وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

بررسی شاخص‌های بهداشتی بچه ماهیان ازون برون در شوری‌های مختلف آب دریای خزر

مجری:
مهدی معصوم زاده

شماره ثبت
٦٤٣٩٠

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/پروژه: بررسی شاخص‌های بهداشتی بچه ماهیان ازون برون در شوری های مختلف آب دریای خزر
کد مصوب: ۹۸۰۱۵٤-۰۰۹-۱۲-۳۲-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: مهدی معصوم زاده
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -
نام و نام خانوادگی مجری: مهدی معصوم زاده
نام و نام خانوادگی همکار(ان): مهدی علیزاده رودپشتی، اسماعیل حسین نیا، محدث قاسمی، علی حلاجیان، علیرضا شناور ماسوله، جواد صیادفر، مجید پورصفر طبالوندانی، جلیل جلیل پور رودکلی، سهیل بازاری مقدم، ذبیح الله پژند، علیرضا عاشوری، فروزان باقرزاده لاکانی، مجتبی آبیار، محمود فلاح شجاعی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان گیلان
تاریخ شروع: ۱۳۹۸/۵/۱
مدت اجرا: ۲ سال و ۸ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱٤۰۲
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی شاخص‌های بهداشتی بچه ماهیان ازون برون در شوری‌های مختلف آب دریای خزر

کد مصوب : ۹۸۰۱۵٤-۰۰۹-۱۲-۳۲-۲

شماره ثبت (فروست) : ٦٤۳۹۰ تاریخ : ۱٤۰۲/۸/۱٦

با مسئولیت اجرایی جناب آقای مهدی معصوم زاده دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته دامپزشکی است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان در تاریخ ۱۴۰۲/۷/۳۰ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد ☐ پژوهشکده ☐ مرکز ■ ایستگاه ☐

با سمت محقق غیر هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۳
۱-۱- تاسماهیان ۳
۱-۱-۱- ماهی ازون برون (دراکول -تاس ماهی ستاره ای) *Acipenser stellatus* ۵
۱-۲ - پرورش ماهیان خاویاری در آب لب شور و مزایای آن ۵
۱-۳- تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی آب در پیشگیری و ایجاد بیماری در آبزیان ۶
۱-۴- عوامل بیماریزای شناسایی شده در ماهیان خاویاری پرورشی در آب شیرین و لب شور ۷
۱-۵- اهداف تحقیق ۸
۲- مواد و روش کار ۹
۲-۱- مواد مورد استفاده ۹
۲-۱-۱- مواد مصرفی ۹
۲-۱-۲-مواد غیر مصرفی ۹
۲-۲- تشکیل گروه های تیمار و نگهداری بچه ماهیان ازون برون ۹
۲-۳-مطالعات میکروب شناسی، انگل شناسی و قارچ شناسی ۱۰
۲-۳-۱- مطالعات انگل شناسی ۱۰
۲-۳-۲- مطالعات باکتری شناسی ۱۱
۲-۳-۳- مطالعات قارچ شناسی ۱۲
۲-۴- مطالعات آسیب شناسی ۱۳
۲- ۵- روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها ۱۵
۳- نتایج ۱۶
۳-۱-بررسی بچه ماهیان ازون برون پس از تیماربندی در شوری های مختلف ۱۶
۳-۱-۱-مطالعات باکتری شناسی ۱۷
۳-۱-۲- مطالعات قارچ شناسی ۱۸
۳-۱-۳- مطالعات آسیب شناسی ۲۰
۴-بحث و نتیجه گیری ۳۲
۴-۱- وضعیت ظاهری ماهیان ۳۲

۴-۲- باکتری شناسی ۳۳
۴-۳-قارچ شناسی ۳۵
۴-۴- انگل شناسی ۳۷
۴-۵- مطالعات آسیب شناسی ۳۸
۴-۵-۱- مطالعات آسیب شناسی آبشش ۳۸
۴-۵-۲- مطالعات آسیب شناسی روده ۴۰
۴-۵-۳- مطالعات آسیب شناسی کبد ۴۱
۴-۵-۴- مطالعات آسیب شناسی کلیه ۴۲
پیشنهادها ۴۴
منابع ۴۶
چکیده انگلیسی ۵۲

عنوان	«فهرست جداول»	صفحه

جدول ۱ ـ وضعیت آلودگي انگلي بچه ماهیان خاویاری در شوری های مختلف..... ۱۷
جدول ۲- مقایسه میانگین شمارش کل قارچی آب پرورشی و پوست بچه ماهیان..... ۱۸
جدول ۴ - فلور قارچی جداسازی شده از آب ۲۰

عنوان	«فهرست اشکال»	صفحه

شکل۱- بررسی میکروسکوپی لام های مرطوب جهت انجام مطالعات انگل شناسی ۱۰
شکل۲- تهیه کشت های باکتریایی از روده بچه ماهیان ازون برون ۱۲
شکل۳- تهیه کشت های قارچی از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون ۱۳
شکل۴ - نمونه برداری از آبشش بچه ماهیان ازون برون جهت انجام مطالعات آسیب شناسی ۱۴
شکل۵- برش نمونه های بافتی تهیه شده از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون با استفاده از میکروتوم ۱۴
شکل ۶- رنگ آمیزی اسلایدهای بافتی تهیه شده از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون ۱۵
شکل ۷- نگهداری بچه ماهیان تیمارهای مختلف شوری در تشتک های ۵۰ لیتری ۱۶
شکل ۸ - مشاهده چسبندگي رشته هاي ثانويه(F)، جدا شدن لايه اپيتليوم رشته هاي ثانويه و نكروز سلولي(N) (20x- H&E) ۲۱
شکل ۹ - مشاهده خونریزی(H) و نکروز سلولي (N) (40x-H&E) ۲۱
شکل ۱۰ - مشاهده خونریزی(H) و نکروز سلولي (N) (20x-H&E) ۲۲
شکل ۱۱ - مشاهده چسبندگی رشته های ثانویه آبشش(F)، رسوبات هموسیدرین(He) ،تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش و نکروز سلولي(N) (40x- H&E) ۲۲
شکل ۱۲ - فضای لامنیا پروپریا (LP) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X) ۲۳
شکل ۱۳- طول چین روده‌ای (فلش بلند) و پرزهای میکرویلی(MV) (H&E 20X) ۲۴
شکل ۱۴-طول چین روده (پیکان بلند)، فضای لامینا پروپریا، پرزهای میکرویلی(MV) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X) ۲۴
شکل ۱۵ - طول چین روده (پیکان بلند)، طبقه زیر مخاطی(SM)، طبقه ی عضلانی (MM)، انبساط فضای لامینا پروپریا، پرزهای میکرویلی (MV) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X) ۲۵
شکل ۱۶ - طبقه زیر مخاطی(SM)، طبقه ی عضلانی (MM) و پرزهای میکروویلی(MV) (H&E, 20X) ۲۵
شکل ۱۷ - طول چین روده (پیکان بلند)، طبقه ی عضلانی (MM) و پرزهای میکروویلی(MV) (H&E, 20X) ۲۶
شکل ۱۸ - غده های روده ای(Gi) (H&E, 20X) ۲۶
شکل ۱۹ - نکروز سلولي در کبد (N) (x۰20، H&E) ۲۷
شکل ۲۰ - رکورد صفراوی (Br)، دژنرسانس چربی(D) و نکروز سلولي در کبد (N) (x40، H&E) ۲۸
شکل ۲۱- اتساع سینوزوئید (SD) و نکروز سلولي در کبد (N) (x40، H&E) ۲۸
شکل ۲۲- اتساع سینوزوئید (SD)، رکود صفراوی(Br) و نکروز سلولي در کبد (N) (x40، H&E) ۲۹
شکل ۲۳- خونریزی (H) و نکروز سلولي در کلیه (N) (x40، H&E) ۳۰
شکل ۲۴- مشاهده اتساع فضای گلومرولی(IG) و نکروز سلولي پروکسیمال و دیستال در کلیه (N) (x20، H&E) ۳۰
شکل ۲۵- مشاهده نکروز سلولی در کلیه (N) (x40، H&E) ۳۱

عنوان	«فهرست نمودارها»	صفحه

نمودار ۱ - میانگین شمارش باکتریایی روده در محیط کشت TSA..... ۱۸
نمودار ۲- مقایسه میانگین شمارش کل عوامل قارچی آب پرورشی و پوست بچه ماهیان ۱۹

چکیده

افزایش جمعیت جهان و در نتیجه افزایش تقاضای دسترسی به پروتئین با منشاء آبزیان از یک سو و کاهش منابع آب شیرین لزوم استفاده از منابع آب شور و لب شور جهت پرورش گونه های مختلف آبزیان از جمله ماهیان خاویاری را اجتناب ناپذیر نموده است. با توجه به این مهم ضروری است تاثیرات مقادیر مختلف شوری بر روی آبزیان پرورشی از جمله ماهیان خاویاری از جهات مختلف مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به اهمیت بررسی شاخص های بهداشتی گونه های پرورشی در شرایط مختلف در این تحقیق تلاش گردیده است نسبت به ارزیابی وضعیت بهداشتی بچه ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) نگهداری شده در ٤ محدوده شوری ۰/۵-۰ ppt، ٤- ۰/۵ ppt، ٤-۹ ppt و ۱۳-۹ ppt اقدام گردد. جهت انجام این مطالعه تعداد ۳٦۰ عدد بچه ماهی ازون برون حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی که فاقد هرگونه علائم بیماری، ناهنجاری و جراحات جلدی بودند به ایستگاه تحقیقاتی آب لب شور انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری منتقل و نسبت به معرفی ۳۰ عدد بچه ماهی ازون برون به هر یک از تکرارهای سه گانه گروه های تیمار شامل شوری ۰/۵-۰ ppt، ٤- ۰/۵ ppt، ٤-۹ ppt و ۱۳-۹ ppt اقدام و پس از گذشت یک ماه از سازگاری بچه ماهیان در شوری های مورد بررسی در این مطالعه نسبت به نمونه برداری و زیست سنجی و انجام مطالعات انگل شناسی، باکتری شناسی و قارچ شناسی بر اساس روش‌های استاندارد اقدام گردید. همچنین به منظور ارزیابی تاثیرات شوری‌های مختلف بر روی اندام‌های حیاتی بچه ماهیان مورد بررسی، نسبت به نمونه برداری و آماده سازی نمونه هایی از آبشش، روده، کبد و کلیه بچه ماهیان ازون برون از گروه های تیمار جهت انجام مطالعات آسیب شناسی اقدام گردید. در این مطالعه با توجه به عدم مشاهده نشانه های بیماری‌های ویروسی نسبت به نمونه برداری و انجام مطالعات ویروس‌شناسی اقدام نگردید. بر اساس نتایج زیست سنجی بچه ماهیان در گروه های مورد مطالعه در محدوده وزنی ۵ تا ۱۰ گرم قرار داشتند همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعات انگل‌شناسی انجام شده، از پوست و آبشش بچه ماهیان ازون برون در تیمارهای مختلف تنها انگل تک یاخته ای مژکدار *Trichodina* sp. جداسازی و شناسایی گردید. نتایج مطالعات انگل شناسی در این بررسی نشان داد اختلاف معنی‌داری بین مقادیر شیوع و شدت انگل *Trichodina* sp. جداسازی شده از بچه ماهیان ازون برون در تیمارهای مختلف مشاهده می گردد ($P<0.05$) و با افزایش میزان شوری آب تعداد انگل‌های *Trichodina* sp. در ماهیان ازون برون کاهش می‌یابد. بر اساس نتایج مذکور بیشترین و کمترین درصد شیوع انگل *Trichodina* sp. به ترتیب در تیمارهای شوری ۰/۵ -۰ ppt با ٦٦/۷ درصد و در هر یک از تیمارهای ۹-٤ ppt و ۱۳-۹ ppt با ۱۱/۱ درصد مشاهده گردید. در مطالعه حاضر با توجه به عدم مشاهده زخم و جراحت خارجی نسبت به تعیین فلور باکتریایی روده بچه ماهیان ازون برون در گروه های تیمار اقدام گردید که بر اساس نتایج حاصل مشخص گردید فلور باکتریایی روده بچه ماهیان ازون برون نگهداری شده در آب لب شور با آب شیرین متفاوت بوده و با افزایش میزان شوری تنوع فلور باکتریایی کاهش می یابد اما بر میزان جمعیت باکتری های شوری پسند اضافه می گردد. نتایج مطالعات قارچ شناسی از کاهش معنی دار ($p<0.05$) در تعداد و تنوع عوامل قارچی با افزایش میزان

شوری آب حکایت نموده و نقش شوری در پیشگیری از آلودگی ماهیان خاویاری به عوامل قارچی که غالبا بصورت ثانویه می باشد را اثبات می نماید.

بر اساس نتایج حاصل از تیمار شوری ۰/۵-۰ ppt تعداد ٦ نوع عامل قارچی و از تیمارهای شوری ۹-٤ ppt و ۱۳-۹ ppt تعداد ٤ نوع عامل قارچی شناسایی گردید.

