



## آلودگی ماهی کپور علفخوار به ارگانیسیم‌های

### شبیه آنروموناتس‌های متحرک

فریبا اسماعیلی - رحیم بیغان

مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران

بخش بیماریهای آبزیان، مرکز تحقیقات شیلاتی استان خوزستان - اهواز، صندوق پستی ۶۱۳۳۵

### چکیده

در سال ۱۳۷۲ در طول یک دوره پرورش ۶۶ عدد ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) به آزمایشگاه بیماریهای آبزیان منتقل شد. از این تعداد ۴۲ ماهی بظاهر سالم و بقیه ماهیان دارای علائمی از قبیل تیرگی پوست، کنده شدن فلس‌ها، خونریزی نقطه‌ای و خطی در زیر فک پایینی، سرپوش آبششی، امتداد شکم و سینه ماهی، قرمزی محل اتصال باله‌های شکمی و سینه‌ای به بدن، التهاب و قرمز بودن مخرج، لکه خونی و خونریزی در چشم و قرمزی در سطح داخلی سرپوش آبششی، خونریزی در عضلات، متورم بودن روده‌ها که گاهی حاوی چرک سفید مایل به زرد بود، در بعضی موارد خوردگی باله و رنگ پریدگی کبد به چشم می‌خورد.

مطالعات میکروبیولوژیکی و کشت باکتریایی، از اندامهای آبششی، کلیه و کبد ماهیان به ظاهر سالم و بیمار نشان داد که تعدادی از هر دو گروه ماهیان، آلوده به ارگانیسیم‌های باکتریایی شبیه آنروموناتس‌های متحرک بودند، بطوریکه نژادهایی از این گونه باکتریها از اندامهای داخلی (کلیه و کبد) و بافت آبششی جداسازی گردیدند. این مطالعه نشان می‌دهد که این گونه ارگانیسیم‌ها می‌توانند موجب بروز برخی تلفات در کارگاههای پرورشی امور باشند.



## مقدمه

آئروموناس‌ها از باکتریهای گرم منفی، میله‌ای و کوتاه ( $۱.۴ \times ۰/۵.۱$ ) میکرومتر) بوده که متعلق به خانواده ویبریوناسه می‌باشند. در سال ۱۹۸۶ کائول و همکاران این باکتری‌ها را در خانواده جدیدی به نام آئروموناداسه دسته‌بندی کردند (Austin, Austin, 1987 & Frerichs, Millar, 1993). آئروموناس‌های بیماری‌زا در ماهیان به دو گروه متحرک و غیرمتحرک دسته‌بندی می‌شوند که گروه‌های متحرک این جنس شامل گونه‌های آئروموناس هیدروفیلا (نام مشابه آئروموناس لیکوفاسینس یا آئروموناس پونکتاتا)، آئروموناس سوپریا، آئروموناس کاویا (نام مشابه آئروموناس هیدروفیلا زیر جنس آن اروجنز) می‌باشد (Farkas & Olah ; Buchanan & Gibbson , 1974 , Farkas & Olah , 1982 ; Frerichs & Millar , 1993). این باکتریها به دلیل تحمل تغییرات وسیع دما و pH می‌توانند در دمای  $۴-۴۵^{\circ}\text{C}$  و pH  $۵/۲-۹/۸$  یافت شوند (Farkas & Olah , 1982). این باکتریها عمدتاً در محیطهای آب شیرین به صورت بخشی از فلور نرمال محیطهای آبی و ماهیان یافت می‌شوند، بطوریکه از عوامل عمده فلور باکتریایی حفره گوارشی و سطح بدن ماهی‌ها می‌باشند (Farkas et al. , 1982 و مخیر ، ۱۳۶۷).

در سال ۱۹۷۸ هازن و همکارانش از ۹۲ درصد ماهیهای مورد آزمایش توانستند باکتری آئروموناس هیدروفیلا را جدا کنند. طی یک مطالعه سه ساله، Farkas & Olah , 1982 موفق شدند آئروموناس هیدروفیلا را از حفره گوارشی و رشته‌های آبششی و از بافت کلیه ماهیان کپور معمولی بیمار جدا نمایند. آئروموناس هیدروفیلا و سوپریا از گونه‌های بیماری‌زا در ماهی هستند (Lallier et al., 1980 ; Boulanger et al., 1977 ; M. Grizzle and Kiryu , 1993). آئروموناس هیدروفیلا از ماهیان مبتلا به آب آوردگی و ورم شکم (dropsy)، زخم‌های پوستی و عضلانی و سپتی سمی‌های هموراژیک جدا شده است (Ansary et al., 1992).

