وجود گونه های ارزشمند و حساس خاویاری در دریای خزر و امکان انتقال ویروسها بین گونه های وحشی و پرورشی، عوامل ویروسی در ماهیان خاویاری پرورشی و وحشی کشور بررسی گردد.

۴- بحث

ماهیان خاویاری از ماهیان ابتدایی در جهان هستند و قدمت بیش از ۲۵۰ میلیون سال آنها در جهان نشان می دهد که این گونه تحمل زیادی نسبت به تغییرات آب و هوایی و زیست محیطی دارند. سدها و آلودگی آب ها از اصلی ترین مشکلات مهاجرت این ماهیان می باشند.

با توجه به مطالعات امکان سنجی انجام شده، سازگاری بالای این ماهیان با آبهای چشمه، رودخانه، چاه و آب شور و لب شور به لحاظ پرورشی مشخص گردید. همچنین در راستای فعالیت های پرورشی دو دهه اخیر کشورهای روسیه ، ایتالیا ، فرانسه، چین، اسپانیا، ترکیه، رومانی و بسیاری از کشور های اروپایی و آمریکایی جهت پرورش برخی گونه ها ی ماهی خاویاری مثل استروژن سفید (*Acipenser transmontanus*) ، تاس ماهی روس *A. gueldenstadti* ، استرلیاد *A.ruthenus* ، تاس ماهی اروپا *A. sturio* ، فیل ماهی *Huso huso* در شرایط آب شیرین مشغولند و مطالعات و اقدامات عملی در خصوص پرورش در سایر محیط های پرورشی مانند رودخانه ها، پشت سد ها در دریا، دریاچه ها خلیج ها و با روشهای مختلف متراکم و نیمه متراکم در حال انجام است (Ercan ,2011).

با توجه به مزایای پرورش ماهی در قفس مانند سهولت کار نسبت به استخر های خاکی و بتونی در احداث و در اجرا، کاهش هزینه و تولید بیشتر در واحد سطح، استفاده بهینه از منابع آب های طبیعی و نیمه طبیعی با توان تولید پایین، محصور کردن ماهیان در یک سطح کم و مصرف انرژی کم تر و تبدیل انرژی به ماده بیشتر، امکان توسعه بیشتر و قابلیت جابجایی راحت تر و استفاده از غذای طبیعی و زنده و در نتیجه کیفیت گوشت بالاتر، توجه دقیق به مدیریت بهداشتی به خصوص در امر پیشگیری و کنترل بیماریها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این ارتباط علاوه بر انتخاب صحیح ماهیان عاری از بیماری و سالم با رعایت دقیق اصول قرنطینه و انتقال به محیط دریا شناسایی کامل عوامل انگلی، قارچی، باکتریایی، ویروسی و... در محیط پرورشی(دریا) و سایر عوامل استرس زا مانند میزان تراکم، نوع جیره غذایی و نحوه تغذیه، ساختار قفس در مواجهه با جریانات دریایی ویا احتمال اختلال در تبادلات محیطی در مواقع انسداد چشمه های تور در امر پیشگیری و یا کنترل عوامل بیماری زای احتمالی بسیار حائز اهمیت می باشند. بر اساس نتایج حاصل از بررسی های بالینی در فیل ماهیان پرورشی قبل از انتقال به قفس (دریا) هیچگونه علائم خونریزی و ضایعه در پلاکهای استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن، تورم شکمی شنای غیر طبیعی مشاهده نگردید و کلیه ماهیان مورد بررسی دارای رنگ و ظاهری طبیعی بودند و نشانه ای مبتنی بر بیماری مشاهده نگردید. از جمله اقدامات عملی در جهت کاهش احتمال بیماری قبل از انتقال ماهیان علاوه بر انتخاب دقیق محل، انتخاب گونه مقاوم، معاینات مداوم و قرنطینه انتخاب ماهیان سالم با اندازه مناسب، حمل و نقل اصولی و رعایت فاصله زمانی جهت طی مراحل سازگاری برای انتقال از آب شیرین به آب دریا می باشد(مالکوم، ۱۳۸۰).

۱-۴- باکتری شناسی

مطالعات قبلی در خصوص میزان شمارش باکتریهای آب پرورشی توسط مشتاقی و همکاران (۱۳۸۹) و فتح اللهی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که مقادیر آن ($Log\ cfu\ ml^{-1}$ ۵) با تحقیق حاضر مطابقت دارد ولی در مطالعه سهیل نقشی و همکاران (۱۳۸۸) و موذن زاده و همکاران (۱۳۸۷) میزان شمارش باکتریها در آب پرورشی ($Log\ cfu\ ml^{-1}$ ۴/۸۷ – ۴/۶۳) کمتر بوده است. در مطالعات انجام شده توسط فتح اللهی و همکاران (۱۳۸۸) و مشتاقی و همکاران (۱۳۸۹) مشخص گردید که شمارش باکتریها در آبشش در محدوده (۳/۸۹- ۳/۳۴) بوده است که این مقادیر با تحقیق حاضر مطابقت دارد ولی در بررسی سهیل نقشی و همکاران (۱۳۸۸)، Chuma و همکاران (۲۰۱۰) و Shreedevi و همکاران (۲۰۱۱) میزان باکتریها بیشتر بوده ($Log\ cfu\ g^{-1}$ ۵/۲۳- ۴/۲۶) و در گزارش Cahill (۱۹۹۰) میزان باکتریهای آبشش ماهیان در دامنه ($۱۰^{۵} \times ۱/۴ - ۱۰^{۲}$) آمده است. در بررسی نتایج حاصل از شمارش باکتریهای پوست در تحقیق حاضر مشخص گردید که میزان شمارش فلور پوست با مطالعات سهیل نقشی و همکاران (۱۳۸۸) و موذن زاده و همکاران (۱۳۸۷) ($Log\ cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۵/۸۱- ۵/۵۳) مطابقت دارد ولی در گزارش Cahill (۱۹۹۰) میزان کمتری از شمارش باکتریهای پوست در ماهیان ($Log\ cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۰/۳۵ $\times ۱۰^{۵}$ – ۵۰>) اشاره شده است. نتایج حاصل از میانگین شمارش باکتریها در آب ، پوست و آبشش بچه ماهیان در قفس طی شهریور تا دی بطور معنی داری ($p<0.05$) روند کاهشی داشته است که احتمالا با کاهش دمای آب و بالطبع تغییر شرایط تکثیر باکتریها همراه بوده است.

ایزوله های جداسازی شده از ماهی و آب پرورشی قبل از رهاسازی شامل Enterobacteriaceae، *Aeromonas sp*، *Pseodomonas* sp، *Acinetobacter sp* و *Staphylococcus* بودند و ترکیب فلور باکتریایی موجود در پوست با آب پرورشی مطابقت دارد و این موضوع مشخص می کند که فلور سطحی ماهی انعکاسی از میکروفلور محیطی آنها است(Cahill,1990).

از تعداد ۲۴۰ عدد ماهی بررسی شده در مدت ۵ ماه بررسی، ۲۵ نمونه (۱۰/۴۱ ٪) دارای علائم خونریزی در محل پلاک های استخوانی به خصوص در ناحیه شکمی بوده اند. بر اساس گزارش شناور و همکاران (۱۳۸۸) بروز زخم در پلاکهای شکمی بطور عمده در ماهیان پرورشی خاویاری در آب شیرین و لب شور مشاهده شده است. نتایج بررسی مشاهده ای حاکی از این بودکه بیشترین میزان ضایعات در هر پنج گونه از تاس ماهیان پرورشی در ناحیه شکمی بوده، پوست وپلاکهای این ناحیه بیش از پوست و پلاکهای بقیه نواحی بدن دارای زخم روی پلاک هایشان بودند. بر اساس گزارش ابوالقاسمی (۱۳۸۹) از محل زخم در پلاکهای شکمی ماهیان پرورشی خاویاری در آب شیرین و لب شور باکتریهایی از جنس*Aeromonas* , *Acinetobacter* , *Pseudomonas* , *Staphylococcus* و Enterobacteriaceae جداسازی گردید که با باکتریهای جداسازی شده در این بررسی مطابقت دارد. در مطالعه سهیل نقشی و همکاران (۱۳۸۸) ، فلور باکتریایی از جنس *Aeromonas* ، *Acinetobacter* ، *Psuedomonas* ، *Staphylococcus* و Moraxella از پوست و آبشش بچه ماهیان خاویاری مورد جداسازی و

شناسایی قرار گرفت که بجز باکتری Moraxella در سایر باکتریها مشابهت دارد. برخی مطالعات انجام گرفته در سایر نقاط دنیا نیز نشان داد که باکتریهای *Aeromonas* ، *Pseudomonas* ، *Enterobacteriaceae* ، *Vibrio* ، *Streptococcus* و *Flavobacterium columnaria* بطور معمول از تاسماهیان مورد جدا سازی قرار گرفته اند (Brun *et al*., 1996, Francis-Floyd *et al*.,2000; *Baure et al*.,2002). در سایر گونه ها نظیر کفال ماهی (*Liza falcipinnis*) و گیش ماهیان کاذب(*Lactarius lactarius*) نیز باکتری های *Pseudomonas* , *Acinetobacter* , *Lactobacillus* *Alcaligens* و *Streptococcus, Artherobacter*, *Flavobacterium*, *Bacillus* ,*Micrococcus* , *Corynebacterium* *Aeromonas* ,*Vibrio*از پوست و آبشش گزارش گردید(Chuma *et al*.,2010; Shreedevi *et al*.,2011) . ایزوله های جداسازی شده از فیل ماهیان و آب پرورشی در قفس دریا شامل Enterobacteriaceae و باکتریهایی از جنس *Pseodomonas* ، *Acinetobacter* ، *Halomunas* و *Shewanella* بوده است. با توجه به سوابق بیماریزایی برخی از سوشهای باکتریهای *Acinetobacter* و *Pseudomonas* در آب شور (Alicia *et al*.,2005; Pandey *et al*.,2011) و جداسازی این باکتریها در بررسی حاضر در محیطهای آب شیرین و دریایی، مطالعات تکمیلی در خصوص بیماریزایی آنها در شرایط دریایی ضروری است. در مطالعه حاضر مشخص گردید که فیل ماهیان براحتی با شرایط قفس در دریای خزر قابلیت سازگاری دارند و بررسیهای بهداشتی این ماهیان طی دوره پرورشی نیز نشان داد که برخی از عوامل بیماریزای فرصت طلب عفونی باکتریایی (قارچی و ویروسی) در قفس قابلیت ایجاد شرایط باکتریمی عفونی داشته و از اندامهای داخلی و خارجی مورد جداسازی قرار گرفته اند که این عوامل در شرایط استرس زا می توانند ایجاد بیماری و تلفات نمایند. بروز برخی علائم بیماری، زخمهای پوستی در شرایط قفس لزوم مطالعات جامع تری را خصوص احتمال انتقال بیماریها، بروز تلفات و بررسی فاکتورهای ایمنولوژی طی دوران پرورشی در سنین بالاتر و همچنین بکارگیری مواد تحریک کننده سیستم ایمنی نظیر پروبیوتیک و سینبیوتیک ها را در راستای ارتقای وضعیت بهداشتی ضروری می سازد.