بررسی اسلایدهای تهیه شده از مقاطع بافتی آبشش، کبد و پوست ماهیان ازون برون نمونه برداری شده از گروه های تیمار که تحت تأثیر مقادیر مختلف شوری قرار داشتند بروز برخی از آسیب‌های بافتی در آبشش نظیر پرخونی، خونریزی، چسبندگی و چماقی شدن رشته های ثانویه، هیپرپلازی، نکروز سلولی، رسوب هموسیدرین و تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش و در روده افزایش سلول‌های جامی شکل، واکوئله شدن اینتروسیت‌ها، افزایش ضخامت پارین بین چین‌های روده‌ای، نکروزی شدن اینتروسیت و پرزهای میکروویلی، پرخونی و رکود صفراوی و در کبد دژنرسانس چربی، هیپرتروفی، پرخونی، خونریزی و نکروز سلولی و در کلیه اتساع فضای گلومرولی، نکروز سلولی، خونریزی، پرخونی و هیپرتروفی سلولی ماهیان تیمار شده در شوری‌های مختلف مورد بررسی در این مطالعه را نشان داد. بر اساس نتایج مذکور مشخص گردید با افزایش میزان شوری آب آسیب‌های بافتی با شدت و گستردگی بیشتری ایجاد می گردند.

براساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری نمود اگرچه با افزایش میزان شوری آب، شدت و شیوع بسیاری از عوامل بیماریزای آلوده‌کننده بچه ماهیان خاویاری کاهش می‌یابد اما با توجه به بروز آسیب‌های بافتی در شوری‌های بالا باید سازگاری آنها جهت پرورش یا رهاسازی در آب های لب شور تا میزان شوری دریای خزر به تدریج و از شوری های پایین صورت گیرد.

کلمات کلیدی: ماهیان خاویاری، شوری، انگل شناسی، باکتری شناسی، قارچ شناسی، آسیب شناسی

۱- مقدمه

کاهش روز افزون ذخایر ماهیان خاویاري لزوم تکثیر و پرورش ماهیان مذکور با هدف بازسازی و احیاء ذخایر و نیز تامین نیاز مصرف کنندگان از ماهیان مذکور را اجتناب ناپذیر نموده است. از مهمترین عوامل تهدید کننده پرورش متراکم ماهیان از جمله ماهیان خاویاری آلودگی آنها به عوامل بیماریزا و در نتیجه بروز تلفات می‌باشد.

لذا ضروری است نسبت به شناسایی عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری و پیشگیری ازابتلا آنها به عوامل بیماریزا و درمان ماهیان بیمار اقدامات ویژه‌ای صورت پذیرد. با توجه به گسترش پرورش ماهیان خاویاری درآب های شیرین به روش‌های متراکم و نیمه متراکم در کشورهای مختلف، مطالعات متعددی در خصوص شناسایی عوامل بیماریزای آلوده‌کننده ماهیان خاویاری و ارزیابی وضعیت بهداشتی آنها در آب شیرین صورت گرفته است که در این خصوص می‌توان به شناسایی گونه‌های مختلف انگل‌های دیپلوستوموم، تریکودینا، ژیروداکتیلوس و دیکلوبوتریوم و گونه‌های مختلف باکتری‌های آئروموناس، یرسینیا، سودوموناس، موراکسلا، کلبسیلا، اسینه توباکتر، انتروباکتریاسه‌ها و گونه‌های ویبریوآنگوئیلاروم و فلکسي باکترکولومناریس و گونه‌های مختلف قارچ‌های ساپرولگنیا، پني‌سیلیوم، فوزاریوم، رایزوپوس، آسپرژیلوس و آلترناریا و همچنین ویروس‌های هرپس ویروس و اریریدوویروس به عنوان شایع‌ترین عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری پرورشی در آب شیرین در کشورهای مختلف از جمله ایران اشاره نمود. همچنین بر اساس گزارش سازمان دامپزشکی کشور تحت عنوان ((برنامه بررسی و مراقبت از بیماری های الویت دار ماهیان دریایی و پرورش ماهی در قفس))' ماهیان خاویاری در مراکز تکثیر در ارتباط با بیماری های ویروسی نکروز عصبی (Viral Nervous Necrosis)' نکروز عفونی بافت‌های خونساز IHN (Infectious Hematopoietic Necrosis)، سپتی‌سمی خونریزی دهنده ویروسی VHS (Viral Heamorhagic Septicemia) و نکروز عفونی پانکراس IPN (Infection Pancreatic Necrosis) باید تحت مراقبت قرار گیرند. در ارتباط با شناسایی عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری پرورشی در آب‌های لب شور در دریاچه ها و آب‌های آزاد مطالعات نسبتا کمی صورت پذیرفته است. غالب مطالعات انجام شده در این خصوص مربوط به ماهیان خاویاری پرورشی جوان بوده و در ارتباط با بچه‌ماهیان اطلاعات اندکی موجود می باشد. با توجه به ضرورت ارزیابی شاخص‌های بهداشتی بچه‌ماهیان خاویاری در طی مدت زمان سازگاری با آب لب‌شور به منظور رهاسازی به دریا و نیز پرورش در قفس‌های مستقر در دریا، نسبت به بررسی و شناسایی فون و فلور انگلی و میکروبی و نیز بررسی آسیب‌های بافتی بچه ماهیان ازون برون در شوری‌های مختلف دریای خزر در قالب طرحی تحقیقاتی اقدام گردید.

۱-۱- تاسماهیان

خانواده تاسماهیان از نظر سیر تکاملی به راسته تاسماهی‌سانان (Acipenseriformes) و به فوق راسته ماهی‌های غضروفی- استخوانی (Chondrostei)، زیر ردهٔ شعاعی باله‌ها (Actinopterygii) و ردهٔ ماهیان استخوانی (Osteichethyes) تعلق دارند که در اواخر دوره دونین از دوران اول زمین شناسی روی زمین پدیدار شدند.

این ماهیان به صورت جنس‌های متعدد از راسته ماهیان سنگواره‌ای دیرینه زیان شکل (Paleoniciform) (که ریزتر و دمی همسان‌تر به دم کوسه ماهیان امروزی داشتند)، مشتق شده‌اند. در اواخر دوره ژوراسیک، دیرینه زیان شکل ها از بین رفتند ولی راسته تاس‌ماهی سانان (acipenseriforms) با سه خانواده به زندگی خود ادامه دادند. ماهی‌های خانواده اول به نام خانواده Chondrostidae که درآغاز دوره ژوراسیک پدیدار شده و شباهت بیشتری به پالئونیسی‌ها 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 (Polyodontidae) با انتشار خود در تمامی نیمکره شمالی باقی مانده و به زندگی خود ادامه می‌دهند (کیوان، ۱۳۸۱). ماهیان‌خاویاری (acipenseriforms) که اغلب ماهیانی رودکوچ (anadromous) و نیمه‌رودکوچ (semi-anadromous) هستند

و برای تخم‌ریزی به رودخانه ها کوچ می کنند، بیش از ۲۰۰ میلیون سال از پیدایش آنها در پهنه گیتی می گذرد و از کهن ترین مهره داران زنده دنیا با عنوان فسیل های زنده هستند. در حال حاضر ۲۷ گونه از ماهیان خاویاری باقی مانده که اغلب در معرض خطر انقراض قرار دارند . تاسماهیان عموماً عمر طولانی دارند و 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)، در رودخانه های اروپا بویژه رودهایی که به اقیانوس اطلس، دریای آدریاتیک و دریای بالتیک می ریزند همچنین در دریای سیاه، آزوف، خزر و آرال و نیز در مناطقی از آسیا که آب رودها به دریاهای Gkhostsk، Berting (بین آلاسکا و سیبری)، Barent، Kara می ریزند پراکنده هستند. از میان گونه ماهی‌های خاویاری موجود در آب‌های نیم کرهٔ شمالی فقط شش گونه - اما مهمترین آنها - در حوزه دریای خزر زندگی می کنند که یک گونه از آنها به نام استرلیاد ویژه آب های شیرین شمالی این دریا به خصوص رود ولگا بوده و پنج گونهٔ دیگر یعنی تاسماهی روسی، تاسماهی ایرانی، ازون برون، شیپ و فیل ماهی رودکوچ هستند.

بدن ماهیان خاویاری کشیده، دراز، دوکی شکل و پوشیده از پنج ردیف پلاک های استخوانی طولی است که یک ردیف از آنها پشتی، دو ردیف پهلویی و دو ردیف دیگر شکمی می باشد. پوز ه در این ماهی ها کشیده مخروطی و یا کم و بیش پارویی است . بالهٔ دمی ماهیان خاویاری شکافدار و متشکل از دو شاخهٔ نابرابر است که شاخهٔ بالایی بزرگتر از شاخهٔ پایینی است. در این ماهیان ستون مهره ها غضروفی – استخوانی است و در انتهای بدن وارد شاخهٔ بالایی دم می شود. در ماهیان خاویاری دهان استوانه ای و به شکل خرطومی بوده و در زیر پوزه چهار زایده به نام سبیلک روی یک خط عرضی در جلوی دهان قرار دارند. این خانواده به دو زیر خانوادهٔ تاسماهی ها و تاسماهی های پاروبینی تقسیم می شود که وجه تفریق آنها وجود اسپیراکولوم و آبشش کاذب در زیر خانوادهٔ اول است. در زیر خانوادهٔ تاسماهی ها دو جنس فیل ماهی وتاسماهی وجود دارد (سرافراز و اکبریان، ۱۳۸۴).

۱-۱-۱- ماهی ازون برون (دراکول -تاس ماهی ستاره ای) *Acipenser stellatus*

استلاتوس stellatus به معنی پوشیده شده توسط ستاره است. پوزه ماهی ازون برون خیلی دراز (۶۵-۵۹ درصد طول سر) از بالا به پایین فشرده است. تعداد قابل ملاحظه ای از صفحات ستاره ای شکل در پهلوهای این ماهی پراکنده می باشد . سبیلک های آن کوتاه و فاقد کرک می باشند. این گونه دارای دو شکل شمالی و جنوبی می باشند. ماهی دراکول در دریای خزر' دریای آزوف و دریای سیاه زندگی می کند ولی از نظر فراوانی دریای خزر یستگاه اصلی آن محسوب می شود. مولدین ماهی ازون برون برای تخمریزی و زاد و ولد به آب های خیلی شیرین که بستر آنها از گل و لای پوشیده باشد تمایل زیادی نشان می‌دهد. محدوده طولی و محدوده وزنی آنها از فیل ماهی و تاسماهی روسی کمتر است. از نظر عادات غذایی ماهیان جوان‌تر از سخت پوستان و ماهیان بزرگ‌تر بیشتر از ماهیان دیگر تغذیه می کنند. سن بلوغ در جنس نر ۱۳-۱۱ سال و در جنس ماده ۱۷- ۱۴ سال می باشد (سرافراز و اکبریان، ۱۳۸۴).

۱-۲ - پرورش ماهیان خاویاری در آب لب شور و مزایای آن

امروزه در بسیاری از نقاط جهان گونه‌های مختلفی از ماهیان در آب‌های لب شور دریاچه‌ها و آب‌های آزاد درون محیط‌های محصور (قفس و پن) پرورش در داده می‌شود. در ایران نیز طی دو دهه اخیر پرورش ماهی در محیط های محصور در دریای خزر و خلیج فارس انجام شده است. دریای خزر به عنوان بزرگترین دریاچه جهان زیستگاه ۵ گونه از ماهیان خاویاری می باشد که بیشترین دوره زندگی خود را به جز مدتی که قبل از زمان تکثیر و تخم‌ریزی وارد رودخانه‌ها می‌گردند در آب لب شور آن سپری می‌نمایند. اگرچه به دلیل قدرت بالای سازگاری ماهیان خاویاری پرورش تمام دوره‌ای این ماهیان در اقلیم‌های مختلف در آب شیرین صورت می‌گیرد اما نتایج مطالعات صورت گرفته در ارتباط با مقایسه پرورش این ماهیان در آب شیرین و لب شور از مزیت پرورش ماهیان خاویاری در آب لب شور به دلیل رشد مناسب حکایت می نماید (پورعلی، ۱۳۸۵). بر اساس نتایج مطالعات انجام شده تاسماهیان با وزن ۱۰ گرم در مقابل تغییرات شوری مقاوم هستند و از وزن ۱۰ تا ۱۵ گرم می توانند بطور مستقیم وارد شوری ۱۲ تا ۱۳ قسمت در هزار گردند (کاکوزا، ۱۳۸۰). در این ارتباط Strautmen وTolokonnikov در سال ۱۹۸۷ ضمن گزارش بازماندگی ۱۰۰ درصدی فیل ماهیان پرورشی در قفس های مستقر در دریای سیاه در شوری۱۴/۶ قسمت در هزار در مرحله عادت دهی به آب لب شور، افزایش وزن ماهیان مذکور طی دو سال را از ۳۲۵ گرم به بیش از ۱۱۸۹ گرم را گزارش نمودند. Kozlov و همکاران در سال ۱۹۹۳ پرورش فیل ماهی در استخرهای خلیج Taganrog دریای ازوف با شوری ۴ تا ۸ گرم در لیتر انجام و میزان تلفات تا ۲۰ درصد را گزارش نمودند. همچنین بر اساس گزارش Bugrov در سال ۱۹۹۹ پرورش فیل ماهی در شوری ۱۳ قسمت در هزار از وزن ۷۰ تا ۳۵۰ گرم با موفقیت همراه بوده است. در ایران پرورش فیل ماهیان پرورشی در خلیج گرگان طی مدت ۱۸ ماه از متوسط وزن ۲۰ گرم تا ۱۴۰۰ گرم صورت پذیرفت (کر، ۱۳۷۷). همچنین دانش خوش اصل و همکاران در سال ۱۳۷۷ مقایسه رشد فیل ماهی در آب چاه و آب لب شور دریای خزر را گزارش نموده اند. نتایج

پورعلی و همکاران (۱۳۸۵) نشان داد فیل ماهیان نگهداری شده در شوری ۸ گرم در لیتر با متوسط وزن ۴۹/۲ گرم طی ۷۱ روز در مقایسه با فیل‌ماهیان نگهداری شده در آب شیرین با وزن و شرایط کاملا مشابه از سرعت رشد ویژه مطلوب‌تری برخوردار بودند. با توجه به وجود دریای خزر به عنوان بزرگترین منبع آب لب شور در شمال کشور با بیش از ۹۰۰ کیلومتر نوار ساحلی و برخورداری از اراضی کم یازده ساحلی و بر اساس نتایج مذکور، لزوم برنامه ریزی جهت استفاده از این مواهب الهی جهت پرورش و نگهداری بچه ماهیان خاویاری با استفاده از آب لب شور دریای خزر ضروری می باشد.