بیماریهای توأم با زخم که در اثر آئروموناس بوجود می‌آید اغلب مرگ و میر بالایی را سبب می‌شود. سپتی سمی آئروموناس‌های متحرک می‌تواند در سه شکل حاد و مزمن و حاملین وجود داشته باشد (Cipriano et al., 1984 ; M. Grizzle and Kiryu , 1993).

مطالعه حاضر ضمن تعیین عامل بروز بیماری در تعدادی از ماهیان امور پرورشی در استان خوزستان، موارد آلودگی تعدادی از ماهیان بظاهر سالم به ارگانسیم‌های شبیه به آئروموناس‌های



متحرک را ارائه می‌نماید.

## مواد و روشها

۶۶ عدد ماهی زنده با میانگین طولی ۲۴/۳۷ سانتیمتر و میانگین وزنی ۳۵۳/۷۲ گرم به آزمایشگاه بیماریهای آبزیان منتقل شدند. از این تعداد ۴۲ ماهی بظاهر سالم (از نظر بالینی فاقد علائم خاصی بودند) و ۲۴ ماهی بیمار دارای علائم تیرگی پوست، کنده شدن فلس‌ها، خونریزی‌های نقطه‌ای و خطی زیر فک پایینی، سرپوش آبششی، امتداد شکم و سینه ماهی، قرمزی محل اتصال باله‌های شکمی و سینه‌ای به بدن، التهاب و قرمزی مخرج، داشتن لکه خونی یا خونریزی در اتاقک قدامی چشم، خونریزی و قرمزی در سطح داخلی سرپوش آبششی، خونریزی عضلانی، تورم روده (گاهی حاوی چرک سفید مایل به زرد) بودند. در بعضی موارد خوردگی باله، رنگ پریدگی آبششها و رنگ پریدگی کبد به چشم می‌خورد. این ماهیان به روش قطع نخاعی بیهوش و در شرایط آسپتیک ابتدا بخشی از اندامهای کلیه، روده، کبد، آبشش را کشت میکروبی داده و سپس گسترش مرطوب و گسترش رنگ آمیزی گرم تهیه گردید. محیطهای کشت مورد استفاده عبارت از تریپتون سویا آگار (Oxoid) و ژلوز خوندار (Oxoid) حاوی ۵ تا ۷ درصد خون گوسفند بوده و پلیتها در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند.

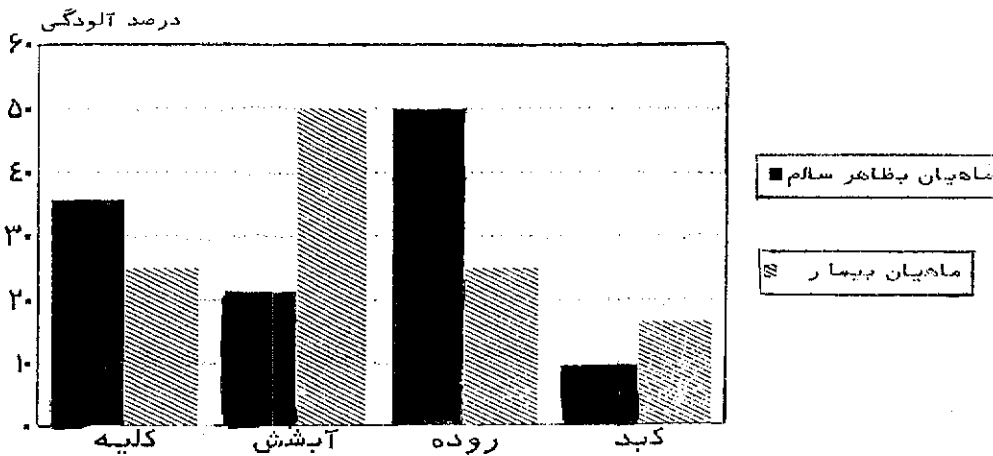
کشتهای ثانویه به منظور خالص سازی پرگنه‌های رشد یافته روی محیط تریپتون سویا آگار انجام و سپس با اجراء آزمایشهای زیر اقدام به شناسایی ارگانیسیم‌های جداسازی شده گردید: تست حرکت، سیمون سترات، دکربوکسیلاسیون لیزین، اوره، تولید سولفید هیدروژن، تولید اندول، فعالیت متیل رد، ذوب ژلاتین، کاتالاز، اکسیداز، ایجاد گاز از گلوکز، فعالیت و وگس پروسکور، تخمیر قندهای گلوکز، مانیتول، سوکروز، سالیسین، اکسیداسیون و تخمیر گلوکز. بعلاوه رشد ارگانیسیم‌ها در دمای ۵ و ۳۷ درجه سانتیگراد نیز مطالعه شد.