۲-۴- قارچ شناسی

در مطالعات قارچ شناسی دامنه شمارش کل قارچی آب پرورشی در حوضچه های بتنی مرکز قبل از رهاسازی ۱۲/۶۶-۱۴ cfu ml^{-1} تعیین گردید. دامنه شمارش قارچی آبشش ماهیان مورد بررسی ۳/۳۳- ۲/۶۶ cfu /gr^{-1} و همچنین شمارش باکتریایی پوست ماهیان مورد بررسی ۵/۳۳- ۸ cfu (cm^2) $^{-1}$ تعیین گردید. بر اساس نتایج میانگین شمارش کل باکتریایی درآب، آبشش و پوست بچه ماهیان در سه محل نمونه برداری اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($p>0.05$).

با توجه به عدم مشاهده علائم ظاهری مبتنی بر بروز بیماری مانند جراحات جلدی، خونریزی و حالت های غیر طبیعی در بچه ماهیان قبل از معرفی به قفس در دریا، می توان عنوان نمود که از طرفی شمارش های قارچی انجام شده از محیط پرورشی و اندام های پوست و آبشش در حد طبیعی و مناسب جهت پرورش قرار داشته اند و از

طرف دیگر عوامل استرس زای محیطی و پرورشی در محدوده تحمل بچه ماهیان بوده است. دامنه شمارش قارچی در آب دریا $cfu\ ml^{-1}$ ۵۲/۵ –۲۲ ، پوست $cfu\ (cm^2)^{-1}$ ۳۵ – ۱۳ و آبشش $cfu\ /gr^{-1}$ ۲۳/۵ – ۸ تعیین گردید.

براساس نتایج حاصل بین میانگین شمارش کل قارچی در آب ، پوست و آبشش بچه ماهیان پس از معرفی به قفس دریا در ماه های شهریور تا دی اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($p<0.05$). و میزان آن در ماه های مورد بررسی روند کاهشی داشته است و در آذر و دی ماه در آب، پوست و آبشش از کمترین مقدار برخوردار بوده است. به نظر می رسد که کاهش دمای آب، افزایش شدت جریانات دریایی، تخلیه بقایای غذایی و مواد دفعی در ماه های آذر و دی میزان شمارش قارچی کاهش یافته است که دلیل این امر مربوط می شود به ماهیت هتروتروفیک قار چ ها (نوروزی، ۱۳۷۹) .

در حوضچه های بتنی و قبل از معرفی به قفس در محیط دریا از ۵ ایزوله جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی بیشترین فراوانی مربوط به جنس .*Penicillium* spp با ۵۵/۵۶ درصد و کمترین فراوانی مربوط به *Aspergilus Niger* و .*mucor* spp با ۳/۷ درصد بود. همچنین در آب پرورشی از ۶ ایزوله بیشترین فراوانی مربوط به جنس .*Penicillium* spp با ۵۰ درصد و کمترین آن مربوط به *Aspergilus flaveus* با ۵ درصد بوده است. بر اساس نتایج فراوانی قارچ های جداسازی شده از فیل ماهیان پرورشی در قفس دریا از ۴ ایزوله جداسازی شده *Penicillium* .spp با ۸۱/۸۱ درصد دارای بیشترین فراوانی و *Aspergilus Niger* و مخمر با ۴/۵۵ درصد از کمترین فراوانی برخوردار بود. همچنین در آب پرورشی محیط دریا از ۸ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراوانی مربوط به جنس .*Penicillium* spp با ۵۹/۴۶ درصد و کمترین آن مربوط به sp *Cladosporium* با ۲/۷۱درصد بوده است(جدول۳– ۸).

بر اساس گزارش فیروزبخش و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی قارچهای سطحی تاسماهی ایرانی تنوع و فراوانی بیشتری را از اندام های پوست، باله و آبشش در ماهیان محیط پرورشی اعلام نمودند که دلیل آنرا نگهداری در محیط محدود و با تراکم بالا دانستند. اما در مطالعه حاضر میزان شمارش کل قارچی در آب، آبشش و پوست در محیط دریا بیشتر اما تنوع کمتری برخوردار بوده است. به نظر می رسد که در دریا و محیط قفس با توجه به محصور بودن، تراکم موجود و همچنین رویش های جلبکی و انسداد چشمه های تور شرایط مشابهی با محیط پرورشی در آب شیرین جهت افزایش میزان شمارش قارچی فراهم شده باشد اما با توجه به عامل محدود کننده شوری میزان تنوع فلور قارچی کمتر از محیط پرورشی آب شیرین بوده است. Zaharia و همکاران (۲۰۱۰) قارچ های تریکوفیتون، آسپرژیلوس، پنیسیلیوم، ژئوتریکوم، کریپتوکوکوس، ردودرولا و مخمر را از ماهیان و آب پرورشی در بررسی بیماری های ماهیان خاویاری در آب شور گزارش نمودند. همچنین فیروزبخش و همکاران (۱۳۸۹) علت افزایش میزان شمارش کل قارچی پوست نسبت به آبشش را نشان دهنده تماس و جایگزینی بیشتر هاگهای قارچی در پوست و دسترسی آسانتر آنها نسبت به آبشش اعلام نمودند. از بین قارچ های جداسازی

شده برخی از گونه ها به عنوان عوامل بیماریزای احتمالی در آبزیان گزارش شده اند .*Cladosporium sp* از عفونت های زیر جلدی و عمقی در ماهی کاد آتلانتیک توسط Rechenbach& Klinke (۱۹۵۶) گزارش گردید. در این ارتباط Olufemi (۱۹۸۵) قارچ های *Aspergilus niger* و *Aspergilus flavus* را از آلودگی غذایی در ماهی تیلاپیا گزارش نمود. برخی از مخمرها از آبهای شور و شیرین و از زخم های جلدی و ماهیچه ای نیز جداسازی شده اند (Noga, 2000). قارچ پنیسیلیوم از جمله قارچ های ساپروفیت محسوب شده و گزارشی از آن مبنی بر بیماریزایی در ماهی در دست نیست و به طور فراوان در طبیعت، خاک، مواد گیاهی و مواد غذایی در حال فساد مشاهده می شود.

۳-۴-کبد چرب

دراین مطالعه تعدادی از ماهیان موردبررسی مبتلا به عارضه کبد چرب بودند. Zaharia و همکاران (۲۰۱۰) نیز عارضه کبد چرب را در بررسی بیماری های ماهیان خاویاری در آب شور گزارش نمودند و علت آنرا مصرف مواد غذایی فاسد شده به دلیل ذخیره و نگهداری نامناسب (ذخیره سازی به مدت طولانی در دمای بالا و در برابر نور) بیان نمودند. فساد اکسیداتیو به عنوان یکی از مهمترین عوامل تشدید کننده تغییرات در مواد غذایی مورد بررسی قرار می گیرد. بر اساس بررسی های صورت گرفته چربی های فاسد شده سمی بوده و واکنش آنها با پروتئین ها موجب کاهش ارزش بیولوژیکی چربی ها می گردد. بیماری دژنراسیون کبد چرب به شکل کاهش اشتهای ماهی، رنگ پریدگی آبششها ،بزرگ شدگی ، چرب شدن و از دست دادن رنگ کبد و نیز گاهی با ایجاد نقاط قهوه ای زرد (رکود صفرا شکل های ۳-۶ و۳ -۷)در کبد و همچنین با ضخیم شدگی قسمتهای خلفی کلیه ها و بروز ادم درآن خود را نشان می دهد. درماهی دارای بیماری دژنراسیون کبد چرب افزایش اسیدهای چربی اشباع نشده، حساس به اتواکسیداسیون و تشکیل و تجمع رنگدانه های قهوه ای زرد رنگ در کبد ماهی مشاهده می گردد. دژنراسیون و تشکیل و تجمع رنگدانه ها در کبد معمولا در شرایط استفاده از ترکیبات غذایی ضعیف همراه با مقدار زیادی از چربی های با قابلیت اکسیداسیون ظاهر می شود. ذرات غذایی غنی از چربی ها شامل مقدار بزرگی از پراکسیدها هستند که شامل اسیدهای چرب اشباع نشده هستند که ویتامین های A و E را در بدن ماهی از بین می برند. این ویتامین ها به ویژه ویتامین E آنتی اکسیدانهای تقریبا قوی بوده که در شرایط عادی در غشاهای سلولی اسید های چرب را محافظت می کنند. استفاده بیش از حد از چربی به خصوص چربی های اشباع در فصل سرد و یا وجود چربیهای اکسیده در جیره غذایی فاقد مقادیر کافی آنتی اکسیدان مطرح است. کمبود بیوتین و یا کولین نیز می تواند موجب بروز کبد چرب گردد. بنابراین عدم تعادل جیره غذایی مهمترین علت بروز این سندرم می باشد(پوستی و مروستی۱۳۷۸، سلطانی ۱۳۸۰و ستاری و فرامرزی ۱۳۷۸). بعد از شناسایی بیماری دژنراسیون کبد چرب جایگزینی غذای بررسی شده ضروری می باشد. به منظور پیشگیری و درمان بیماری دژنراسیون کبد چرب استفاده از غذای با کیفیت مناسب غنی شده با ویتامین E که

نقش یک آنتی اکسیدان قوی را دارد در مدیریت بیماری موثر خواهد بود.مقدار ویتامین E مورد استفاده ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلو گرم غذا به مدت یک هفته (Zaharia,2010) می باشد.