۱-۳- تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی آب در پیشگیری و ایجاد بیماری در آبزیان

کیفیت آب یعنی ترکیبات موجود در آب که منجر به رشد بهینه موجودات آبزی می‌شود و توسط برخی پارامترهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی تعیین می گردد (Keremah *et al.*, 2014).

کیفیت آب را مجموعه ای از متغیرهای فیزیکی، شیمیایی و زیست شناختی تعیین می کنند. این متغیرها کیفیت آب را بسته به نوع استفاده از آن تحت تاثیر قرار می دهند. در پرورش ماهی معمولاً آبی دارای کیفیت مطلوب محسوب می‌شود که بقا و رشد ماهیان را به بهترین وجه تامین کند و طبعاً فقط چند متغیر محدود بر آن حاکم است. کیفیت آب در پرورش ماهی نقش تعیین کننده‌ای ایفا می‌کند و تغییرات نامطلوب آن عامل اکثر بیماریهای محیطی و بسیاری از بیماریهای عفونی وابسته به محیط است. ایجاد بیماری در ماهیان همانند سایر جانداران در نتیجه آلوده شدن آنها به عوامل بیماریزا و مناسب بودن عوامل فیزیکی و شیمیایی آب محل زندگی ماهیان جهت رشد و تکثیر عوامل بیماریزا می باشد. دمای آب به عنوان مهمترین فاکتور فیزیکی آب نقش ویژه ای در پیشگیری و ایجاد بیماری در ماهی‌ها دارد. به عنوان مثال باکتری های جنس آئروموناس که موجب ایجاد آئروموناز یس در ماهیان خاویاری و نیز کپور ماهیان می گردند با گرم شدن آب استخرهای پرورشی در تابستان و افزایش رشد و فعالیت آنها موجب بیماری در ماهیان پرورشی می گردند. مقادیر عوامل شیمیایی آب مانند اکسیژن، pH، شوری و ... نیز نقش ویژه‌ای در پیشگیری و یا ایجاد بیماری در ماهی‌ها دارد. کلرید سدیم یک جایگزین مناسب به جای ترکیبات شیمیایی در برابر عوامل بیماریزا و انگل‌ها در مراحل اولیه زندگی ماهی‌ها می‌باشد (Dulski *et al.*, 2020).

بر اساس نتایج مطالعات انجام شده، کلرید سدیم در درمان انگل‌های تک یاخته‌ای مانند تریکودینا و انگل‌های کرمی و قارچ‌های بیماریزا موثر می‌باشد اما باید توجه نمود تغییرات شوری می‌تواند موجب بروز استرس و تاثیر بر روی ضریب رشد گردیده و بر سیستم اسمزی ماهیان تاثیر گذاشته در نتیجه موجب فشار فیزیولوژیک و مرگ گردد (S.L *et al.*, 2013 Edwards).

۱-٤- عوامل بیماریزای شناسایی شده در ماهیان خاویاری پرورشی در آب شیرین و لب شور

نتایج مطالعات بعمل آمده در خصوص پرورش ماهیان خاویاری در مراکز پرورشی ایران و نیز در سایر کشورها، حاکی از ابتلاي اين ماهيان به برخي عفونت هاي باكتريايي، ويروسي، قارچی و انگلي می باشد که از آن جمله مي توان به عفونت هاي باكتريايی فلكسي باكتريوزيس، ويبريوزيس، يرسينيوزيس، اپي تليوسيستيس در برخي نواحي فرانسه، هرپس ويروس و اريريدوويروس در تاسماهي سفيد آمريكا و همچنين سپتي سمي ناشي از آئروموناس هيدروفيلا در ايران اشاره نمود (سلطاني، ۱۳۷۹). در مطالعات صورت پذيرفته توسط Brun و همكاران در سال ۱۹۹۱ باكتري هاي يرسينيا راكري، ويبريو آنگوئيلاروم و فلكسي باكتر كولومناريس و نيز توسط Lartseva در سال ۱۹۹۲ باكتري‌هاي آئروموناس، انتروباكتريا‌سه‌ها و سودوموناس‌ها جداسازي گرديد. Czeczuga و همكاران در سال ۱۹۹۵ قارچ‌هايي چون ساپرولگنيا، آچليا، آلومايسس و لپتولگنيا را از تاسماهيان جداسازي نمودند. در ايران سادات اخوي (۱۳۷۲) قارچ‌هاي ساپرولگنيا پارازيتيكا، موكور، فوزاريوم، كلادو سپوريوم و انواع گونه‌هاي آسپرزيلوس را از تخم تاسماهيان جدا نمود. بر اساس بررسي صورت پذيرفته توسط خلخال (۱۳۷۹) از مراحل مختلف تكثير تاسماهيان قارچ‌هايي نظير آسپرژيلوس نايجر، آسپرژيلوس فلاووس، فوزاريوم، پني سيليوم و آلترناريا جداسازي گرديد.

مطابق مطالعات صورت پذيرفته توسط شناور و همكاران (۱۳۷۹-۱۳۸۰) از بچه ماهيان خاوياري باكتري‌هايي چون موراكسلا، كلبسيلا، اسينه‌توباكتر، آئروموناس، يرسينيا، سودوموناس و قارچ‌هايي چون فوزاريوم، پني سيليوم، رايزوپوس و آسپرژيلوس جداسازي شد. سفلائي در سال ۱۳۷۸ از بچه ماهيان خاوياري باكتريهايي نظير آئروموناس، سودوموناس، كلبسيلا و يرسينيا را جدا نمود. در ارتباط با آلودگي هاي انگلي ماهيان مذكور بر اساس مطالعات، Dogiel & Bykhovskiy (1939) و Raikova (1984) انگل‌هايي نظير تريكودينا، آمفيلينا فولياسه آ، بوتريوسفالوس، نيتشيا، كوكولانوس اسفروسفالو ، كورينوروما استروموزوم مورد شناسايي قرار گرفت.

همچنين بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط مخير (۱۳۵۲) انگل هايي چون پلي پوديوم هيدروفوروم، سودو تراكلياستس، نيتشيا استوريونيس، كوكولانوس اسفروسفالوس از تاسماهيان جدا گرديد. در سال ۱۳۶۴ رحماني انگل آمفيلينا فولياسه آ را از غدد تناسلي ماهيان خاوياري جدا نمود. بر اساس مطالعات پورغلام (۱۳۷۲) انگل پلي پوديوم هيدروفوروم از تخم ماهيان خاوياري جدا گرديد. مطالعات غروقي (۱۳۷۳) از وجود انگل‌هايي چون اسكريا بينوپسولوس سمي آرماتوس، اوبوتريوم آسپنزرينوم و كوكولانوس اسفروسفالوس در مولدين قره برون و فيل ماهي حكايت دارد. همچنين بر اساس مطالعات ستاري (۱۳۷۸) انگل‌هايي چون كوكولانوس اسفروسفالوس، كورينوروما استروموزوم و اوبوتريوم آسپنزرينوم از تاسماهيان جداسازي گرديد. همچنين نياك و همكاران (۱۳۴۹) مطالعاتي بر روي تريكودينا در ماهيان خاوياري انجام دادند. در زمينه شناسائي فون انگلي بچه ماهيان خاوياري مطالعات انجام شده توسط مخير (۱۳۵۹)، غروقي (۱۳۷۵)، و شناور و همكاران (۱۳۷۹-۱۳۸۲) از وجود انگل‌هاي ديپلوستوموم اسپاته سئوم، تريكودينا، ژيروداكتيلوس در بچه ماهيان خاوياري حكايت دارد.

در ارتباط با شناسایی عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری پرورشی در آب‌های لب شور در دریاچه ها و آب‌های آزاد مطالعات نسبتا کمی صورت پذیرفته است. Zaharia و Dumitrescu (2010) از ماهیان خاویاری نگهداری شده در آب لب شور دریا در رومانی باکتری هایی از جنس ویبریو و سیتوفاگا را جداسازی و گزارش نمودند. در ایران بیشترین مطالعات در خصوص شناسایی عوامل بیماریزای آلوده کننده ماهیان خاویاری در آب لب شور دریای خزر در ارتباط با شناسایی عوامل انگلی آلوده کننده ماهیان خاویاری وحشی بوده که از در این ارتباط می توان به مطالعات انجام شده توسط مخیر (۱۳۵۲)، غروقي(۱۳۷۳)، ستاری و همکاران (۱۳۷۹)، بازاری مقدم و همکاران (۱۳۹۲) و توکل و همکاران (۱۳۸۸) اشاره نمود. جامع‌ترین مطالعه در خصوص ارزیابی وضعیت بهداشتی ماهیان خاویاری نگهداری شده در آب لب شور در ایران توسط جلیل‌پور و همکاران در سال ۱۳۹۲ در قالب پروژه "بررسي وضعيت بهداشتي پرورش ماهيان خاوياري در قفس در دریای خزر" انجام و عوامل بیماریزای فیل ماهیان پرورشی در قفس‌های مستقر در دریای خزر با متوسط وزنی ۱۰۰ گرم مشخص گردیده‌اند.

۱ - ۵ - اهداف تحقیق

این تحقیق به منظور دستیابی به اهداف ذیل صورت پذیرفت :

۱- شناسایی عوامل بیماریزا آلوده کننده بچه ماهیان ازون برون نگهداری شده در شوری‌های مختلف

۲- بررسی آسیب های بافتی در بچه ماهیان ازون برون در شوری های مختلف

۳- کنترل و از بین بردن عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری با استفاده از آب شور دریای خزر

۲- مواد و روش کار

۲-۱- مواد مورد استفاده

۲-۱-۱- مواد مصرفی

مواد مصرفي در اين پروژه عبارتند از:

۳۶۰ عدد بچه ازون برون به وزن ۵ تا ۱۰ گرم، محیط های کشت پایه TSA (Tryptic Soy agar)، TSB (Tryptic Soy Broth)، SDA (Sabouraud Dextrose Agar)، انواع معرف‌های بیوشیمیایی مانند معرف‌های اکسیداز، کاتالاز. اتانول مرك، پليت‌های يكبار مصرف، كيت رنگ آميزی گرم، رنگ لاكتوفنل كاتن بلو، سرنگ (انسولين، ۱cc و ۲cc)، چوبك، ظروف نمونه برداري يك بار مصرف، هپارين، و سر سمپلر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ ميكروليتر، دستكش لاتكس، ماسك، فرمالين، محلول بوئن.

۲-۱-۲-مواد غیر مصرفی

وسایل و تجهیزات بکار رفته در این پروژه عبارتند از:

ترازوي ديجيتال با دقت ۰/۰۱گرم، ميكروسكوپ نيكون 50i، لوپ آزمايشگاهي، وان نيم تنی، وان دو تنی، اکسیژن سنج ديجيتال، pH سنج ديجيتال ، دماسنج ديجيتال، سطل پلاستيكي، سمپلر، بشر مدرج، استوانه مدرج، پوآر، پيپت مدرج، ظروف نمونه برداری، ساعت آزمایشگاهی، هود استریل لامینار (Laminar Hood)، دستگاه انکوباتور Memert، فور(آون)، انکوباتور یخچال دار، بشر، هیتر، بالن حجمی یا بالن ژوژه (Volumetric flask)، بن مار (water bath) ، تشتک های پلاستیکی، آکواریوم و متعلقات مربوطه، ساچوك

۲-۲- تشکیل گروه های تیمار و نگهداری بچه ماهیان ازون برون

جهت انجام این مطالعه تعداد ۳۶۰ عدد بچه ماهی ازون برون حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی که فاقد هرگونه علائم بیماری، ناهنجاری و جراحات جلدی بودند به ایستگاه تحقیقاتی آب لب شور انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری منتقل و نسبت به معرفی ۳۰ عدد بچه ماهی ازون‌برون به هر یک از تکرارهای سه گانه گروه های تیمار شامل شوری‌های ۰/۵-۰ ppt، ۴- ۰/۵ ppt، ۴-۹ ppt و ۱۳-۹ ppt اقدام و پس از گذشت یک ماه از سازگاری بچه ماهیان در شوری های مورد بررسی در این مطالعه نسبت به نمونه برداری و زیست سنجی و انجام مطالعات انگل شناسی، باکتری شناسی و قارچ شناسی بر اساس روش‌های استاندارد اقدام گردید. به منظور تامین شوری آب هر یک از گروه های تیمار از ترکیب آب دریا و آب چاه استفاده گردید. در طی مدت زمان انجام این مطالعه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب وان های نگهداری بچه ماهیان در گروه های تیمار بطور روزانه اندازه‌گیری گردید. که بر اساس نتایج حاصل میانگین دمای آب ۱/۲± ۱۹/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۴۴ ±

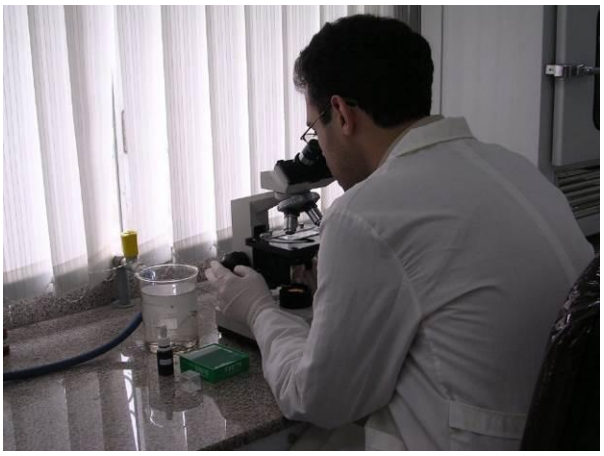
۵/۶، pH آب ۰/۰۸ ± ۷/۸۳ تعیین گردید. تغذیه بچه ماهیان در مدت زمان نگهداری با استفاده از غذای زنده شامل لارو شیرونومیده، گاماروس و کرم نرئیس طی ۶ نوبت و به میزان ۴۰ درصد وزن بچه ماهیان صورت پذیرفت.