## نتایج و بحث

نتایج میزان آلودگی بافتهای مختلف هر دو گروه ماهیان به ظاهر سالم و بیمار در شکل ۱ آمده است. در ماهیان به ظاهر سالم بافتهای روده، کلیه، آبشش و کبد به ترتیب بیشترین درصد آلودگی



را نشان دادند در حالیکه در ماهیان بیمار بافت‌های آبشش، کلیه، روده و کبد به ترتیب بالاترین درصد آلودگی را داشتند. نتایج آزمایش‌های باکتری شناسی در تعیین نوع آلودگی در جدول ۱ آمده است. این نتایج نشان می‌دهد که نژادهای ارگانسیم‌های جدا شده از هر دو گروه ماهیان به ظاهر سالم و بیمار دارای مشخصات یکسان بوده و شامل ارگانسیم‌های گرم منفی میله‌ای بودند بطوریکه می‌توان آنها را در گروه باکتریهای شبیه آئروموناس‌های متحرک قرار داد (Austin and Austin, 1987; Frerichs and D. Millar, 1993).



شکل ۱: نمودار آلودگی بافت‌های مختلف ماهیان بظاهر سالم و بیمار به ارگانسیم‌های شبیه آئروموناس‌های متحرک

برای تعیین دقیق‌گونه این باکتریها به مطالعات بیشتری نیاز است. آئروموناس‌های متحرک بیماری‌زا در ماهیان عمدتاً در گونه‌های آئروموناس هیدروفیلا، آئروموناس سوبریا، آئروموناس کاویا قرار می‌گیرند این ارگانسیم‌ها همچنانکه قبلاً اشاره شد بخشی از فلور طبیعی اندامهایی مانند آبشش، پوست و روده ماهیان می‌باشند که در شرایط استرس‌زا بیماری‌زا می‌شوند، در این مطالعه علاوه بر این اندامها بافت‌های کلیه و کبد تعدادی از ماهیان به ظاهر سالم و بیمار آلودگی داشتند. اگرچه ماهیان به ظاهر سالم فاقد علائم بالینی خاصی بودند ولی نتایج آزمایش‌های میکروبی نشان داد که تعدادی از این ماهیان در مرحله یک عفونت مزمن بوده و نقش حاملین را ایفاء می‌نمودند. این مطالعه نشان می‌دهد که ماهی‌آمور پرورشی در استان خوزستان نسبت به



اینگونه ارگانیسیم حساس بوده بطوریکه در شرایط بروز استرس و عدم مدیریت صحیح ارگانیسیم‌هایی از این گونه قادر به ایجاد خسارات عمده در مزارع پرورشی استان خواهند شد. بیماری زایی این باکتری‌ها بصورت ثانویه یا اولیه با نتایجی که از بررسی علل مرگ و میر امور در استان خوزستان بدست آمد مورد بحث است (پیغان و همکاران، ۱۳۷۳) و لذا مطالعات بیشتری نیاز دارد تا نقش واقعی این ارگانیسیم‌ها را در تلفات وارده بر این گونه ماهی در استان خوزستان را تعیین نماید.