۴-۴- مطالعات انگل شناسی

انگلها به عنوان یکی از مهمترین عوامل آلوده کننده ماهیان خاویاری بصورت مستقیم و یا غیر مستقیم در بروز بیماری در این ماهیان نقش اساسی ایفا می نمایند .

با توجه به نتایج مطالعات گذشته نگر در ماهیان خاویاری، می توان مشاهده انگلهای تک یاخته خارجی را در استخرهای خاکی و محیط های محصور پرورشی در سواحل متصور بود. در مطالعه حاضر، وضعیت تنوع ، درصد شیوع و میزان شدت عوامل انگلی، طی دو مرحله : قبل و پس از معرفی به قفس مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده، مشخص گردید که فیل ماهیان پرورشی قبل از انتقال به قفس به انگل تک یاخته ای تریکودینا (شیوع ۴۰ درصد و میانگین شدت ۱/۷۱± ۲۰ عدد) آلوده بوده اند. این در حالیست که هیچگونه عامل انگلی دیگری در این بررسی مشاهده نگردید. انگل تریکودینا از مهمترین ترین عوامل انگلی تک یاخته ای شایع در ماهیان خاویاری می باشد. البته این انگل توسط فیروزکندیان (۱۳۸۰)، یوسفیان (۱۳۸۱) و (شناور، ۱۳۷۹ الی ۱۳۸۲) و شناور(۱۳۸۹) نیز گزارش گردیده بود. البته انگلهای تک یاخته دیگری نظیر Ichtyobodo و Epistylis در ماهی استورژن سفید *A.transmontanus* به وسیله Sherry در سال ۲۰۰۵ و انگل تریکودینا در تاس ماهی روس *A. gueldenstadti* به وسیله Athassopoulou در سال ۲۰۰۴ نیز گزارش شده اند .

براساس مطالعات صورت پذیرفته، آلودگی شدید به مژکداران همزیست سطحی (مانند تریکودینا) معمولا در ماهیان ضعیف یا ماهیانی دیده می شود که در شرایط محیطی بدی نگهداری می شوند. افزایش مواد آلی محلول در آب و غذا دهی بیش از حد از جمله عواملی هستند که شرایط فیزیکی وشیمیایی آب را به هم زده و رشد و تکثیراین مژه داران را افزایش می دهند (پیغان، ۱۳۸۰). تحمیل استرس هایی با علل متفاوت به بچه ماهیان پرورشی که موجب کاهش قدرت دفاعی بچه ماهیان در برابر انگل تریکودینا می گردند (جلالی،۱۳۷۷). لذا بایستی به این عوامل توجه ویژه ای مبذول داشت.

تحقیقات نشان می دهند که عوامل متعددی می تواند در مشاهده یک عامل انگلی در ماهیان موثر باشد. یکی از این عوامل، وجود میزبانهای واسط بوده که می تواند در بروز برخی از عوامل انگلی نظیر نماتودها ، سستودها و... نقش بسزایی ایفا نماید. با توجه به اینکه ماهیان مذکور مدت زمان کوتاهی را (حدوداً ۵ ماه) در قفس سپری نمودند و نیز با توجه به زندگی در یک محیط محصور و عدم امکان مهاجرت به مناطق مختلف دریا و همچنین عدم امکان تغذیه از موجودات بنتیک نظیر کرمها و... شرایط را برای مشاهده و بروز عامل انگلی مهیا نگردید. بطورکلی می توان عنوان نمود که محدود بودن زمان نگهداری ماهیان در یک محیط آبی و در نتیجه کامل نشدن سیر تکامل بسیاری از انگلها، عدم حضور میزبانهای واسط، نامساعد بودن شرایط دمایی جهت تکثیر و

رشد بسیاری از انگلها درمدت زمان نگهداری در محیط پرورشی را می توان از جمله دلایل احتمالی کم بودن تنوع انگلی در ماهیان پرورشی دانست (جلالی جعفری،۱۳۷۷) .

۵-۴- خون‌شناسی

با استفاده از شاخص های خونی می توان بسیاری از بیماری ها، نارسائی ها و شرایط غیرطبیعی را تشخیص داد (*et* Flynn *et al*., 2006& Krayushkina *al*.,2003). شاخص های هماتولوژی در فیزیولوژی ماهی بسیار مؤثر بوده، بنابراین شرایط پرورش ماهی (شامل تغذیه، آب و هوا و...) نیز بر شاخص های خونی تأثیر گذار است Allen *et*). Gershanovich *al*.,2006) و همکاران (۱۹۸۷) علت اصلی نوسان تعداد لکوسیت‌ها را مرتبط با نوع غذا اعلام کردند. گرانولوسیت به همراه منوسیت ها نقش مهمی را در فاگوسیتوز و سیستم ایمنی ذاتی یاخته ای ایفا می نمایند (Roberts, 2001; Stoskope, 1993). Palikova و همکاران (۱۹۹۹) با انجام شمارش افتراقی، میزان لکوسیت‌ها در گونه‌های ازون برون، فیل‌ماهی و تاسماهی سیبری ۲۰۰ روزه دریافتند که میزان لنفوسیت‌ها ۷۳/۵ – ۶۸ درصد و گرانولوسیت‌های نوتروفیل و ائوزینوفیل به ترتیب ۲۵/۱ – ۲۱/۸ و ۴/۶–۳ درصد بود که بالاترین میزان آنها در تاسماهی سیبری گزارش شد. همین تحقیق میزان نوسان منوسیت در تاسماهیان را بین ۷-۲٪ نشان داد. نتایج حاصل از شمارش افتراقی لکوسیت‌ها ازون برون پرورشی (یوسفی جوردهی، ۱۳۸۵) نشان داد که بیشترین فراوانی بترتیب مربوط به یاخته های لنفوسیت با میانگین ۴/۵±۸۲، نوتروفیل با میانگین ۸±۱۸/۵ و ائوزینوفیل با میانگین ۰/۳۹±۰/۵۲ درصد بود که درصد آنها در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در فصول مختلف تفاوت داشت، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. بررسی های صورت گرفته توسط کاظمی و همکاران (۱۳۸۹) روی مولدین تاسماهی ایرانی وحشی که برای تکثیر به کارگاه های تکثیر و پرورش استان گیلان انتقال یافته بودند، درصد یاخته های لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در مولدین ماده بترتیب ۷۸، ۱۹/۴ و ۲/۶ درصد و در مولدین نر بترتیب ۷۲، ۲۶ و ۲ درصد بود. Kolman و همکاران (۲۰۰۰) درصد گلبول های سفید خون تاسماهی روسی (*A. gueldenstaedti*) جوان پرورش یافته در قفس با متوسط وزن ۲۱۸ گرم (۱۱ ماهه) در دما های ۲۶ (ماه ژوئن)، ۲۸ (ماه جولای) و ۱۶ (ماه اکتبر) درجه سانتی گراد شمارش شده برای لنفوسیت به ترتیب ۶۹/۵، ۶۸/۹ و ۷۶/۷ درصد ، برای مونوسیت بترتیب ۱، ۲/۳ و ۲ درصد، برای نوتروفیل ۱۹/۴، ۱۷/۸ و ۱۶/۸ درصد و برای ائوزینوفیل بترتیب ۹، ۱۱/۲ و ۶/۲ درصد گزارش نمودند. عسکریان (۱۳۸۲) با مطالعه ای که روی فیل-ماهیان پرورشی انجام داد دریافت که نوسان یاخته های منوسیت در آنها بین ۰ تا ۴ ٪ درصد می‌باشد. همچنین مطالعات نشان داده است که درصد یاخته های ائوزینوفیل در خون ماهیان پایین و در شرایط طبیعی، ۲ تا ۳٪ از کل لکوسیت‌ها را تشکیل می‌دهد، اما بندرت گزارش هایی وجود دارد که مقدار این یاخته ها در خون به ۱۰ درصد کل یاخته های سفید هم می رسد (Mc Donald, 1978). افزایش تعداد نوتروفیل ها در گردش خون غالباً با استرس در ماهی در ارتباط است. نوتروفیل ها مشخصاً به محل های عفونت باکتریایی مهاجرت می کنند و در

آنجا به بیگانه خواری می پردازند، یا در غیر این صورت خاصیت باکتری کشی از خود نشان می دهند (Fange,1984). کاظمی و همکاران (۱۳۹۱) درصد یاخته های لنفوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل در تاسماهی ایرانی نر وحشی را بترتیب ۶۹/۳۸، ۴/۱۵ و ۲۶/۱۰ درصد و در تاسماهی ایرانی ماده وحشی را بترتیب ۷۵/۸۰، ۳/۴۷ و ۲۱/۴۰ درصد گزارش کردند. در این تحقیق میانگین درصد یاخته های لنفوسیت، منوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل (جدول ۱) در ماهیان پرورشی قفس دریا و آب شیرین با یافته های سایر محققین همسو بوده و بیانگر طبیعی بودن شرایط محیطی برای این گونه ها می باشد زیرا کاهش درصد یاخته های لنفوسیت تنها در اثر استرس و طولانی شدن کمبود اکسیژن محلول آب، در خون ماهیان کاهش می یابد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹)، همچنین یاخته های منوسیت، عمل ماکروفاژی و به عنوان سلول های خنثی کننده آنتی ژن عمل می کنند (تاکاشیما و هی بی یا، ۱۹۹۵). در شمارش افتراقی لکوسیت‌ها وقتی درصد یاخته های لنفوسیت افزایش پیدا می‌کند بطور خود به خود درصد یاخته های نوتروفیل و ائوزینوفیل کاهش می یابد. افزایش درصد گرانولوسیت‌ها (نوتروفیل و ائوزینوفیل) در بدن ماهی زمانی رخ می دهد که ماهی در کنش با یک عامل خارجی مانند باکتری ها یا التهاب های عفونتی ناشی از این عوامل باشد (Garcia *et al*., 2007). همزمان تعداد یاخته های لنفوسیت و ترومبوسیت به علت افزایش مهاجرت این یاخته ها به سمت مکان التهاب در خون کاهش می یابد. نتایج مطالعه حاضر نیز با مطالعات مشابه در خصوص تاسماهیان هماهنگ بود.

از آنجایی که حدود ۳۵ درصد خون شامل پلاسما می باشد که حاوی پروتئین و آنتی بادیها و عمدتاً ایمنوگلوبولینها است. هورمونها و آنزیم ها نیز در این بخش از خون وجود دارد، لذا در تحقیق حاضر از سرم خون نیز جهت مطالعات خونی استفاده شد. با توجه به نقش شاخص های خونی و ارتباط مستقیم آنها با فیزیولوژی ماهی می توان با شناخت صحیح از وضعیت خونی ماهیان خاویاری در محیط های مختلف پرورشی در جهت ارتقاء پرورش آنها اطلاعات سودمندی بدست آورد.