۲-۳-مطالعات میکروب شناسی، انگل شناسی و قارچ شناسی

بمنظور انجام این مطالعات تعداد ۱۵ عدد بچه ماهی ازون برون از هر کدام از گروه های تیمار (۵ عدد از هر تکرار) از شوری های ۰/۵ -۰ ppt، ۴- ۰/۵ ppt، ۹-٤ ppt و ۱۳-۹ ppt بصورت تصادفي انتخاب و پس از ثبت فاکتورهاي زیست سنجی، نسبت به تهیه نمونه های لازم و انجام مطالعات انگل شناسي، باکتری شناسی و قارچ شناسی اقدام گردید.

۲-۳-۱- مطالعات انگل شناسي

بمنظور انجام این مطالعات پس از بیهوش کردن ماهیان ابتدا نسبت به ثبت فاکتورهاي زیست سنجی اقدام و سپس، نسبت به تهیه نمونه ها و انجام مطالعات انگل شناسی اقدام گردید. پوست، باله ها و آبشش ماهیان به منظور بررسی حضور انگل هایی نظیر زالو، لرنه آ یا شپشک‌ها به وسیله ذره‌بین (بزرگنمایی۲ -۴ برابر) بررسی شده و در مرحله بعد، با نمونه برداری و تهیه لام مرطوب از پوست، باله ها، آبشش و چشم ماهیان بررسی های میکروسکوپی صورت پذیرفته و نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی۴ تا ۱۰ (عدسی شیئی) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین بررسی های انگل‌شناسی بر روی محوطه بطنی و دستگاه گوارش نیز انجام گردید، برای این منظور ابتدا محتویات روده ماهیان به طور جداگانه درون الک ۱۰۰ میکرومتر تخلیه و پس از شستشو در داخل یک پلت بوسیله استرئومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. جهت انجام مطالعات انگل شناسی تثبیت نمونه ها بر اساس دستورالعمل های Fernando و همکاران در سال ۱۹۷۲ و Gussev در سال ۱۹۸۳ انجام گردید.



شکل۱- بررسی میکروسکوپی لام های مرطوب جهت انجام مطالعات انگل شناسی

۲-۳-۲- مطالعات باكتري شناسي

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 كمك آنس استریل از کلیه و کبد نمونه گیري و كشت بر روی محیط هاي كشت باكتريايي TSA[1] انجام گرفت. در ارتباط با تعیین تعداد و شناسایی باکتری های روده پس از جداسازی روده، اقدام به بازگشایی آن نموده و پس از تخلیه محتویات روده با استفاده از سرم فیزیولوژی مخاط روده سه بار شستشو داده شد و پس از توزین روده، در داخل ظروف شیشه ای استریل درب سمباده اي سرم فیزیولوژی جهت تهیه رقت های مورد نظر به آن اضافه گردید. معمولا رقت هاي تهیه شده از $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۶}$ بوده و جهت تهیه آنها از ۶ لوله آزمایش که هر کدام حاوي ۹ ميلي ليتر سرم فيزيولوژي استريل بوده استفاده گردید. جهت تهیه رقت های مذکور ابتدا مقدار ۱ ميلي ليتر از محلول تهیه شده اولیه حاصل از له وهموژن نمودن قسمتی از روده در سرم فیزیولوژی را به لوله اول اضافه نموده بخوبي تكان داده تا محتويات آن كاملا همگن شود كه اين لوله حاوي رقت $۱۰^{-۱}$ مي باشد سپس يك ميلي ليتر از لوله اول را به لوله دوم و يك ميلي ليتر از لوله دوم را به لوله سوم و به همين ترتيب تا لوله ششم اضافه نموده و كاملا تكان می دهیم تا محتویات آنها کاملا همگن گردیده و در نتیجه رقت های $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۶}$ تهیه شود (Pollock et al.,2002). پس از تهیه رقت‌ها نسبت به انجام کشت از محتویات رقت ها بر روی محیط هاي كشت باكتريايي TSA[1] و TSB[2] اقدام گردید. پس از انجام کشت اولیه و انکوباسیون و تعیین تعداد باکتری‌ها بر اساس CFU اقدام به خالص سازی باکتری‌ها گردید. جهت خالص سازی باکتری ها در محیط‌هایی که پرگنه‌هاي باكتري رشد نمودند، بدینگونه که با توجه به رنگ، اندازه و خصوصیات مورفولوژي پرگنه ها، در برخي از محيط هاي كشت كه رشد باکتری وجود داشت يك نوع پرگنه باكتري و در برخي دو يا چند نوع تشخيص داده شد كه اقدام به كشت جداگانه هر نوع از پرگنه ها با روش كشت ايزولاسيون و بدست آوردن پرگنه خالص (تك) براي جدا سازي گونه هاي باكتري گرديد. همچنين جهت تعيين توتال باكتريايي از پوست و آبشش ۱ سانتیمتر مربع از بافت‌های 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 شد. پلیت‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۵ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. علاوه بر این، از روش های شناسایی استاندارد باکتری‌ها (Holt., 1994) استفاده شد. بر اساس این روش‌ها نسبت به رنگ آمیزی باکتری ها به روش گرم و مشاهده آنها زیرمیکروسکوپ اقدام و سپس با انجام آزمایش‌های اکسیداز، کاتالاز، تحرک، اندول و ... نسبت به شناسایی جنس و گونه باکتری ها اقدام گردید.

---

[1] . Tryptic Soy Agar

[2]. Tryptic Soy Broth

شکل۲- تهیه کشت های باکتریایی از روده بچه ماهیان ازون برون

۲-۳-۳- مطالعات قارچ شناسي

در آزمایشگاه 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 كلي تعداد كلني قارچ (در ميلي ليتر=CFU) از نمونه آب وان های نگهداری بچه ماهیان و نیز محلول سوسپانسیون حاصل از له وهموژن نمودن قسمتی از پوست و آبشش، رقيق سازي (۰/۱، ۰/۰۱) در لوله هاي آزمايش استريل انجام گرديد. ۰/۵ ميلي ليتر از رقت هاي بدست آمده و همچنين آب پرورشي توسط پيپت استريل بر روي محيط هاي كشت SDA حاوي كلرامفنيكل ۱% و جنتامايسين ۸۰ میلی گرم كشت داده شدند. پليت‌هاي كشت شده (از هر رقت دو كشت) به مدت ۷۲-۴۸ ساعت به منظور شمارش كلي و ۵-۳ روز به منظور رشد كامل پرگنه‌هاي قارچي در دماي ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. شمارش قارچ‌ها بر اساس ميانگين حسابی دو شمارش كه در ضريب رقت ضرب شده محاسبه گرديد. همچنين به منظور جداسازي و شناسائي قارچ ساپرولگينا پوسته تخم و قطعاتي به ابعاد ۳-۲ ميلي متر از پوست و آبشش پس از شستشو با آب مقطر استريل و به منظور القا و ايجاد زئوسپور در لوله‌های آزمايش درب دار حاوی آب مقطر استريل و آنتی بيوتيک پس از ۲ - ۱ روز گرمخانه گذاری در دمای ۱۵-۱۰ درجه سانتيگراد، به محيط GP حاوي آنتي بيوتيك تلقيح و در حرارت ۱۷ - ۱۵ درجه سانتي گراد انكوبه شدند. پس از رشد كلنی در كشت اوليه (معمولا پس از ۴۸ - ۲۴ ساعت) و خالص سازی در محيط SDA و تهيه لام و رنگ آميزی، توسط ميكروسكوپ مورد بررسی و بر اساس كليد های شناسايی و ساختار اسپورانژيوم شناسائي شدند. به منظور شناسايی قارچ های ساپروفيت، پس از رشد پرگنه هاي قارچي، در مرحله نخست خالص سازي صورت گرفته و در پاساژ دوم اسلايد كالچر تهيه گرديد، پس از تشكيل ساختمان اسپورزائي، بوسيله يك قطره الكل متيليك نمونه تثبيت شده و بوسيله رنگ لاكتوفنل كاتن بلو رنگ آميزي گرديد. پس از اين مراحل قارچ ها بر اساس ساختار ميسيليوم و اندام‌هاي زايشي بوسيله ميكروسكوپ معمولی و با بزرگنمائي × ۱۰ و ×۴۰ مورد

بررسي و شناسائي قرار گرفتند. كليه مطالعات قارچ شناسي بر اساس شيوه هاي Willoughby (1994) و شريف پور و همكاران (۱۳۸۵) انجام پذيرفت.

شکل۳- تهیه کشت های قارچی از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون

۲-۴- مطالعات آسیب شناسی

نمونه‌های بافتی اخذ شده تا قبل از انتقال به آزمایشگاه در ظروف شیشه‌ای تیره حاوی بوئن نگهداری و تثبیت گردیدند. پس از تثبيت نمونه‌ها در محلول بوئن، مراحل آبگيري، شفاف‌سازي، پارافينه نمودن، قالب‌گيري، تهيه برش و رنگ آميزي بشرح ذيل انجام پذيرفت (بهمني و كاظمي، ۱۳۷۷).

۱) تثبيت نمونه ها در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت (شامل ۱ ml اسيد استيك گلاسيال + ۱۵ ml اسيد پيكريك + ۵ ml فرمالين ۳۷ درصد تجاري).

۲) پس از شستشوي بافت تثبيت شده با آب مقطر، نمونه بافت ها جهت آبگيري از الكل اتانول ۵۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۶ درجه و الكل ۱ - بوتانل عبور داده شدند.

۳) مرحله شفاف سازي بافت از طريق عبور دو مرحله ای نمونه هاي بافتي از كلروفرم.

۴) پارافينه كردن بافت در مخلوط كلروفرم و پارافين خالص به نسبت ۱:۱ در دماي $۳۷^{o}C$ به مدت۱۲-۱۰ساعت.

۵) عبور نمونه بافتها از پارافين خالص در دو مرحله به مدت يك ساعت در دماي $۵۶^{o}C$.

۶) مرحله قالب گيري بافت ها در قالب هاي پر شده توسط پارافين مذاب، سپس سرد نمودن قالب ها در آب معمولي جهت سفت شدن و سپس قرار دادن روي پايه هاي چوبي جهت برش

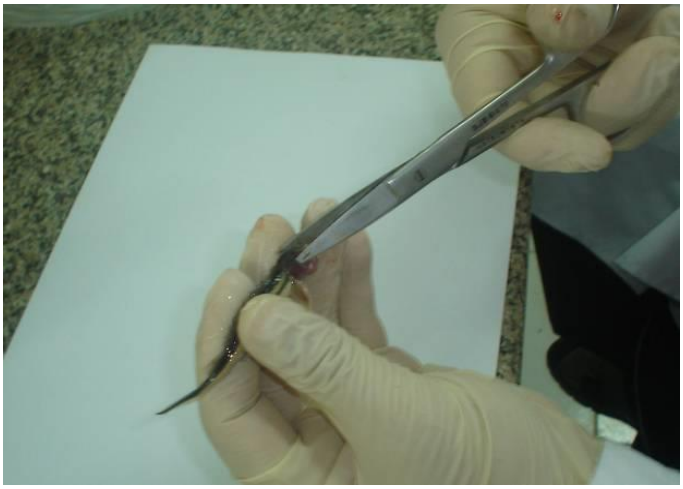
۷) تهيه برش با استفاده از دستگاه ميكروتوم (Letiz مدل ۱۵۱۲ ساخت آلمان) با ضخامت ۵ الي ۷ ميكرون.

۸) قراردادن در حمام آب گرم $۳۷^{o}C$ به منظور رفع چين چروك ها و مونته كردن بافت ها روي لام.

۹) رنگ آميزي اسلايدهاي بافتي با روش هماتوكسيلن - ائوزين (H&E).

۱۰) نصب لامل روي لام با استفاده از چسب بالزام به منظور شفاف سازي بافت و نگهداري طولاني مدت.