جدول ۱: نتایج آزمایشات باکتری‌شناسی مربوط به ارگانیسیم‌های جدا شده از بافتهای مختلف ماهیان بیمار و بظاهر سالم

کبد	روده	آبشش	کلیه	اندام تست
+	+	+	+	کاتالاز
+	+	+	+	اکسیداز
-	-	-	-	اوره
+	+	+	+	تخمیر گلوکز
+	+	+	+	تولید گاز از گلوکز
+/+	+/+	+/+	+/+	اکسیداسیون-تخمیر گلوکز
+	+	+	+	حرکت
+	+	+	+	تخمیر سوکروز
d	d	d	d	تولید سولفیت
d	d	d	d	تخمیر مانیتول
d	d	d	d	تخمیر سالیسین
d	d	d	d	حلقه اندول
-	-	-	-	دگر یوکسیلاسیون لیزین
d	d	d	d	سیمون سپترات
d	d	d	d	وگس پروسکور
d	d	d	d	هیدرولیز ژلاتین
d	d	d	d	متیل رد
+	+	+	+	رشد در ۵°C
+	+	+	+	رشد در ۳۷°C



## تشکر و قدردانی

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند تا از برادران دکتر مغینمی و مهندس مرمضی که در شکوفایی و رشد ابعاد علمی تلاش فراوان داشته‌اند، مهندس عباسی سرپرست بخش بیماریهای آبزیان، همکاران محترم بخش بیماریهای آبزیان برادران گر، مهندس مرتضایی، دکتر تمجیدی و سرکار خانم مهندس داودی که همکاری دلسوزانه داشته‌اند، تشکر و قدردانی نمایند.

همچنین بدینوسیله از آقای دکتر جمشیدیان استاد ارجمند که در تمام مراحل کاری از راهنمایی‌های ارزنده‌شان استفاده نمودیم، آقای دکتر سلطانی که با نظرات با ارزش خود راهنمای این تحقیق بودند و از سرکار خانم صفیه امیرجانی که در تایپ مقاله همکاری نمودند نیز تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

- پیغان، ر. عباسی، س. اسماعیلی، ف. ۱۳۷۳. پروژه بررسی علل مرگ و میر ماهیان آمور در استان خوزستان. مرکز تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۵۶ ص.
- مخیر، ب. ۱۳۶۷. بیماریهای ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۶۹ ص.
- Ansary, A. ; Haneef, R.M. ; Torres, J.L. and Yadav, M. , 1992.** Plasmids and antibiotic resistance in *Aeromonas hydrophila* isolated in Malaysia from healthy and diseased fish, *Journal of fish Diseases*, 15:191-196
- Austin, B. and Austin, D.A. , 1987.** Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood, Chichester 36pp
- Boulanger, Y.R. ; Lallier, and Cousineau , G. , 1977.** Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish. *Canadian Journal Microbiology* 23:1161-1164



- Buchanan, R.E. and Gibbson, N.F., 1974.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore
- Cipriano, R.C. ; Bullock, G.L. and Pyle, S.W. , 1984.** *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. U.S. fish and wildlife service, fish Disease leaflet 68
- Colwell, R.R. ; Macdonnell, M.T. and Deley, J. , 1986.** Proposal to recognise the family Aeromonadaceae fam. Nov. International Journal of Systematic Bacteriology 36, 473-477
- Farkas, J. and Olah, J. , 1982.** Occurrence of bacteria of *Aeromonas hydrophila-punctata* group in common carp and sheatfish. Aquaculture Hungarica Szarvas. Vol. 3:93-98
- Farkas, J. ; Olah, J. and Szecsi, E. , 1982.** Antibiotic sensitivity of bacteria isolated from water and fish. Aquaculture Hungarica (Szarvas). Vol. 3:85-92
- Frerichs, G.N. and D. Millar, S. , 1993.** Manual for the isolation and identification of fish bacterial pathogens, Pisces Press. Stirling. pp:60
- Hazen, T.C. ; Flierman, C.B. ; Hiech, P.R. and Esch, W.G. , 1978.** Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. Appl. Environ. Microbiol., 36:731-738
- Lallier, R. ; Boulanger, Y. and Oliver, G. , 1980.** Difference in virulence of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* in Rainbow trout. Progressive Fish Culturist, 42:199-200



M. Grizzle, J. and Kiryu, Y. , 1993. Histopathology of gill, liver and pancreas and serum enzyme levels of channel catfish infected with *Aeromonas hydrophila* complex. Journal of Aquatic Animal Health, 5:36-50