پروتئین کل :

بر اساس نتایج اختلاف معنی داری بین میزان پروتئین کل خون فیل ماهیان پرورشی در آب دریا (قفس) (۱/۸۰ ±۰/۰۱۲) و آب شیرین (۲/۸۹ ±۰/۶۶) مشاهده نگردید. همچنین میزان فاکتور مذکور طی ماه های مورد بررسی در دریا افزایش یافت به طوری که در آذر و دی از بیشترین مقدار برخوردار بود. Patriche و همکاران (۲۰۱۱) میزان نرمال پروتئین کل را در خون فیل ماهیان پرورشی ۲/۲ – ۱/۹۵ و Azarin و همکاران (۲۰۱۲) میزان پروتئین کل سرم خون تاسماهی ایرانی صید شده از دریا را ۰/۸۱ ±۱/۷۶ گزارش نمودند که با نتایج این مطالعه منطبق بود؛ هرچند که Yousefian و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر بالاتری از کل پروتئین را در جنس نر گونه قره برون ۱/۴ ±۵/۶، در جنس ماده ۱/۷ ±۴/۴ و در نابالغ ها ۰/۲ ±۴/۵ گزارش نمود.

پروتئین ها از اجزای مهم خون در بدن بوده که برای همه سلولها و بافت های بدن یک ماده حیاتی و مهم محسوب می شوند. اغلب پروتئین ها توسط کبد و برخی نیز مانند آنتی بادی ها توسط سیستم ایمنی ساخته می شوند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). کاهش میزان پروتئین کل می تواند به دنبال کاهش میزان آلبومین در بیماریهایی مانند بیماری های کبدی، کلیوی، عفونت ها و یا بیماری هایی با اشکال در جذب و هضم یک پروتئین و افزایش آن در مواردی مانند پاراپروتئینی، لنفوم هوچکین و لوسمی ها دیده می شود (Tietz,1986). بنظر می رسد عامل اصلی تغییرات ایجاد شده در میزان غلظت پروتئین کل سرم خون ماهیان مورد مطالعه، در ارتباط با تغذیه و احتمال وقوع آسیب های های کبدی مشاهده شده باشد؛ زیرا کبد ماهیان مورد بررسی بشدت رنگ پریده و غیر طبیعی بود.

آلبومین:

بر اساس نتایج کاهش معنی داری در میزان آلبومین خون فیل ماهیان پرورشی (قفس) در آب دریا (۰/۰۲۴± ۰/۵۵) نسبت به آب شیرین (۰/۲۶± ۱/۸۹) مشاهده گردید و میزان فاکتور مذکور طی ماه های مورد بررسی در خون فیل ماهیان پرورشی دریا (قفس) روند افزایشی داشت. در شهریور ماه کمترین میزان آلبومین در سرم خون مشاهده گردید. یوسفیان و همکاران (۲۰۱۱) میزان آلبومین را در خون جنس نر گونه قره برون ۰/۱± ۰/۸۹، در جنس ماده ۰/۲± ۰/۶۴ و در نابالغ ها ۰/۳± ۰/۶۵ در دریا گزارش نمود که تقریباً منطبق با مقادیر تعیین شده در مطالعه حاضر بود. مقدار آلبومین خون اندازه گیری شده در فیل ماهیان پرورشی ۹۵ گرمی مورد آزمایش در گروه شاهد ۰/۶ گرم در دسی لیتر (طاعتی و همکاران،۱۳۹۲). در تاسماهی سیبری پرورشی (*Acipenser baeri*) ۲۶ گرمی ۰/۰۶ گرم در دسی لیتر (Eslamloo, 2012)، در تاسماهی ایرانی جوان صید شده در دریا با متوسط وزن ۸۰۰ گرم ۷/۲۵ گرم در لیتر و در ازون برون جوان صید شده در دریا با متوسط وزن ۷۲۵ گرم۶/۸۵ گرم در لیتر (Asadi *et al*., 2009)، در مولدین تاسماهی پاروپوزه وحشی بین نر و ماده ترتیب ۱/۷ و ۲/۳ گرم و در تاسماهی دریاچه ای جوان ۳ ساله پرورشی و وحشی بترتیب ۱/۱ و ۱/۲ گرم در دسی لیتر و دامنه آلبومین در تمامی تاسماهیان ۰/۹ تا ۲۹ گرم در دسی لیتر (Sepulveda *et al*., 2012) و در فیل ماهیان ۳ تا ۴ ساله پرورش یافته در آب شیرین در جنس ماده و نر بترتیب ۰/۸۸ و ۱/۲۶ میلی گرم در دسی لیتر (Asadi *et al*. 2006a) گزارش گردید. آلبومین در کبد ساخته می شود و نقش آن حفظ فشار اسموتیک و حمل و نگهداری لیگاند ها و منبع اسیدهای آمینه بدن می باشد. علاوه بر این، آلبومین مواد متعددی مانند بیلی روبین، کلسیم و اسید های چرب با زنجیر بلند را به خود گرفته و حمل می کند. آلبومین قادر است فلزات سنگین سمی و داروها را به خود بگیرد و با این عمل اثرات سمی آن را خنثی کند. تفاوت‌های طبیعی در سطوح پروتئین کل پلاسما و آلبومین در میان گونه‌های مختلف به دلیل تفاوت در نوع غذا مصرفی و نیز گونه می باشد (Rehulka *et al*., 2005). کاهش

آلبومین در بسیاری از بیماریها ، مانند بیماری کبدی، التهابات بافتی، سوء تغذیه، سوء جذب و دفع زیاد آب از کلیه ها و دستگاه گوارش دیده شده است (Doumas,1971).

کلسترول و تری گلیسرید:

بر اساس نتایج اختلاف معنی داری بین میزان کلسترول خون فیل ماهیان پرورشی در آب دریا (قفس) (۱۵/۸۰± ۷۰/۱۶) و آب شیرین (۴۹/۷۷± ۷۶/۹۲) مشاهده نگردید اما میزان تری گلیسرید در خون ماهیان در محیط پرورشی دریا (۰/۹۹± ۶۱۵/۷۴) نسبت به آب شیرین (۷/۸۸± ۳۳۰/۰۴) افزایش داشت. همچنین میزان فاکتور های مذکور طی ماه های مورد بررسی در خون فیل ماهیان پرورشی دریا (قفس) در آبان ماه کاهش و در سایر ماه ها اختلاف معنی داری بین مقادیر تعیین شده مشاهده نگردید. مقادیر تری گلیسرید در شهریور از بالاترین مقدار برخوردار بود و در سایر ماه ها با وجود نوسانات، از روند کاهشی برخوردار بود.

Patriche و همکاران (۲۰۱۱) میزان نرمال کلسترول در خون فیل ماهیان پرورشی را در مدت یک سال مطالعه ۶۴- ۶۳/۵ و برای تری گلیسرید ۲۴۴- ۱۸۰ اعلام نمود. همچنین Azarin و همکاران (۲۰۱۲) میزان کلسترول سرم خون تاسماهی ایرانی صید شده از دریا را ۱/۰۷ ±۵۹/۱۳ گزارش نمودند. Yousefisn و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر کلسترول را در جنس نر گونه قره برون ۹/۳± ۸۷/۳، در جنس ماده ۷/۵± ۸۱/۴۹ و در نابالغ ها ۲/۰۷± ۹۱ گزارش نموند که با نتایج این مطالعه منطبق بود.Ebrahimnezhad arabi و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلسترول فیل ماهیان پرورشی را ۱۲/۴۷ ± ۱۱۹/۶۷ و میزان تری گلیسرید را ۲۰/۹۲ ± ۳۴۴/۶۷ که بیشتر از مقادیر حاصل در این مطالعه بود گزارش نمودند. غلظت کلسترول خون ماهیان در بین و درون گونه ها بسته به نوع تغذیه، شدت فعالیت و مرحله رشد و نمو جنسی می تواند متفاوت و متغیر باشد. کلسترول جز اصلی ساختمان غشا های سلولی و پیش سازی برای هورمون های استروئیدی و اسید های صفراوی است و در سلول ها سنتز می گردد و از طریق مواد غذایی نیز جذب بدن می شود. وقتی بر اثر استرس کورتیزول افزایش می یابد در واقع مقادیر زیادی از کلسترول صرف ساخت کورتیزول می شود (کاظمی، ۱۳۸۹). مقدار کلسترول در ماهیان پرورشی نسبت به ماهیان وحشی همان گونه بالاتر است افزایش کلسترول و چربی کل در خون نشان دهنده ایجاد اختلال در مکانیسم انتقال کلسترول و برداشت آن از بافت ها و تخریب کارایی فیزیولوژیک کبد می باشد (Schaefer *et al.*, 1983; Gul *et al.*2011; Zhou *et al*. 2010). تری گلیسرید شکل ذخیره ای چربی و منبع اصلی چربی ها و روغن ها است که در جریان خون وجود دارد. کاهش میزان تری گلیسیرید پلاسمای خون می تواند ناشی از اختلال ایجاد شده در سیستم گوارش، کبد و آنزیمهای مربوطه و بر هم خوردن تعادل هورمونی و اختلال در متابولیسم طبیعی در ماهیان مورد مطالعه باشد (Rabinson,1990). سطوح غلظت تری گلیسیرید و کلسترول به عنوان شاخص های اصلی وضعیت سلامت ماهیان استخوانی عالی مطرح می باشد (Gul *et al.*2011; Zhou *et al*. 2010). غلظت کلسترول با افزایش چربی در جیره غذایی و اندازه ماهی افزایش می یابد (Satheeshkumar *et al.*, 2010).

گلوکز:

بر اساس نتایج علیرغم افزایش میزان گلوکز خون فیل ماهیان پرورشی در آب دریا (قفس) (۶۴/۳۲ ±۳/۸۷) نسبت به آب شیرین (۵۱/۹۰±۱/۳۳)، اما اختلاف معنی داری آماری مشاهده نگردید. همچنین میزان گلوکز طی ماه های مورد بررسی در خون فیل ماهیان پرورشی دریا (قفس) در مدت زمان بررسی با کاهش دمای آب افزایش معنی داری را نشان داد و در آذر و دی از بیشترین مقدار برخوردار بود.