۱۱) انجام مطالعات ميكروسكوپي مورد نظر و عكس برداري با ميكروسكوپ نيكون ۶۰۰ -E متصل به رايانه



شکل۴ - نمونه برداری از آبشش بچه ماهیان ازون برون جهت انجام مطالعات آسیب شناسی

شکل۵- برش نمونه های بافتی تهیه شده از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون با استفاده از میکروتوم

شکل ۶- رنگ آمیزی اسلایدهای بافتی تهیه شده از اندام های مختلف بچه ماهیان ازون برون

۲- ۵- روش تجزیه‌وتحلیل آماري داده‌ها

به منظور بررسی توزیع نرمال داده ها در گروه ها و تکرار ها برای کلیه متغیر های رشد، خون و ایمنی از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. نتایج نشان داد که توزیع کلیه داده ها در هر یک از متغیرهای مذکور از توزیع نرمال برخوردار بودند بنابراین به منظور مقایسه آماری بین گروه ها در تیمار ها 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 دانکن استفاده شد. همچنین به منظور مقایسه شمارش کل قارچی در پوست و آب پرورشی از آزمون Independent Samples Test استفاده شد. کلیه آنالیز هاي آماري با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۶ و جهت رسم نمودار ها از نرم افزار Excel ۲۰۱۰ استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱-بررسی بچه ماهیان ازون برون پس از تیماربندی در شوری های مختلف

بمنظور انجام این مطالعه تعداد ۱۵ عدد بچه ماهی ازون برون با میانگین وزن ۷/۴۵ گرم به هر یک از وان‌های فایبرگلاس با حجم ۵۰۰ لیتر که حاوی آب با شوری‌های ۰/۵-۰ ppt، ۴- ۰/۵ ppt، ۴-۹ ppt و ۹-۱۳ ppt بودند به عنوان تکرارهای گروه های تیمار (۳ تکرار برای هر تیمار) منتقل و پس از گذشت یک ماه از سازگاری بچه ماهیان با شوری‌های مختلف نسبت به نمونه برداری تصادفی و انتقال ۵ عدد بچه ماهی از هر تکرار (۱۵ عدد بچه ماهی از هر تیمار) همراه با آب هر یک از گروه‌های تیمار به مخزن‌های ۵۰ لیتری جهت انجام مطالعات مورد نظر اقدام گردید. در بررسی ظاهری بچه ماهیان تیمارهای مختلف شوری هیچگونه علائم خونریزی

و ضایعه در پلاک‌های استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن مشاهده نگردید و کلیه ماهیان مورد بررسی دارای رنگ و ظاهری طبیعی بودند. پس از بررسی ظاهری بچه ماهیان نمونه‌برداری شده از شوری‌های مختلف در گروه‌های تیمار، نسبت به ثبت فاکتورهاي زیست سنجی و انجام مطالعات انگل شناسی، باکتری شناسی و قارچ شناسی اقدام گردید.

شکل ۷- نگهداری بچه ماهیان تیمارهای مختلف شوری در تشتک های ۵۰ لیتری

۳-۱-۱- مطالعات انگل شناسی

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات انگل شناسی، تنها گونه انگلی جدا شده از بچه ماهیان ازون برون مورد بررسی از گروه های تیمار، انگل تریکودینا .SP بوده که از پوست و آبشش بچه ماهیان خاویاری جداسازی گردید. بر اساس نتایج حاصل (جدول شماره) در بچه ماهیان ازون برون بررسی شده از تیمار شوری ۰/۵-۰ ppt، درصد شیوع برابر ۶۶/۷ درصد و در هر دو شوری ۴ تا ۹ و ۹ تا ۱۳ ppt این مقدار به ۱۱/۱ درصد کاهش یافته است. ضمن اینکه میانگین شدت انگلی نیز با افزایش شوری، کاهش مناسبی را نشان می دهد. لازم به ذکر است که دامنه شدت انگل ها نیز با افزایش شوری کاهش یافته است. این نتایج حاکی از این موضوع است که اثرات افزایش شوری در حذف انگل تک یاخته‌ای

خارجی (*Trichodina* sp.) موثر بوده است. براساس نتایج مطالعه انگل شناسی، نقش مثبت شوری در کاهش بار آلودگی انگل تریکودینا را می‌توان مشاهده نمود.

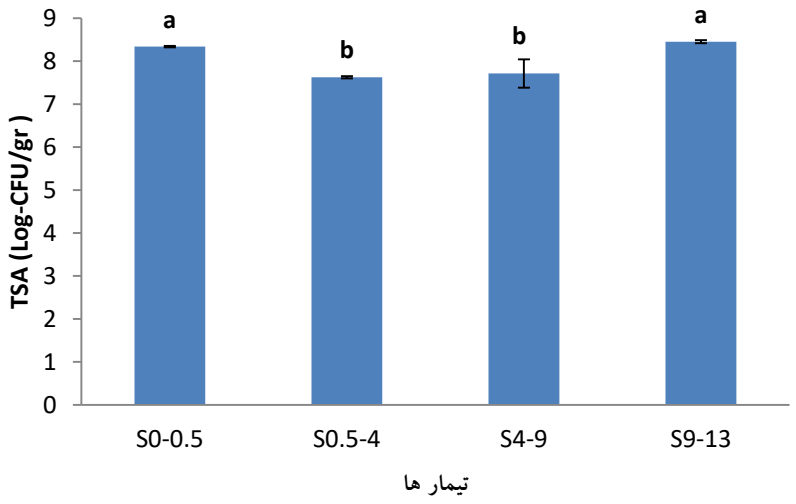
آزمون آنالیز واریانس یکطرفه نتایج حاصل از مطالعات انگل‌شناسی در گروه های تیمار نشان داد که بین درصد شیوع انگل تك یاخته اي تریکودینا در شوری های مختلف (تیمار ۱، ۳ و ۴) بچه ماهیان خاویاري اختلاف معني‌دار آماري وجود دارد ($P<0.05$).

جدول ۱ ـ وضعیت آلودگی انگلی بچه ماهیان خاویاری در شوری های مختلف

تیمار	میزان شوری (ppt)	نوع انگل	محل جداسازی	درصد شیوع	انحراف استاندارد ±میانگین شدت	دامنه شدت
۱	۰-۰/۵	*Trichodina* . sp	پوست و آبشش	۶۶/۷	۲/۳۳ ±۲/۰۶[a]	۲-۵
۲	۰/۴-۵	*Trichodina* . sp	آبشش	۳۳/۳	۰/۳۳ ±۰/۷۱[ab]	۱-۲
۳	۹-۴	*Trichodina* . sp	آبشش	۱۱/۱	۰/۲۲± ERR [b]	۲
۴	۱۳-۹	*Trichodina* . sp	آبشش	۱۱/۱	۰/۱۱± ERR [b]	۱

۳-۱-۱-مطالعات باکتری شناسی

با توجه به عدم مشاهده جراحت و ضایعه در پوست و آبشش ماهیان در گروه های تیمارهای مختلف نسبت به نمونه برداری از روده ماهیان جهت تعیین فلور باکتریایی اقدام گردید. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات مذکور، در مقایسه شمارش کلی باکتریایي روده بچه ماهیان بر روي محیط کشت TSA بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (Oneway Anova) بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P=0.015$, $df=3$, $F=6.492$). و بر اساس آزمون دانکن (Duncan) در مقایسه دو به دو تیمارهای مختلف با یکدیگر میزان توتال باکتریایي تیمارهای ۴-۰/۵ و ۹-۴ کاهش معنی داری نسبت به تیمارهای ۰/۵-۰/۰۰ و ۱۳-۹ مشاهده گردید (نمودار-۱).



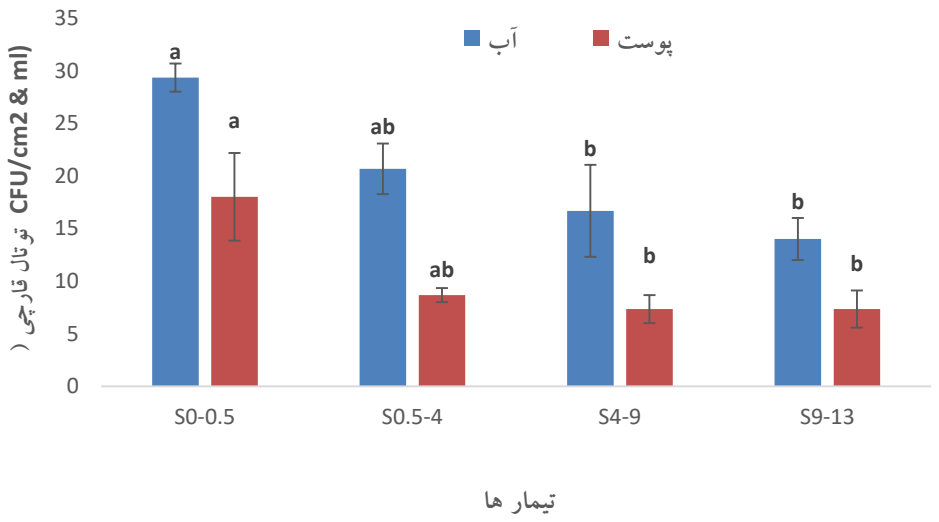
نمودار ۱ - میانگین شمارش باکتریایی روده در محیط کشت TSA

۳-۱-۲- مطالعات قارچ شناسی

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway Anova) در مقایسه میانگین شمارش کل عوامل قارچی درآب پرورشی (P=0.020 ,df= 3 ,F=5.850) و در پوست بچه ماهیان (P=0.036 ,df= 3 ,F=4.680) در شوری های مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که میزان شمارش عوامل قارچی در پوست و آب پرورشی در محدوده شوری ۰/۵ - ۰ ppt به شکل معنی داری بیشتر از سایر شوری ها بوده و کمترین میزان شمارش عوامل قارچی در پوست و آب پرورشی در محدوده های شوری ۱۳-۹ ppt و ۹-۴ ppt مشاهده شد. همچنین طبق آزمون Independent Samples Test در هر چهار دامنه شوری میزان شمارش عوامل قارچی در آب پرورشی به صورت معنی داری بیشتر از پوست بچه ماهیان بوده است ($p<0.05$) (جدول ۳-۴).

جدول ۲- مقایسه میانگین شمارش کل قارچی آب پرورشی و پوست بچه ماهیان

تیمار	درجه شوری	آب (cfu/ml)	پوست (cfu/cm)
شمارش کل قارچ (cfu/ml&cm)	۰-۰/۵	۲۹/۳۳ ±۱/۳۳ a	۱۸ ±۴/۱۶ a
	۰/۵ - ۴	۲۰/۶۷ ±۲/۴۰ ab	۸/۶۷ ±۰/۶۷ ab
	۴ - ۹	۱۶/۶۷ ±۴/۳۷ b	۷/۳۳ ±۱/۳۳ b
	۹ - ۱۳	۱۴ ±۲ b	۷/۳۳ ±۱/۷۶ b



نمودار ۲- مقایسه میانگین شمارش کل عوامل قارچی آب پرورشی و پوست بچه ماهیان

بر اساس نتایج بدست آمده نوع، تعداد و فراوانی عوامل قارچی در آب پرورشی - در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج درصد فراواني عوامل قارچی در شوری ۵ - ۰ ppt، از ۶ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراواني مربوط به جنس *Penicillium* spp. و *Yeasts* با ۲۶/۶۷ درصد و کمترین فراواني مربوط به *Aspergilus niger* و *Aspergilus fumigatus* با فراوانی ۶/۶۷ درصد بود. همچنین در شوری ۴ - ۰/۵ ppt از ۵ ایزوله بیشترین فراواني مربوط به جنس *Penicillium* spp. و *Yeasts* با ۳۳/۳۳ درصد و کمترین آن مربوط به*Aspergilus niger* و *Aspergilus fumigatus* با فراوانی ۸/۳۳ درصد بود. در این ارتباط و بر اساس نتایج حاصل از تعیین فراوانی قارچ هاي جداسازی شده از آب پرورشی در شوری ۹ - ۴ ppt از ۴ ایزوله جداسازی شده *Penicillium* spp. با ۶۰ درصد دارای بیشترین فراوانی و *Aspergilus niger* و*Fusarium* با ۱۰ درصد از کمترین فراوانی برخوردار بود. همچنین در آب پرورشی با شوری۱۳ - ۹ ppt از ۴ ایزوله جداسازی شده بیشترین فراواني مربوط به جنس *Penicillium* sp. با ۶۱/۵۴ درصد و کمترین آن مربوط به*Fusarium* با ۷/۶۹ درصد بوده است (جدول۳-۸) .

جدول ٤ - فلور قارچی جداسازی شده از آب

گونه های قارچی	درجه شوری							
	۰-۰/۵		۰/۵-۴		۴-۹		۹-۱۳	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Cladosporium sp.	۳	۲۰	۲	۱۶/۶۷	۰	۰	۰	۰
Penicillium sp.	۴	۲۶/۶۷	۴	۳۳/۳۳	۶	۶۰	۸	۶۱/۵۴
Mucor sp.	۲	۱۳/۳۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰
Yeasts	۴	۲۶/۶۷	۴	۳۳/۳۳	۲	۲۰	۲	۱۵/۳۸
Aspergilus fumigatus	۱	۶/۶۷	۱	۸/۳۳	۰	۰	۰	۰
Aspergilus niger	۱	۶/۶۷	۱	۸/۳۳	۱	۱۰	۲	۱۵/۳۸
sp.Fusarium	۰	۰	۰	۰	۱	۱۰	۱	۷/۶۹
جمع کل	۱۵	۱۰۰	۱۲	۱۰۰	۱۰	۱۰۰	۱۳	۱۰۰

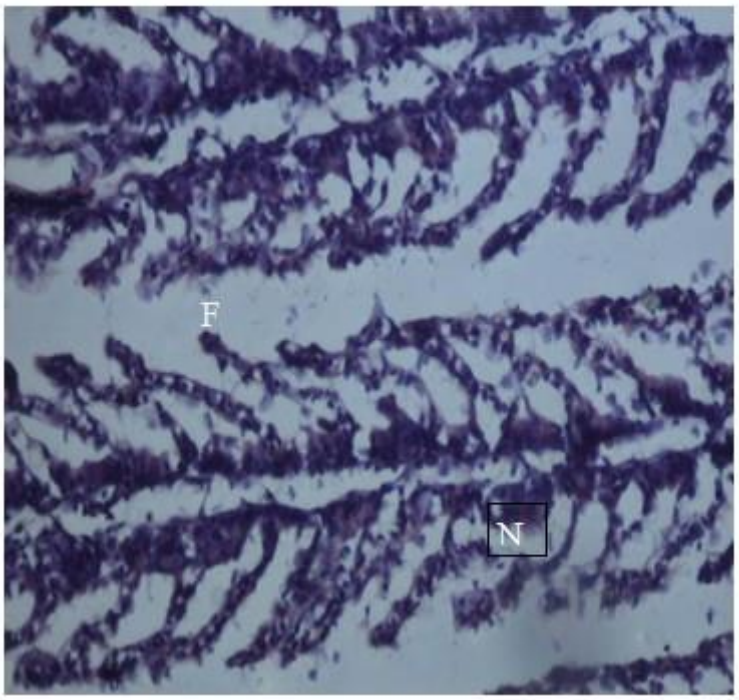
۳-۱-۳- مطالعات آسیب شناسی

۳-۱-۳-۱- آسیب های بافت آبشش

بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از آبشش ماهیان ازون برون که با مقادیر مختلف شوری در این مطالعه تحت تیمار قرار گرفته بودند از بروز برخی از آسیب‌های میکروسکوپیک حکایت دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه با افزایش مقادیر شوری در گروه‌های تیمار آسیب‌های میکروسکوپیک به شکل گسترده‌تری در آبشش ها ظاهر گردیدند. نتایج بررسی آسیب های ایجاد شده در بافت آبشش در تیمارهای مختلف شوری به شرح ذیل می باشد:

الف- آسیب های بافت آبشش در تیمار شوری ۰ تا ۰/۵ ppt

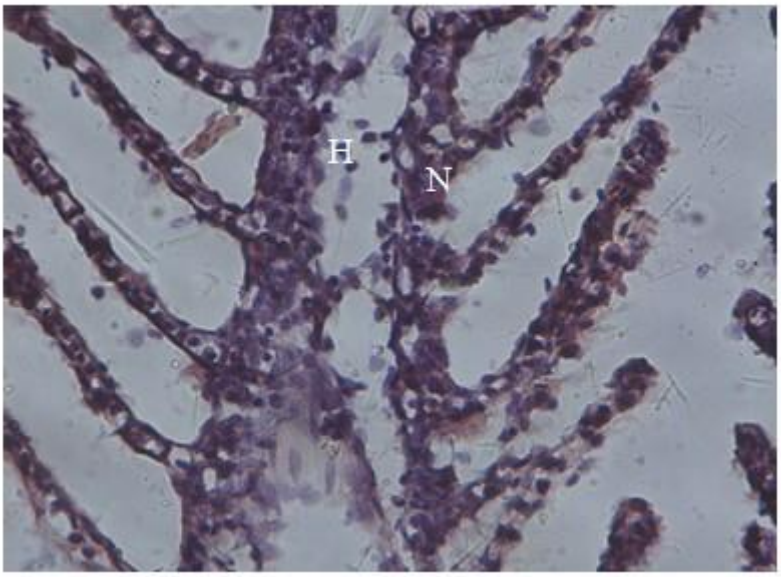
آسیب های میکروسکوپیک ایجاد شده در آب شش های بچه ماهیان ازون برون در تیمار شوری۰ تا ۰/۵ ppt از بروز نکروز سلولی، چسبندگی رشته های ثانویه، جدا شدن لایه اپیتلیوم رشته هاي ثانویه و هیپرپلازی به میزان کم حکایت می نماید (شکل ۸).



شکل ۸ - مشاهده چسبندگي رشته هاي ثانويه(F)، جدا شدن لايه اپيتليوم رشته هاي ثانويه و نکروز سلولي(N) (20x- H&E)

ب - آسیب های بافت آبشش در تیمار شوری ۰/۵ تا ۴ ppt

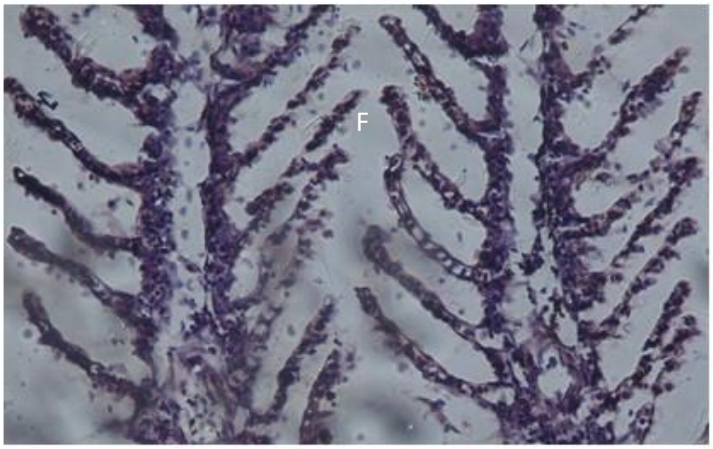
در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده از آبشش های بچه ماهیان ازون برون تحت تیمار با شوری ۰/۵ تا ۴ ppt آسیب های بافتی شامل خونریزی(زیاد)، هیپرپلازی (کم)، نکروز سلولی(کم) مشاهده گردید (شکل ۹).



شکل ۹ - مشاهده خونریزی(H) و نکروز سلولي (N) (40x-H&E)

ج – آسیب های بافت آبشش در تیمار ۴ تا ۹ ppt

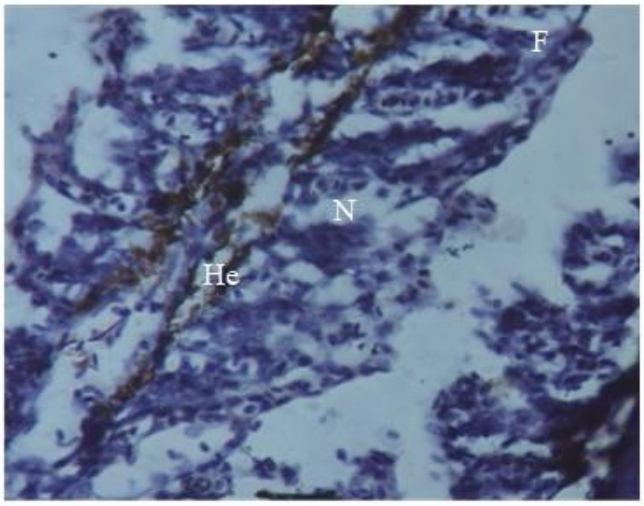
بررسی آسیب های میکروسکوپیک ایجاد شده در آبشش های بچه ماهیان ازون برون در تیمار شوری ۴ تا ۹ ppt از بروز پرخونی و خونریزی، هیپرپلازی(نسبتا زیاد) و تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش و نکروز سلولی(زیاد) حکایت می نماید (شکل ۱۰).



شکل ۱۰ - مشاهده خونریزی(H) و نکروز سلولي (N) (20x-H&E)

د – آسیب های بافت آبشش در تیمار ۹ تا ۱۳ ppt

در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده از آبشش های بچه ماهیان ازون برون تحت تیمار با شوری ۹ تا ۱۳ ppt آسیب های بافتی شامل هیپرپلازی (زیاد)، پرخونی (زیاد)، چسبندگی رشته های ثانویه(خیلی شدید)، رسوبات هموسیدرین(زیاد)، تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش و نکروز سلولی(نسبتا زیاد) مشاهده گردید (شکل ۱۱).



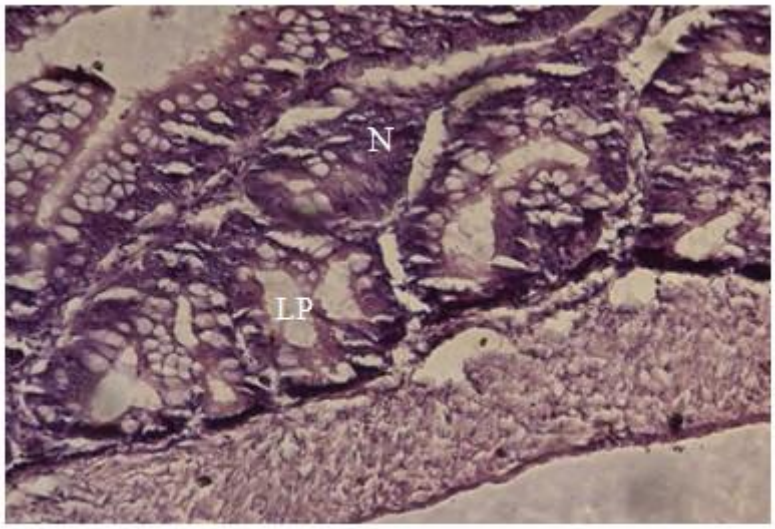
شکل ۱۱ - مشاهده چسبندگی رشته های ثانویه آبشش(F)، رسوبات هموسیدرین(He) ،تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش و نکروز سلولي(N) (40x- H&E)

۳-۱-۳-۲- آسیب های بافت روده

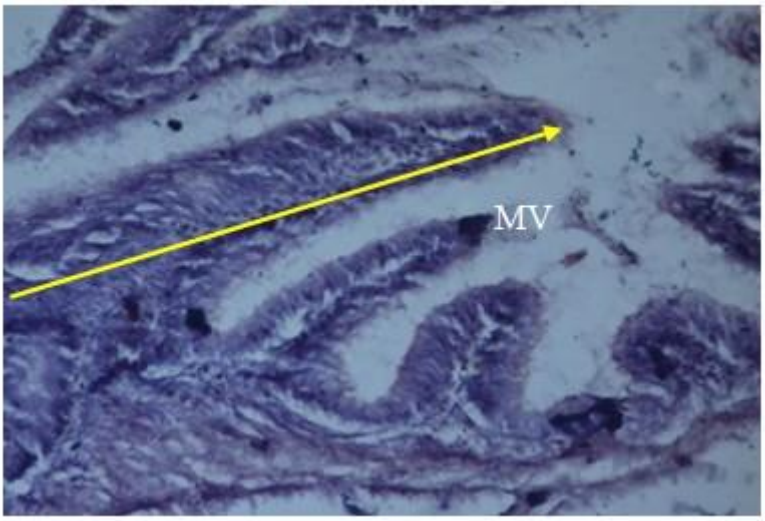
بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از روده ماهیان ازون برون مورد بررسی در این مطالعه که با مقادیر مختلف شوری در این مطالعه تحت تیمار قرار گرفته بودند از بروز برخی از آسیب‌های میکروسکوپیک حکایت دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه با افزایش مقادیر شوری در گروه‌های تیمار آسیب‌های میکروسکوپیک به شکل گسترده‌تری در بافت روده بچه ماهیان تحت تیمار ظاهر گردیدند. بررسی آسیب های ایجاد شده در بافت روده در تیمارهای مختلف شوری به شرح ذیل می باشد:

الف- آسیب های بافت روده در تیمار ۰ تا ۰/۵ ppt

در بررسی آسیب های میکروسکوپیک ایجاد شده در آبشش های بچه ماهیان ازون برون در تیمار شوری۰ تا ۰/۵ ppt تعداد سلول‌های جامی شکل(زیاد) ،ضخامت LP (lamina propria) یا پارین بین چین‌های روده‌ای مناسب، انبساط و انقباض فضای لامینا (کم)، واکوئله شدن اینتروسیت(کم)، نکروزی شدن اینتروسیت(طول سلولهای جذب روده) و پرزهای میکروویلی به مقدار کم و خونریزی خیلی کم در این تیمار مشاهده گردید(اشکال ۱۲ و ۱۳).