مقدار گلوکز خون بسته به گونه ماهی در محدوده ۳۵۰-۳۵ mg/dl (Ahmadifar *et al.* 2011) متغیر می باشد. Patriche و همکاران (۲۰۱۱) میزان نرمال گلوکز را در خون فیل ماهیان پرورشی ۵۷-۵۰ میلی گرم در دسی لیتر اعلام نمود. همچنین Azarin و همکاران (۲۰۱۲) میزان گلوکز سرم خون تاسماهی ایرانی صید شده از دریا را ۸/۷۶ ±۳۲/۰۶ گزارش نمودند که کمتر از مقادیر حاصل در مطالعه ما بود. Ebrahimnezhadarabi و همکاران (۲۰۱۱) نیز میزان این شاخص را در خون فیل ماهیان پرورشی ۷/۳۷±۴۸ اعلام کرد که منطبق با مقادیر حاصل در این مطالعه بود. مقدار گلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی است (Yousefi *et al.* 2011). گلوکز اصلی ترین ماده حاصل از سوخت و ساز مواد کربوهیداراتی می باشد. Mohammadi zarejabad و همکاران (۲۰۱۰) بدون ارائه دلیل خاص اعلام داشتند که سطوح گلوکز خون فیل ماهیان جوان با افزایش دما کاهش یافت. همچنین Strang (۱۹۸۰) بیان داشت که در گربه ماهی کانالی غلظت گلوکز خون با تغییر دمای آب (مشابه نتایج ما)، ممکن است تغییر نماید (Satheeshkumar *et al.*, 2010) غلظت گلوکز می تواند با اندازه. سن و مراحل تولید مثلی (Coz-Rakovac *et al.*, 2005) و غذا (Bani and Haghi Vayghan, 2011) متغیر باشد.

کلسیم و منیزیم:

بر اساس نتایج کاهش معنی داری در میزان یون کلسیم خون فیل ماهیان پرورشی در آب دریا (قفس) (۰/۰۴۳± ۵/۳۷) نسبت به آب شیرین (۲۰/۸۸± ۶۰/۴۴) مشاهده گردید. همچنین میزان یون مذکور طی ماه های مورد بررسی در خون فیل ماهیان پرورشی دریا (قفس) فقط در مهر ماه افزایش معنی داری را نشان داد و در سایر ماه ها اختلاف معنی داری بین مقادیر تعیین شده مشاهده نگردید.

Patricheو همکاران (۲۰۱۱) میزان نرمال کلسیم را در خون فیل ماهیان پرورشی ۸/۳۵ mg/dl- ۷/۶۵ اعلام نمودند همچنین Azarin و همکاران (۲۰۱۲) میزان گلوکز سرم خون تاسماهی ایرانی صید شده از دریا را ۲/۲۷ ±۵/۸۲ گزارش نمودند که منطبق با مقادیر حاصل در مطالعه ما (در آب دریا) بود. Yousefian و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر کلسیم خون را در جنس نر گونه قره برون ۰/۱± ۲/۵، در جنس ماده ۰/۲± ۲/۲ و در نابالغ ها ۰/۲± ۲/۵ گزارش نمودند که کمتر از مقادیر حاصل در این مطالعه (در آب دریا) بود. مقدار یون کلسیم در ماهیان توسط کلیه ها تنظیم می شود. مقدار این یون در ماهیان آب شیرین بین ۱۲-۸ mg/dl می باشد. عوامل استرس زا و تغییرات دمایی شبانه روزی اثر ناچیزی روی کلسیم خون دارند. افزایش کلسیم می تواند با افزایش غلظت پروتئین خون،

تغییرات ارتعاشی و استرس مزمن نیز مشاهده گردد (Kazemi, *et al.*,2013). Asadi و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی میزان یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی میزان غلظت این یون را مشابه غلظت یون کلسیم ماهیان استخوانی آب شیرین دانسته اما وابسته به جنس ندانستند اما کاظمی و همکاران (۲۰۱۳) معتقدند که با افزایش سن و پیشرفت گناد به سمت بلوغ یون کلسیم وابسته به مرحله جنسی و جنسیت می گردد. هدایتی و همکاران در بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور بیان کردند که احتمالاً فاکتورهای بیوشیمیایی (گلوکز، سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم) در فصل های مختلف فاکتور دمایی عامل تعیین کننده بوده و با کاهش دما در فصول پائیز و زمستان این فاکتورها کاهش و با افزایش آن در بهار و تابستان این فاکتورها افزایش می یابند.

بر اساس نتایج اختلاف معنی داری بین میزان منیزیم خون فیل ماهیان پرورشی در آب دریا (قفس) (۰/۱۴±۹/۱۹) و آب شیرین (۲/۰۹±۹/۵۱) مشاهده نگردید. همچنین میزان فاکتور مذکور طی ماه های مورد بررسی در خون فیل ماهیان پرورشی دریا (قفس) از شهریور تا آبان ماه (که از بیشترین مقدار برخوردار بود) افزایش داشته، سپس در آذر و دی کاهش یافت بطوری که اختلاف معنی داری بین مقادیر تعیین شده مشاهده گردید. Patriche و همکاران (۲۰۱۱) میزان نرمال منیزیم را در خون فیل ماهیان پرورشی ۲/۱۶ mg/dl – ۱/۸ اعلام نمودندو همچنین Azarin و همکاران (۲۰۱۲) میزان منیزیم سرم خون تاسماهی ایرانی صید شده از دریا را ۰/۶۴ ±۱/۵ گزارش نمودند، در این ارتباط Yousefian و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر منیزیم خون را در جنس نر گونه قره برون ۰/۱± ۱/۶، در جنس ماده ۰/۱± ۱/۲و در نابالغ ها ۰/۶۴± ۱/۴ گزارش نموند که مقادیر مذکور کمتر از مقادیر حاصل در این مطالعه بود است. افزایش یون ها در آب شیرین به شرایط محیطی و اکولوژیک آب بستگی دارد. در آب های شیرین مقادیر منابع تولید کلسیم بیش از آب دریای خزر که سولفاته می باشد، است. بنابراین کاتیون ها و آنیون های سرم خون متاثر از محیط زندگی موجود بوده، به همین دلیل مقادیر این یون در آب شیرین بیش از آب دریای خزر می باشد.

۶-۴- ویروس شناسی

با مطالعه تحقیقات و گزارشات علمی به نظر می رسد که دلیل تلفات در ماهیان خاویاری کمی پیچیده بوده و عوامل مختلفی در آن دخیلند که مهمترین آنها عوامل ویروسی و باکتریایی ثانویه می باشند. عوامل دیگری مانند حمل و نقل نامناسب، تراکم زیاد و سایر شرایط استرس زا می توانند در بروز عوامل ویروسی و باکتریایی تاثیر گذار باشند. در پروژه حاضر به دلیل محدودیت های مالی و عدم تخصیص اعتبارات لازم از طرف کارفرما امکان انجام آزمایشات ویروس شناسی میسر نگردید ولی پیشنهاد می گردد که با توجه به وجود گونه های ارزشمند و حساس خاویاری در دریای خزر و امکان انتقال ویروسها بین گونه های وحشی و پرورشی، عوامل ویروسی در ماهیان خاویاری پرورشی و وحشی کشور بررسی گردد.

۵-نتیجه گیری

در این مطالعه علاوه بر بررسی و پایش بهداشتی ماهیان در مدت زمان اجرای پروژه در قفس (دریا)، فلور و عوامل میکروبی موجود در محیط نیز مورد بررسی قرار گرفت تا با شناسایی این عوامل آمادگی لازم جهت پیشگیری، مقابله و اتخاذ روش های درمانی مناسب و کنترل بیماری های احتمالی در شرایط پرورش در قفس حاصل گردد. بر اساس نتایج حاصل از بررسی های انجام شده علیرغم بروز برخی جراحات جلدی و خونریزی در محل پلاک های استخوانی هیچگونه بیماری عفونی منجر به تلفات در فیل ماهیان پرورشی مشاهده نگردید و ماهیان پرورشی در قفس از وضعیت بهداشتی نسبتا رضایت بخشی برخوردار بودند. در ارتباط با بیماری های غیر عفونی و مشاهده ۴۰ درصدی عارضه کبد چرب، با توجه به اهمیت ویژه و نقش بیولوژیک این اندام، ضایعات ایجاد شده می توانند در دراز مدت زمینه ساز بروز بیماری های عفونی و یا تلفات ناگهانی شوند. لذا تامین غذای اختصاصی تاسماهیان، سالم و با کیفیت به همراه رعایت اصول تغذیه از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

پیشنهادها

۱. به نظر می رسد که خونریزی در پلاک های استخوانی و برخی جراحات جلدی ناشی از استرس و برخورد های فیزیکی پس از وقوع کولاک و جریانات شدید دریایی و دستکاری در هنگام صید بروز نمایند و با توجه به آسیب های وارده به سازه قفس در مدت مطالعه و تخریب آن در بهمن ماه پیشنهاد می شود که در ساخت قفس از سازه های مقاوم و دارای انعطاف استفاده شود و طراحی بر اساس اصول علمی و مهندسی و با دیدگاه بهداشتی انجام گیرد.

۲. در بازدیدهای به عمل آمده مشاهده شد که عدم پاکسازی به موقع مواد و جانداران چسبنده به تورکه بسته شدن چشمه های تور را به دنبال خواهد داشت که علاوه بر صدمات فیزیکی ناشی از جریانات بر ماهیان پرورشی، با تجمع مواد غذایی استفاده نشده و مواد دفعی ماهیان پرورشی به صورت معلق از جمله عوامل استرس زایی می باشند که ماهیان پرورشی مذکور را مستعد به بیماری می نمایند. لذا پیشنهاد می گردد که از تور های خود تمیز شونده (آنتی فولینگ) استفاده شود و یا پاکسازی تورها به صورت منظم انجام گیرد.

۳. نصب تور ضد شکار و بستن طناب بر روی قفس تا حدود بسیار زیادی می تواند در زمینه پیشگیری از هجوم پرندگان ماهیخوار و انتقال و اشاعه عوامل میکروبی پیشگیری نماید.

۴. با توجه به وجود گونه های ارزشمند و حساس خاویاری در دریای خزر و امکان انتقال ویروسها بین گونه های وحشی و پرورشی، عوامل ویروسی در ماهیان خاویاری قبل و پس از انتقال به محیط پرورشی (قفس دریایی) بررسی گردد.

۵. با توجه به بروز عارضه کبد چرب، پیشنهاد می گردد که مطالعاتی در زمینه احتیاجات غذایی فیل ماهی، بالانس عناصر جیره غذایی و رعایت میزان غذا دهی بر اساس شرایط دمایی در فصول مختلف انجام پذیرد و ضمن پایش مداوم بهداشتی غذای مصرفی، از غذاهای سالم و با کیفیت استفاده گردد.

۶. با توجه به نقش زیست یار های حیاتی (پروبیوتیک ها) در افزایش شاخص های ایمنی و رشد پیشنهاد می گردد که مطالعاتی مستقل در زمینه جداسازی و شناسایی باکتری های اختصاصی از دستگاه گوارش فیل ماهیان پرورشی در محیط دریا انجام پذیرد.

تشکر و قدردانی :

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی ریاست محترم وقت انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری و جناب آقای دکتر محمود بهمنی ریاست محترم موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر ، جناب آقای دکتر مهدی نژاد مجری محترم طرح و آقای دکتر شهرام عبدالملکی به منظور پیگیری و مساعدت در انجام این تحقیق قدردانی و تشکر بعمل می آید. از آقای دکتر محمد رضا مهرابی ناظر محترم طرح به جهت نظارت، راهنمایی و هدایت پروژه، جناب آقای دکتر مطلبی ریاست محترم و جناب آقای دکتر شریف روحانی معاونت محترم تحقیقاتی و همچنین جناب آقای دکترعیسی شریف پور ریاست وقت و دکتر سید جلیل ذریه زهرا ریاست محترم بخش بهداشت و بیماریهای موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور به جهت مساعدت در تصویب و اجرای این پروژه سپاس گذاری به عمل می آید. از آقای حجت سعیدی ریاست محترم و مهندس بیگتن معاونت محترم اداره کل شیلات استان گیلان و همکاران محترم آن اداره کل جناب آقای مهندس محمد حسن طلوعی و مهندس فلاح شمالی که از نظرات علمی ارزشمند آنها در انجام مراحل مختلف نمونه برداری بهره گرفته شده است تشکر و قدردانی به عمل می آید.

از مهندس رضوان الله کاظمی ریاست محترم بخش فیزیولوژی و بیوشیمی ، مهندس ایوب یوسفی و مهندس سجاد دروی که دربخش خونشناسی و بافت شناسی همکاری بی دریغی داشتند و همکاران بخش تکثیر و پرورش دکتر یزدانی، مهندس هوشنگ یگانه، مهندس پورعلی، مهندس شکوریان که در مراحل نگهداری و حمل و نقل بچه ماهیان ما را یاری نمودند و از مهندس محمود شجاعی، مهندس حامد یوسف پور، مهندس علیرضا علیپورو سرکار خانم بهاره یونس حقیقی در بخش اطلاعات علمی و همکاران بخش امور پشتیبانی و برنامه ریزی جناب آقای مهرنوش اژدر پور، تورج رئوفی، عزیز الله حسینی پور، شهرام محمدی، اسماعیل دهقان، حسین عسگری و بهمن شفیعی کمال تشکر و سپاسگذاری به عمل می آید.

منابع

۱. پورغلام، رضا (۱۳۷۲): بررسی‌درصد و شدت‌آلودگی‌ماهیان‌ماهیان‌خاویاری‌به‌انگل‌پلی‌پودیوم‌هیدروفیورم، بولتن علمی‌شیلات‌ایران، ش، ص– ۱۳.

۲. پیغان، ر. (۱۳۸۰): انگلها و بیماریهای انگلی ماهی، انتشارات نوربخش، صفحات ۳۶ - ۳۵.

۳. جلالی جعفری، ب. (۱۳۷۷): انگل ها وبیماریهای انگلی ماهیان آب شیرین، چاپ اول، تهران، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان صفحات ۶۳-۲۴.

۴. تاکشیما، اف.، هبایا، تی. ۱۹۹۵. اطلس بافت شناسی ماهی. ترجمه پوستی، الف.، صدیق مروتی، ع. ۱۳۷۸. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.

۵. خلخال،رضا. (۱۳۷۹): فلور قارچی‌مراحل‌مختلف‌تکثیر تاسماهیان‌در کارگاه‌شهید بهشتی،پایان‌نامه‌جهت دریافت‌دکترای‌عمومی‌دامپزشکی، دانشگاه‌تهران، ۶۲ ص.

۶. ذریه زهرا، سید جلیل و همکاران(۱۳۹۲): مطالعه بیماری نکروز عصبی ویروسی(جداسازی، شناسائی و بیماری‌زائی آن) درکفال ماهیان دریای خزر و احتمال انتقال آن به سایر ماهیان. گزارش‌نهایی‌پروژه،موسسه تحقیقات‌علوم شیلاتی کشور، ۱۰۵ص.

۷. سادات‌اخوی، رضا (۱۳۷۲): بررسی‌آلودگی‌قارچی‌تخم‌تاسماهیان‌در کارگاه‌تکثیر و پرورش‌ماهی‌شهیدبهشتی (سدسنگر)، پایان‌نامه‌جهت‌دریافت‌دکترای‌عمومی‌دامپزشکی‌دانشگاه‌تهران.

۸. ستاری. مسعود، (۱۳۷۸): بررسی‌شیوع‌آلودگیهای‌کرمی‌داخلی‌ماهیان‌خاویاری‌صید شده‌از سواحل‌جنوبی‌غربی دریای‌خزر.دانشکده‌دامپزشکی‌دانشگاه‌تهران، ۲۵۴ ص .

۹. سلطانی، مهدی (۱۳۷۵): بیماریهای باکتریایی ماهی (ترجمه). انتشارات سازمان دامپزشکی کشور با همکاری موسسه نشر جهاد. ۴۵۴ صفحه.

۱۰. سهیل نقشی، س.، زمینی، ع.، شناور ماسوله، ع. (۱۳۸۸). بررسی مقایسه ای اثرات داروهای آکواجرم و هالامید بر روی فلور باکتریایی پوست، آبشش، آب و روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد. مهندسی منابع طبیعی-شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۹۳ صفحه.

۱۱. شریف پور، ع. ذریه زهرا، ج. معصومیان، م. پازوکی، ج. قیاسی، م. سعیدی، ع. کارگرموخر، ر. فلاحی، ر. اسماعیلی، ف. نظری، ع.، ۱۳۸۵. روشهای ازمایشگاهی بیماری های ماهی، موسسه‌تحقیقات‌شیلات ایران، ۱۰۷ صفحه.

۱۲. رحمانی،حسین(۱۳۶۴):بررسی‌میزان‌آلودگی‌تاسماهیان‌سواحل‌جنوبی‌دریای‌خزربه‌آمفلینافولیاسه‌آ،پایان‌نامه دکترای‌دامپزشکی، دانشکده‌دامپزشکی‌دانشگاه‌تهران، ش.

۱۳. سفلایی، نفیسه.(۱۳۷۸):بررسی باکتریهای گرم منفی غالب در تاس ماهیان سد سنگر، پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۴ ص.

۱۴. سلطانی، مهدی(۱۳۷۹):ایمن سازی ماهی قره برون بر علیه باکتری آئرومونا س هیدرفیلا، گزارش نهایی پروژه ،موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۹ص.

۱۵. شناور ماسوله، علیرضا. معصومیان، محمود. سلطانی، مهدی.زارع گشتی ، قربان. کوچکیان صبور،انوشه. سیف‌زاده، مینا. وهابی ، یعقوب. عفت پناه ، ایرج. درویشی، فیضعلی (۱۳۷۹) : بررسی فلور باکتریایی مراحل تخم ، لارو ، انگشت قد و فون انگلی بچه ماهیان خاویاری در کارگاه تکثیر و پرورش شهید بهشتی ، ۸۱/۷۰۸گ ن ، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۳۳ صفحه.

۱۶. شناور ماسوله،علیرضا.سلطانی،مهدی.معصومیان،محمود.ابراهیم زاده موسوی،حسینعلی.جلیل پور،جلیل. سیف‌زاده،مینا (۱۳۷۹) : گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری(بخش کنترل کیفی)، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۱۷. شناور ماسوله، علیرضا.سلطانی،مهدی. معصومیان،محمود. ابراهیم‌زاده‌موسوی، حسینعلی. جلیل پور،جلیل (۱۳۸۰) : گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری(بخش کنترل کیفی)، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۱۸. شناور ماسوله، علیرضا. ستاری ، مسعود. معصومیان،محمود. ابراهیم‌زاده‌موسوی، حسینعلی. جلیل پور،جلیل. معصوم زاده ، مهدی .بازاری مقدم ، سهیل(۱۳۸۱)گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری(بخش کنترل کیفی)، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۱۹. شناور ماسوله، علیرضا.پور کاظمی، محمد. ستاری، مسعود. . جلیل‌پور،جلیل. معصوم زاده ، مهدی (۱۳۸۲) : گزارش نهایی پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری(بخش کنترل کیفی)، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۲۰. طاعتی، رضا. تاتینا، م. بهمنی، محمود. تاثیر محرک های ایمنی ایمنو استر و ایمنووال بر شاخص های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) . مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۸، شماره ۲، ص. ۱۸۲- ۱۷۵.

۲۱. غروقی، احمد(۱۳۷۳):شناسایی انگلهای کرمی لوله گوارشی و خونی ماهی قره برون در سواحل جنوبی دریای مازندران، گزارش نهایی پروژه، مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران، ۱۹ ص.

۲۲. غروقی، احمد (۱۳۷۳): شناسایی انگلهای فیل ماهی در سواحل جنوبی دریای مازندران، گزارش نهایی پروژه، مرکز حقیقات شیلات مازندران، ۳۴ ص .

۲۳. غروقی،احمد(۱۳۷۵): بررسی آلودگی انگل دیپلوستوموم(دیپلوستومیازیس)دربچه تاسماهیان پرورشی،بولتن علمی شیلات ایران،ش، ص ۲۲.

۲۴. کاظمی، رضوان اله. یوسفی جوردهی، ایوب. پوردهقانی، محمد. حلاجیان، علی. شناورماسوله، علیرضا. جلیل پور. یارمحمدی، مهتاب (۱۳۸۹): بررسی مقایسه ای پارامترهای خونی مولدین وحشی تاسماهی ایرانی. مجله بهره برداری و پرورش آبزیان. جلد اول، شماره سوم، بهار . دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹-۳.