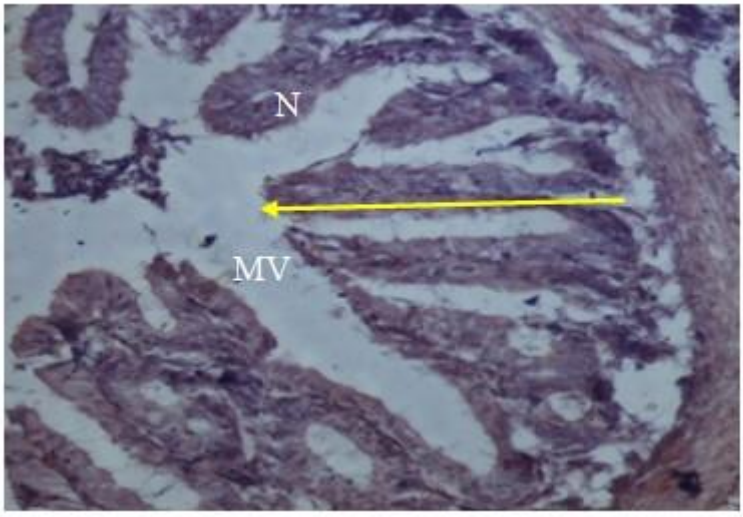
شکل ۱۲ - فضای لامنیا پروپریا (LP) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X)



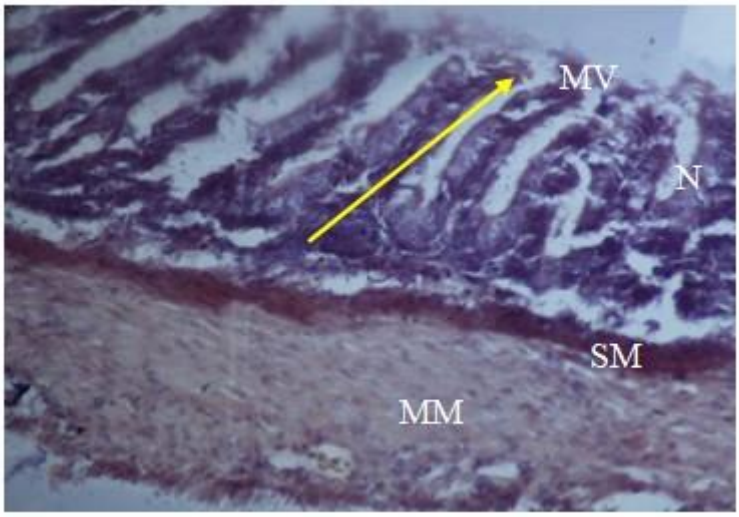
شکل ۱۳- طول چین روده‌ای (فلش بلند) و پرزهای میکرویلی(MV) (H&E 20X)

ب- آسیب های بافت روده در تیمار ۰/۵ تا ۴ ppt

بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از روده بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۰/۵تا ۴ ppt از آسیب‌های بافتی شامل وجود تعداد سلول‌های جامی‌شکل(کم تا زیاد)، واکوئله شدن اینتروسیت (کم)، پارین بین چین‌های روده ای مناسب، غده های روده ای Glandulae intestinales (کریپت های لیبرکون) (کم) انبساط و انقباض فضای لامینا (کم)، نکروزی شدن اینتروسیت و پرزهای میکروویلی کم و پرخونی(زیاد) حکایت می‌نماید (اشکال ۱۴ و ۱۵).



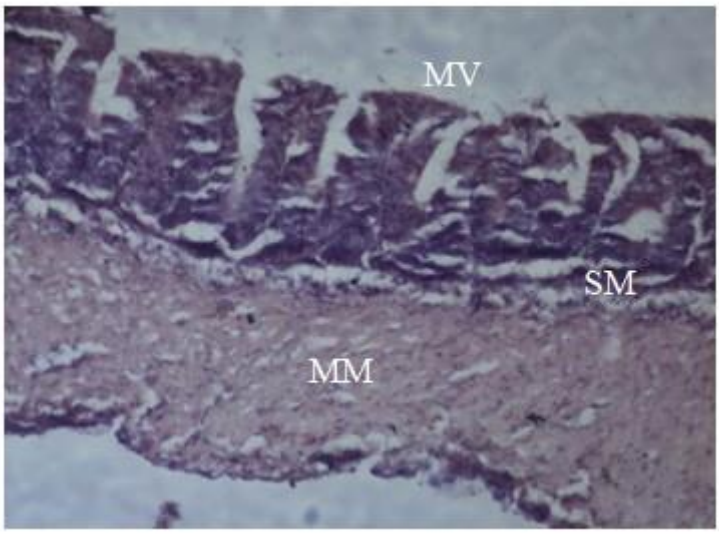
شکل ۱۴-طول چین روده (پیکان بلند)، فضای لامینا پروپریا، پرزهای میکرویلی(MV) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X)



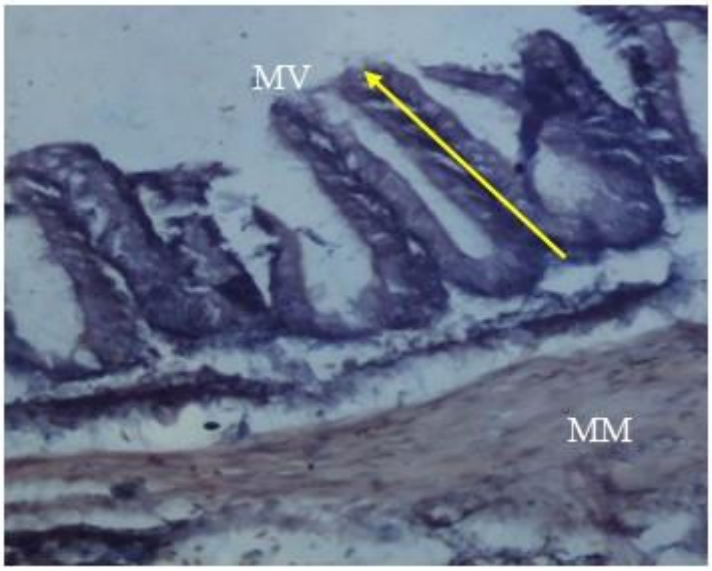
شکل ۱۵ - طول چین روده (پیکان بلند)، طبقه زیر مخاطی(SM)، طبقه ی عضلانی (MM)، انبساط فضای لامینا پروپریا، پرزهای میکرویلی (MV) و نکروز سلولی(N) (H&E, 20X)

ج - آسیب های بافت روده در تیمار ۴ تا ۹ ppt

در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده از بافت روده بچه ماهیان تحت تیمار با شوری ۴ تا ۹ ppt آسیب های بافتی شامل تعداد سلول‌های جامی شکل(زیاد)، غده های روده ای (نسبتا زیاد)، انبساط و انقباض فضای لامینا (نسبتا زیاد)، نکروزی شدن اینتروسیت و پرزهای میکروویلی نسبتا زیاد و پرخونی(نسبتا زیاد) در این تیمار مشاهده گردید(اشکال ۱۶ و ۱۷) .



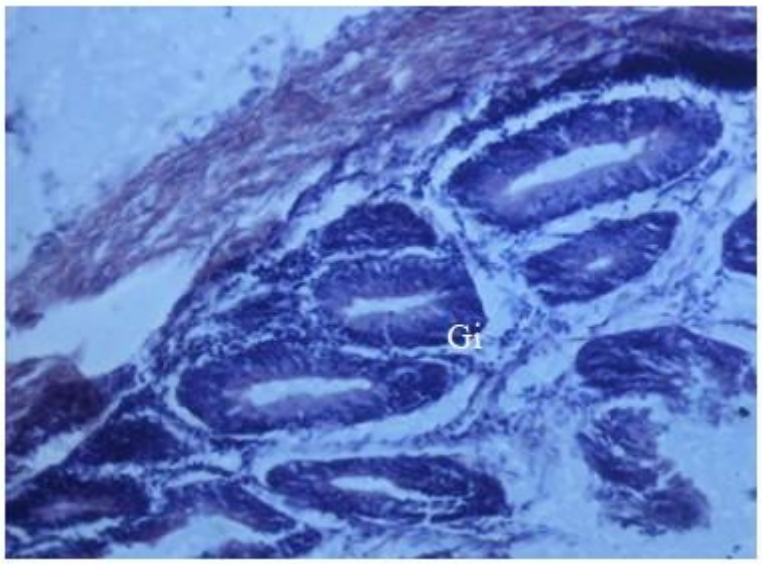
شکل ۱۶ - طبقه زیر مخاطی(SM)، طبقه ی عضلانی (MM) و پرزهای میکروویلی(MV) (H&E, 20X)



شکل ۱۷ - طول چین روده (پیکان بلند)، طبقه ی عضلانی (MM) و پرزهای میکروویلی(MV) (H&E, 20X)

۵- آسیب های بافت روده در تیمار ۹ تا ۱۳ ppt

بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از روده بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۹ تا ۱۳ ppt از وجود آسیب های بافتی شامل: تعداد سلول‌های جامی شکل(نسبتا زیاد)، غده های روده ای (زیاد)، انبساط و انقباض فضای لامینا (زیاد)، نکروزی شدن اینتروسیت و پرزهای میکروویلی (کم) حکایت می نماید (شکل ۱۸).



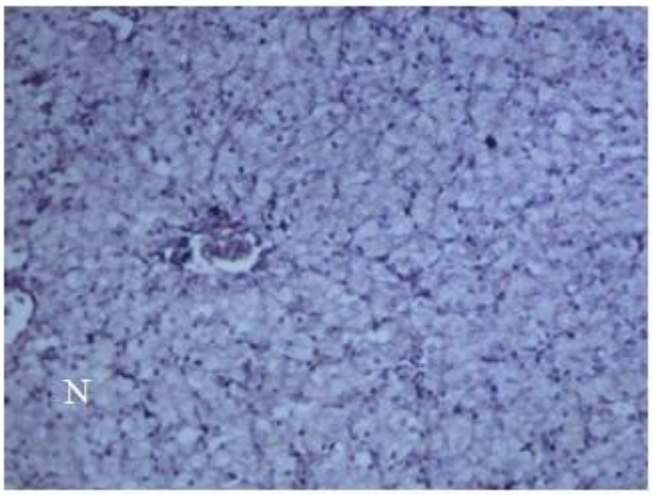
شکل ۱۸ - غده های روده ای(Gi) (H&E, 20X)

۳-۱-۳-۳- آسیب های بافت کبد

بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کبد ماهیان ازون برون مورد بررسی در این مطالعه که با مقادیر مختلف شوری در این مطالعه تحت تیمار قرار گرفته بودند از بروز برخی از آسیب‌های میکروسکوپیک حکایت دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه با افزایش مقادیر شوری در گروه‌های تیمار آسیب‌های میکروسکوپیک به شکل گسترده‌تری در بافت کبد بچه ماهیان تحت تیمار بروز می نمایند. بررسی آسیب های ایجاد شده در بافت کبد در تیمارهای مختلف شوری به شرح ذیل می باشد (اشکال ۲۲-۱۹) :

الف - آسیب های بافت کبد در تیمار ۰ تا ۰/۵ ppt

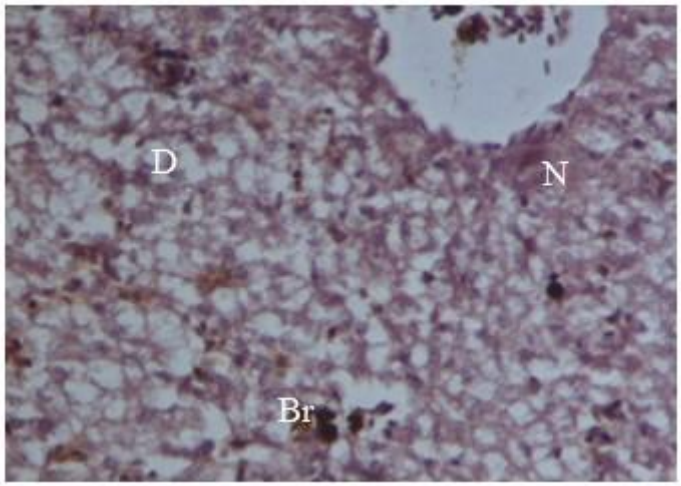
در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کبد بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۰ تا ۰/۵ ppt آسیب‌های بافتی شامل: پرخونی(زیاد) دژنرسانس چربی(کم)، رکود صفراوی(کم)، هیپرتروفي و نکروز سلولی (کم) مشاهده گردید (شکل ۱۹).



شکل ۱۹ - نکروز سلولي در کبد (N) (H&E ،x۲۰)

ب - آسیب های بافت کبد در تیمار ۰/۵ تا ۴ ppt

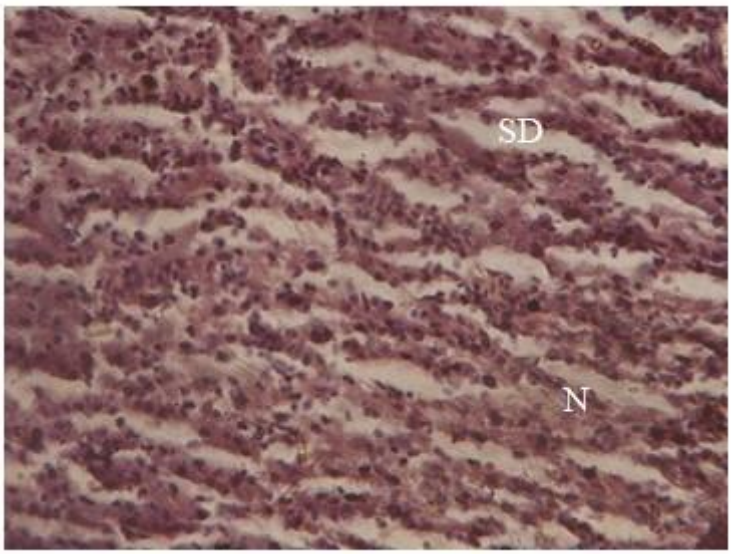
در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کبد بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۰/۵ تا ۴ ppt از وجود آسیب های بافتی شامل: پرخونی، دژنرسانس چربی و نکروز سلولی (کم تا نسبتا زیاد)، رکود صفراوی (کم)، هیپرتروفي (کم) حکایت می نماید (شکل ۲۰).