۲۵. فتح الهی، ر.، خارا، ح. پژند، ذ.، شناور ماسوله، ع.(۱۳۸۹). تعیین حد کشندگی متیلن بلو و کلرید سدیم و تاثیر آنها بر وضعیت میکروبی پوست و آبشش و بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت آبشش و کبد بچه تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد. مهندسی منابع طبیعی-شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.۹۶صفحه.

۲۶. فیروز بخش، ف. کاظمی، ر. کاظمی، م. خسروی، ع. جلیل پور، ج. ابراهیم زاده موسوی، ح. (۱۳۸۸). بررسی قارچ های تاسما هی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۴. شماره۴. ۲۹۵-۲۹۱ .

۲۷. مشتاقی، ب.، نظامی، ب.، پژند، ذ.، شناور ماسوله، ع. تعیین حد کشندگی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم و تاثیر آنهابر وضعیت میکروبی پوست و آبشش و هیستوپاتولوژیکی بافت آبشش بچه تاسماهیان ایرانی(*Acipenser persicus Borodin,1897*). پایان نامه کارشناسی ارشد. مهندسی منابع طبیعی-شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۲۸. مخیر، بابا (۱۳۵۲): فهرست‌انگلهای‌ماهیان‌خاویاری‌تاس‌ماهیان *(Acipenseridae)* ایران، مجله‌دانشکده دامپزشکی، ش، ص-۱.

۲۹. مخیر، بابا(۱۳۵۳):بررسی‌اکولوژیکی‌انگلهای‌ماهیان‌خاویاری‌تاس‌ماهیان(*Acipenseridae*)ایران،نامه‌دانشکده دامپزشکی، ش، ص- ۱۱.

۳۰. مالکوم، سی.ام. بوریچ.، مترجم، غلامرضا شیرازی(۱۳۸۰). پرورش آبزیان در قفس، اداره کل آموزش و ترویج،۳۸۴ ص.

۳۱. مخیر، بابا (۱۳۵۹): بررسی‌انگلهای‌ماهیان‌حوزه‌سفیدرود، نامه‌دانشکده‌دامپزشکی‌دانشگاه‌تهران، دوره، شماره

۳۲. مخیر، بابا (۱۳۶۷): دیپلوستومیازیس‌ماهیان‌در ایران، دانشکده‌دامپزشکی‌دانشگاه‌تهران،شماره، ص-۲۴.

۳۳. موذن زاده، ک.، زمینی، ع.، وهاب زاده رودسری، ح.، شناور ماسوله، ع. (۱۳۸۷). ارزیابی کارآیی داروی هیدروکردر ضد عفونی بچه فیل ماهیان پرورشی(*Huso huso*) به منظور کاهش بارمیکروبی وبررسی تاثیر آن برکیفیت آب. پایان نامه کارشناسی ارشد. مهندسی منابع طبیعی شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۳۴. نیاک، علاءالدین. کهنه‌شهری،مجید و آذری، قباد (۱۳۴۹): آلودگی‌به‌تریکودینا در ماهیان‌خاویاری بحرخزر، نامه‌دانشکده‌دانشگاه‌تهران، دوره، شماره .

۳۵. هدایتی،س.ع.ا، باقری، ط.، یاوری، و. ، محمود بهمنی ، ب.، علیزاده، م(۱۳۸۷).بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور(*Huso huso*) . مجله زیست شناسی ایران جلد ۲۱ ، شماره ۴. ۶۶۶-۶۵۸.

۳۶. یوسفی جوردهی، ایوب. (۱۳۹۱): مقایسه افتراقی لکوسیت های مولدین ازون برون (*Acipenser stellatus*) پرورشی. مجله دنیای آبزیان. سال نهم. شماره ۲۳. صفحه ۲۵-۲۰.

37. Alicia E. ToranzoT, Beatriz Magarin˜os, Jesu´ s L. Romalde., (2005), A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. Aquaculture 246 (2005) 37– 61
38. Allen, J.P. and Joseph, J.C., 2006. Age/size effects on juvenile green sturgeon, Acipenser medirostris, oxygen consumption, growth, and osmoregulation in saline environments. Environ Biol Fish. 14:123-142.
39. Asadi, F.; & Halajian, A.; Pourkabir, M.; Asadian, P. & Jadidizadeh, F. (2006). Serum biochemical parameters of *Huso huso*. Comparative Clinical Pathology. 15:245–248.
40. Austin, B.; Austin, D.A. (1993): Bacterial Fish pathogens: Disease in Farmed and Wild fish. 2nd Edition, Ellis Horwood Ltd. Chichester, pp.376.
41. Azarin, H., Imanpour, M.R., Taghizadeh, V., Shahriyari.,R (2012). Correlations between Biochemical Factors of Blood with Biological Characteristics of Gonad and Some Reproductive Indices in Persian Sturgeon, *Acipenser persicus.* Global Veterinaria 9 (3): 352-357.
42. Bani, A., Haghi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research. 58(2), 126-133.
43. Baron, E.J.; Finegold, S.M. (1990): Diagnostic microbiology. 8th Edition, Mosby Comp., pp.861.
44. Boydstun, L.B. and Hopelain, J.S. (1977) Cage rearing of steelhead rainbow trout in a freshwater impoundment. The Progressive Fish-Culturist 39, 70–75.
45. Brun, R . et al.(1991): Bilan sanitaire 2 ans delevage Acipenser baeri en piscicultures intensives .cemagref publ.p.429.
46. Bruno, D.W. & Poppe, T. (1996). A colour Atlas of Salmonid Diseases.
47. Chuma C. Okoro1, Olusimbo O. Aboaba2, Ola J. Babajide. (2010).Quality Assessment of a Nigerian Marine Fish, Mullet (Liza falcipinnis) under different Storage Conditions. New York Science Journal. 2010;3(8)
48. Collee, J.G.; Duguid, J.P.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. , (1989): Practical Medical Microbiology. 13th Edition, Vol.2, produced by Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd., pp.910.
49. Czeczuga, B.; Maszynsko; Wossughig. Damalya. Kisiewiczb.(1995):Aquatic faungi growing on the eggs of several species Acipencer fishes ACTAIchthtolohica Piscatoria .
50. Dogiel, V.A.; Bykhovskiy, B.E.(1939): The parasites of fishes of Caspian Sea. In parasitic Nematodes of fresh water fishes of Europe; Moravec, F. (1994): Kluwer Academic publishers 473 pp.
51. Doumas, B.T., 1971. Bromocresol green method for the dete rmination of total serum albumin. Clin. Chem. Acta. 31: 87.
52. Ebrahimnezhadarabi, M., Saad, C.R., Sharr, Harmin, A., KamalAbdul Satar, M., AbedianKenari, A., (2011) Effects of phospholipids in the diet on biochemical.factors of sturgeon fish (Huso-huso) juveniles. African Journal of Biotechnology Vol. 10(42), pp. 8511-8516, 8 August, 2011
53. Ercan E, (2011). A glance on sturgeon farming potential of Turkey, Int Aquat Res 3: 117-124.ISSN 2008-4935.
54. Fange, R., 1984. Lphomyeloid tissues in fishes, vidensk. Meddr dansk naturh. Foren 145, 143-152, In: Fishes: An Introduction to ichthyology, Moyle, P.B., Cech, J.J., 2000. 4th edn. Prentica-Hall, Upper saddle River, New Jersey.
55. Floyd, R.F. (2000): Disease History of Cultured Sturgeon in Florida, 1990-1999.Florida sturgeon culture risk assessment workshop.pp:33-37.

56. Flynn, S.R.; Matsuoka, M.; Reith, M.; Martin, D.J. and Benfey, T.J. 2006. Gynogenesis and sexdetermination in shortnose sturgeon, *Acipenserbrevirostrum* Lesuere. Aquaculture, 253(1-4): 721-727.
57. Garcia, F.; Pilarski, F.; Makoto, E.; Ruas de Moraes F.; Laterca, M.(2007): Hematology of Piaractus mesopotamicus fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by Aeromonas hydrophila. Aquaculture 271, 39-46.
58. Georgiadis, M.P., Hedrick, R.P., Carpenter, T.E., et al. 2001. Factors influenc- ing transmission, onset and severity of out breaks due to white sturgeon iridovirus in a commercial hatchery [J]. Aquaculture, 194: 21–35.
59. Gershanovich A.D., Pegasov V.A., Shatunovskiy M.I. Ekologiya i fiziologiya molodi osetrovykh [Ecology and physiology of juvenile sturgeon]. Moscow, Agropromizdat, 1987, 215 p.
60. Haaparanta, A., Voltenen, E.T., Hoffman, and R.W.(1997): Gill anomalies of perch and roach from four lakes differing in water quality.J.Fish.Biol.50:575-591.
61. Hedrick, R.P., Groff, J.M., McDowell, T., et al. 1990. An iridovirus infection of the integument of the white sturgeon Acipenser transmontanus [J]. Dis- ease of Aquatic Organisms, 8: 39–44.
62. Hedrick, R.P., McDowell, T.S., et al. 1991. Isolation of an epitheliotropic herpesvirus from white sturgeon [J]. Dis. Aqual. Org., 11: 49–56.
63. Hedrick, R.P., McDowell, T.S., Groff, J.M., et al. 1992. Isolation and proper- ties of an iridovirus-like agent from white sturgeon Acipenser transmonta- nus [J]. Disease of Aquatic Organisms, 12: 75-81.
64. Hedrick, R.P., Speas, J., Kent, M.L., et al. 1985. Adeno-like virus associated with a disease of cultured white sturgeon (Acipenser transmontanus) [J]. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 42:1321–1325.
65. Holt, J.; Krieg, N. (1994): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition, The Williams comp., pp.787.
66. HUA Yu-ping, WANG Di, 2005, A review of sturgeon virosis, Journal of Forestry Research, 16(1): 79-82.
67. Kazemi,R, Yousefi Jourdehi,A. Pourdehghani,M. Dejhandian,S. Hallajian, A., Bahmani, M. Mohammadi Parashkoh, H. Yarmohammadi, M. (2013) Classification of sex and maturity stages of farmed Great sturgeon (*Huso huso*) using blood plasma steroid hormone and calcium ion levels. In press.
68. Kolman, H.; Kolman, R.; Krzysztof Siwicki, A., 2000. Non-specific defence mechanisms of Russian sturgeon (*Acipenser guldenstaedti* Brandt) reared in cages. Archives of Polish Fisheries. Vol.8. Fasc. 2:181-192.
69. Krayushkina, L.S. ; Ponov, A.A. ; Gerasimova, A.A. and potts, W.T.W. 2003. Changes in sodium, Calcium and magnesium ion concentration in Huso huso urine and in kidney morphology. Qiestions of Ichthyology, 17: 503-509.
70. LaPatra, S.E., Jones, G.R., Shewmaker, W.D., et al. 1995. Immunological Response of White Sturgeon to a Rhabdovirus of Salmonid Fish [C]. In: Vadim Birstein and William Bemis (eds), The Sturgeon Quarterly, pp 809.
71. Lartseva, L. V., (1992): Microbiological monitoring of sturgeon (acipenseridae in the Volga delta. Joyrnal of applied ichthyology, vol.15, pp: 291-292.
72. MacConnell, E., Hedrick, R.P., Hudson, C., et al .2001. Identification of an iridovirus in cultured pallid (*Scaphirhunchus albus*) and shovelnose stur- geon (S. platorynchus) [J]. Fish Health Newsletter, 29 (1): 102-105.
73. McDonald, G.A., Dondds, T.C., Cruickshank, B., 1978. Atlas of haematology. Churchill Livingston, London 300 p.
74. Manual of Diagnostic tests for Aquatic Animal, Diseases of fish (2003). Office International Epizootics (O. I. E), 224 pp.
75. Mao, J., Wang, J., Chinchar, G.D and Chinchar, V.G.. 1999. Molecular charac- terization of a ranavirus isolated from largemouth bass Microprerus asl- moides [J]. Disease of Aquatic Organisms, 37: 107–114.
76. Mohammadi Zarejabad, A.; Sudagar, S.; Pouralimotlagh, S. & Darvish Bastami, K. (2010). Effects of rearing temperature on hematological and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile. Comparative Clinical Pathology. 19: 367–371.
77. Moring, J.R.(1982) Fin erosion and culture-related I n juries of chinook salmon raised in floating net pens. The Progressive Fish-Culturist 44, 189–191.
78. Okaeme, AN. (1989) Fish Disease, Quarantine and Potential diseases problems associated with cage culture. Fish Cage Culture Technology, N1FFR Training Series No. I. 87-104.
79. Palikova M., J. Mare‰, J. Jirasek : Characteristics of Leukocytes and Thrombocytes of Selected Sturgeon Species from Intensive Breeding. Acta Vet. Brno, 1999, 68: 259–264.
80. Patriche, T., Patriche, N. Bocioc, E., Coada, T., (2011) Normal serum biochemical parameters of juvenile stages the beluga sturgeon (Huso Huso). University „Dunărea de Jos" of GalaŃi, Faculty of Medicine and Pharmacytanti_patriche@yahoo.com

81. Raikova ,E.V.(1984): polipodioz ikry osetrovikh ;In The fresh water fishes ofEurope; Holcik,J (1989) ,vol.1 , part.2, AULA - Verlag Weisbaden publication .
82. Rehulka, J.; Minarik, B.; Vaclav, A.; Rehulkova, E., 2005. Investigation of physiological and pathological level of total plasma protein in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss).J. Aquaculture Research 36, 22-35.
83. Roberts, R. J. (2001). Fish pathology. Second ed. Balliere Tindal. 467p.
84. Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D., Basheer Khan, A., Jevanantham, K., 2010. Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. Comparative Clinical Pathology. 21(3), 275-281.
85. Sepulveda, M.S.; Sutton, T.M.; Patrick, H.K. & Amberg, J.J., 2012. Blood Chemistry Values for Shovelnose and Lake Sturgeon. Journal of Aquatic Animal Health 24:135- 140.
86. Shchelkunov IS1, Shchelkunova TI, Shchelkunov AI, Kolbassova YP, Didenko LV, Bykovsky AP., 2009, First detection of a viral agent causing disease in farmed sturgeon in Russia., Dis Aquat Organ., 9;86(3):193-203.
87. Shreedevi S. Hakiman & J.L.Rathod.2011., Isolation and enumeration of bacterial flora in false trevally, Lactarius lactarius of karwar, cnteral west coast of India. Indian jurnal of geo marine Science Vol. 40 (4), Auguste 2011, pp. 583-586.
88. Soltani, M. (1998) Microbial infections of Iranian aquaculture. Nordic Veterinary Congress, Helsinki, Finland, 4-7 Aug., 1998, p.334.
89. Stoskope, M. K., 1993. Fish Medicen. W. B. Saunders Company, London, England. pp.132-148.
90. Tietz, N.W., 1986. (ed) Textbook of Clinical Chemistry W.B., Saunders,p.579
91. Watson, L.R., Milani, A., Hedrick, R.P. 1998. Effects of water temperature on experimentally-induced infections of juvenile white sturgeon (Acipenser transmontanus) with the white sturgeon iridovirus (WSIV) [J]. Aquaculture, 166: 213–228.
92. Willoughby, I.G., 1994. Fungi and Fish Diseases. Pisces Press. Stirling, Scotland.
93. Yousefi, M., Abtahi, B., Abdian Kenari, A., 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (Huso huso, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. Comparative Clinical Pathology. 21(5), 1043-1048.
94. Yousefian Mehdi, Sheikholeslami Amiri, Mojtaba., Kor Davood (2011). Serum Biochemical Parameter of Male, Immature and Female Persian Sturgeon (Acipencer persicus).
95. Zaharia. T. Dumitrescu., T. Disease (2010) detected at sturgeon reared in fresh and salt water. National institute for marin research and development. Grigore Antipa, Constanta, Romania.

Abstract

Considering the significance of sturgeon rearing and producing the meat and caviar which are one of the most development programs in aquaculture, it is necessary to investigate on hygiene condition of rearing environment to gather information about current rearing condition and to adopt the best method for prevention of disease and treatment in sturgeons. This study carried out on 3000 species of farmed *Huso huso*, before and after transferring to cage, during 7 months from 2011.6.7 to 2012.1.10. Before introducing stock to cage, 100 fingerlings randomly selected and no signs of disease observed. Study on parasites showed that before releasing of fingerlings, *Trichodina Sp.* found in gill and skin with 40% frequency and mean intensity of 20±1.71. During study in sea environment, no parasites observed in gill, skin and gut. Bacterial investigation showed that total bacteria in rearing water of concert tanks, fish gills and skin is 5.80-5.84 Log cfu ml^{-1}, 3.28-3.41cfug^{-1} and 5.36-5.58 cfu $(cm^2)^{-1}$. The range of bacterial count in water of sea environment, skin and gill was 3.97-5.92 Log cfu ml^{-1}, 3.74-5.41 cfu $(cm^2)^{-1}$ and 2.01-3.40 cfug^{-1}, respectively. Before and after releasing, the bacteria isolated from fish and rearing water include *Enterobacteriaceae, Aeromonas sp., Pseodomonas sp., Acinetobacter sp., Staphylococcus, Halomunas sp. and Shewanella sp*. Furthermore, in fungal examinations, the total fungi in rearing water of concert tanks, gill and skin of fingerlings was 12.66-18 cfu ml^{-1}, 2.66-4 cfug^{-1},5.33-8.66 cfu$(cm^2)^{-1}$, respectively. Fungal count in rearing water of sea environment was 22-52.5 ml^{-1}. It was 13-35.41$(cm^2)^{-1}$ and 8-23.50 cfug^{-1} in skin and gill.

The fungal flora that isolated from the fish and rearing water, were *Cladosporium sp., Penicillium sp., Mucor sp., Aspergilus sp.* and *Yeasts* before and after releasing. Some factors of fish blood serum such as total protein, albumin, blood cholesterol, triglyceride, glucose, magnesium and calcium of the sea water and freshwater determined and compared.

In sea water and fresh water farming conditions, the mean RBC (1102500 ,1067500), WBC (24916.67 , 20625) and White blood cell differential count including Neutrophils (19.41 , 21.25), Eosinophils (5.08 ,4) Lymphocytes (72.75, 71.25) and Monocytes (2.75 , 3.5) were determined. As well as Hematocrit (20.17, 23.75), Hemoglobin (4.34, 4.27), MCV (783.06, 22.79), MCH (39.42, 39.43) and MCHC (21.69, 17.77) Calculated. The fish blood serum factors including Total protein (1.80, 2.89), Albumin (0.55, 7.89), Cholesterol (70.16, 76.92), Triglyceride (615.74, 330.04), Glucose (64.32, 51.90), Magnesium (9.12, 9.51) and Calcium (5.37, 14.84) were determined and compared in sea water and fresh water, respectively. According to results, significant differences observed in albumin and calcium rate in fishes of freshwater and triglyceride in fishes of sea water ($P<0.05$). Moreover, the mentioned serum factors, showed significant differences during various months ($P<0.05$). Examination of 240 fishes showed 10.41% of them had hemorrhage in scutes. Also, investigation on internal organs in reared fish after autopsy showed 40% of them had degeneration of fatty liver. Generally, despite occurrence of some skin sores and fatty liver in the sampled fishes, no infectious disease that led to mortality have not been observed and the fishes which reared in cage had relatively satisfactory health condition.

Key words: Sea, *Huso huso*, Hygiene condition, Rearing, Floating Cages

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – International Sturgeon Research Institute

---

Project Title : Survey on health status of Cage-culture Sturgeon fishes in the Caspian Sea
Approved Number: 14-86-12-9051-90003
Author: Jalil Jalil Pour Roudkoli
Project Researcher : Jalil Jalil Pour Roudkoli
Collaborator(s) *:* Mehdi Masoumzadeh, Mehdi Alizadeh, Soheil Bazari Moghaadm, Alireza Shenavar Masouleh, Ali Hallajian, Mohade ghasemi,B.Ramazani,K.Mehdi nezhad
Advisor(s): -
Supervisor:Mohmmad Reza Mehrabi
Location of execution : Guilan province
Date of Beginning : 2011
Period of execution : 1 Year & 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 - International Sturgeon Research Institute

Project Title :

Survey on health status of Cage-culture Sturgeon fishes in the Caspian Sea

Project Researcher :

Jalil Jalil Pour Roudkoli

Register NO.

49629