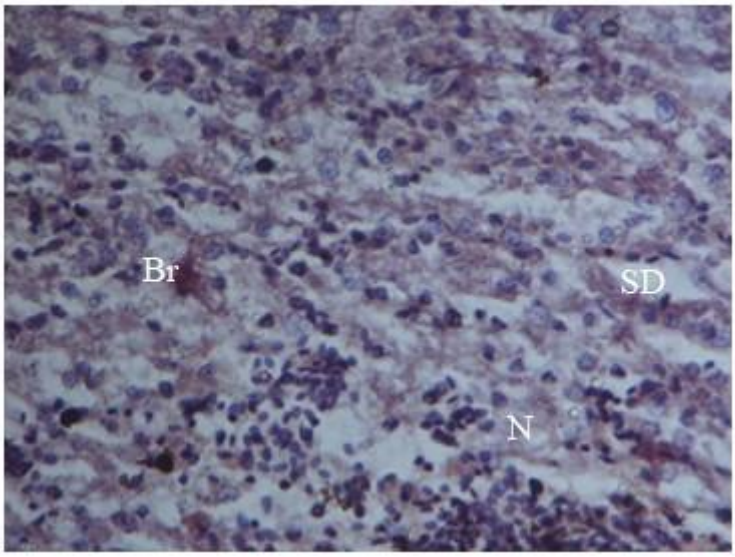
شکل ۲۰ -رکورد صفراوی (Br)، دژنرسانس چربی(D) و نکروز سلولي در کبد (N) (H&E ،x40)

ج – آسیب های بافت کبد در تیمار ۴ تا ۹ ج – آسیب های بافت کبد در تیمار ۴ تا ۹ ppt

در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کبد بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۴ تا ۹ ppt آسیب های بافتی شامل: وجود سلول کوپفر (زیاد)، رکود صفراوی (کم)، دژنرسانس چربی (کم تا زیاد)، هیپرتروفی، پرخونی، خونریزی و نکروز سلولی (کم تا زیاد) مشاهده گردید (شکل ۲۱ و ۲۲).



شکل ۲۱- اتساع سینوزوئید (SD) و نکروز سلولي در کبد (N) (H&E ،x40)



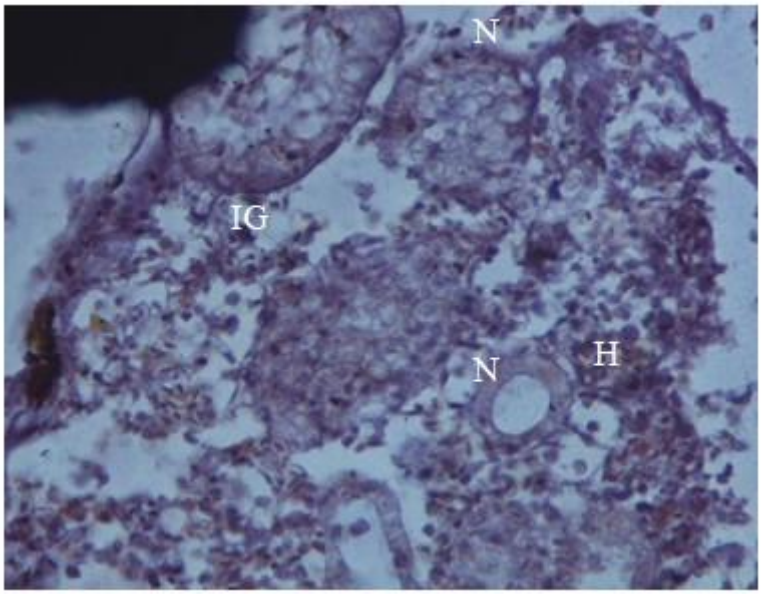
شکل ۲۲- اتساع سینوزوئید (SD)، رکود صفراوی(Br) و نکروز سلولي در کبد (N) (H&E ،x40)

۳-۱-۳-۴-آسیب های بافت کلیه

بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کلیه ماهیان ازون برون مورد بررسی در این مطالعه که با مقادیر مختلف شوری در این مطالعه تحت تیمار قرار گرفته بودند از بروز برخی از آسیب‌های میکروسکوپیک حکایت دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه با افزایش مقادیر شوری در گروه‌های تیمار آسیب‌های میکروسکوپیک به شکل گسترده‌تری در بافت کلیه بچه ماهیان تحت تیمار بروز می نمایند. بررسی آسیب های ایجاد شده در بافت کلیه در تیمارهای مختلف شوری به شرح ذیل می باشد (اشکال ۲۵-۲۳):

الف- آسیب های بافت کلیه در تیمار ۰ تا ۰/۵ ppt

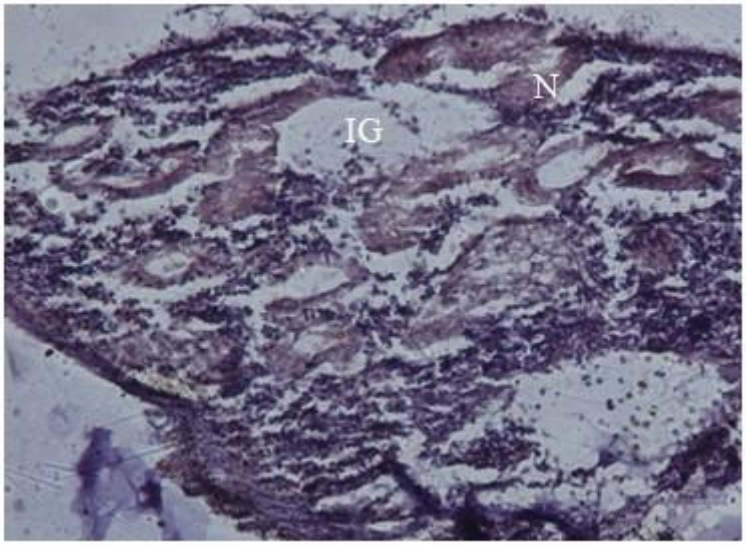
در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کلیه بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۰ تا ۰/۵ ppt از وجود آسیب های بافتی شامل: اتساع فضای گلومرولی (افزایش فضاي ادراري) و انبساط گلومرولی(نبود فضای بومن) (زیاد)، نکروز سلولی پروکسیمال و دیستال(نسبتا زیاد)، خونریزی(کم)، رسوبات هموسیدرین(زیاد) و نکروز سلولی(زیاد) حکایت می نماید (شکل ۲۳).



شکل ۲۳- خونریزی (H) و نکروز سلولي در کلیه (N) (x40، H&E)

ب - آسیب های بافت کلیه در تیمار ۰/۵ تا ۴ ppt

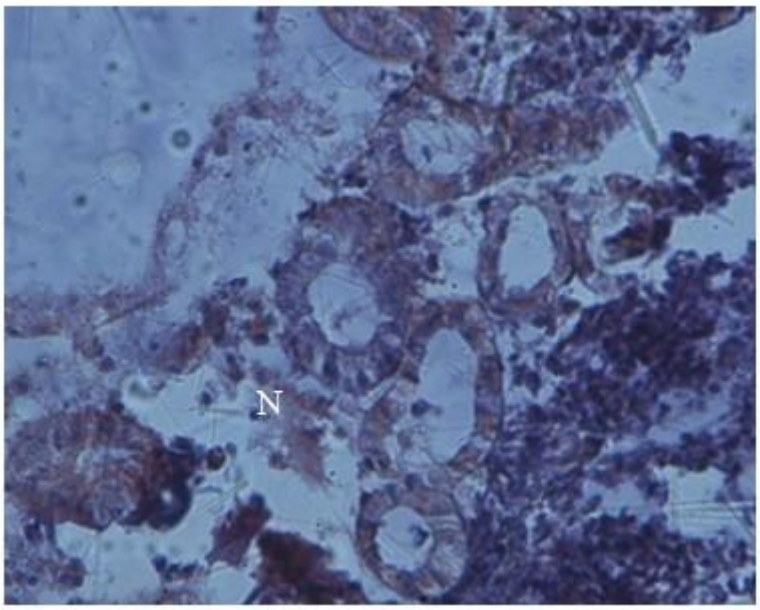
در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کلیه بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری۰/۵ تا ۴ ppt آسیب‌های بافتی شامل: اتساع فضای گلومرولی (افزایش فضاي ادراري) و انبساط گلومرولی(نبود فضای اداری) (زیاد)، نکروز سلولی پروکسیمال و دیستال(زیاد)، خونریزی و پرخونی(زیاد)، هیپرتروفی سلولی (زیاد) و نکروز سلولی(زیاد) مشاهده گردید (شکل ۲۴).



شکل ۲۴- مشاهده اتساع فضای گلومرولی(IG) و نکروز سلولي پروکسیمال و دیستال در کلیه (N) (x20، H&E)

ج - آسیب های بافت کلیه در تیمار ۴ تا ۹ ppt

در بررسی مقاطع بافتی تهیه شده از کلیه بچه ماهیان ازون برون تیمار شده با شوری ۴ تا ۹ ppt از وجود آسیب های بافتی شامل: اتساع فضای گلومرولی و انبساط گلومرولی (زیاد)، نکروز سلولی پروکسیمال و دیستال(نسبتا زیاد)، بافت خونساز (زیاد)، خونریزی(کم) و نکروز سلولی(زیاد) حکایت می نماید (شکل ۲۵).



شکل ۲۵- مشاهده نکروز سلولی در کلیه (N) (H&E ،x40)

٤-بحث و نتیجه گیری

شوری یکی از فاکتورهای مهم شیمیایی آب یک عامل مهم محیطی است که بر تنظیم اسمزی، ایمنی و بقای آبزیان تأثیر می گذارد (Vargas-Chacoff *et al.*, 2009) . .(دریاهای آزاد دارای سطح شوری نسبتاً پایدار بوده اما مناطق جزر و مدی و مصب ها و برکه های آب دریا مستقر در خشکی دارای سطوح مختلف شوری می باشند. ضرورت رهاکرد بچه ماهیان خاویاری جهت بازسازی ذخایر به منابع طبیعی مانند دریای خزر از یک سو و مزایای پرورش ماهیان خاویاری درآب های لب شور مانند دریای خزر به دلیل وجود منابع فراوان آب های لب شور، کاهش هزینه تولید و کیفیت و مزه بهتر گوشت ماهیان تولید شده، استفاده از آب های لب شور خصوصا دریای خزر جهت پرورش ماهیان مختلف از جمله ماهیان خاویاری جهت تامین پروتئین مورد نیاز را ضروری ساخته است. با توجه به ضرورت مذکور لزوم بررسی و تعیین شاخص‌های بهداشتي ماهیان پرورشی از جمله ماهیان خاویاری خصوصا بچه ماهیان جهت بقاء و رشد در آب های با شوری های مختلف را به عنوان پیش نیاز سرمایه گذاری و مدیریت پرورش ماهیان در منابع آبی مذکور را ضروری می سازد. شناسایی و معرفی عوامل مختلف بیماریزا در آب های با شوری های مختلف همچنین بررسی و تعیین آسیب های بافتی ایجاد شده در شوری های مختلف می تواند در اعمال مدیریت بهداشتی موثر و کارآمد و در نتیجه جلوگیری از بروز بیماری ها نقش ویژه ای نماید.

٤-١- وضعیت ظاهری ماهیان

بر اساس نتایج حاصل از بررسي هاي بالیني بچه ماهیان ازون برون قبل از انتقال به تیمارهای شوری ۰/۵ -۰ ppt، ۴- ۰/۵ ppt، ۹-٤ ppt و ۱۳-۹ ppt هیچگونه علائم خونریزی و ضایعه در پلاک های استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن، تورم شکمي و شناي غیر طبیعي مشاهده نگردید و کلیه ماهیان مورد بررسی دارای رنگ و ظاهری طبیعی بودند و نشانه اي مبنی بر بیماري در آنها مشاهده نگردید. از جمله اقدامات عملی در جهت کاهش احتمال بروز بیماری قبل از انتقال ماهیان به آب لب شور علاوه بر انتخاب دقیق محل نگهداری، 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).

اگرچه در این مطالعه در طی یک ماه عادت دهی بچه ماهیان ازون برون به شوری های مختلف مورد نظر در این مطالعه هیچگونه علائم خونریزی و ضایعه در پلاک های استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن مشاهده نگردید و کلیه ماهیان مورد بررسی دارای رنگ و ظاهری طبیعی بودند اما بر اساس سایر مطالعات انجام شده، بروز خونرزی های جلدی در اطراف پلاک های استخوانی خصوصا پلاک های سطح شکمی ماهیان خاویاري پرورشي در آب شیرین و لب شور گزارش شده است. بر اساس گزارش شناور و همکاران (۱۳۸۸) بروز زخم در پلاك هاي شکمي بطور عمده در ماهیان پرورشي خاویاري در آب شیرین و لب شور مشاهده می گردد و بر اساس نتایج ذکر شده در گزارش مذکور بیشترین میزان

ضایعات در هر پنج گونه از تاس ماهیان پرورشی در ناحیه شکمی بوده و پوست و پلاک های این ناحیه بیش از پوست و پلاک های بقیه نواحی بدن داراي زخم می باشند.

همچنین در بررسی جلیل‌پور و همکاران (۱۳۹۲) از ۲۴۰ عدد از فیل ماهی پرورشی در قفس‌های مستقر در دریای خزر در مدت ۵ ماه وجود علائم خونریزي در محل پلاك‌هاي استخواني به خصوص در ناحیه شکمي ۱۰/۴۱ درصد فیل ماهیان بررسی شده را گزارش نمودند . از مهمترین دلایل عدم ایجاد خونریزی و زخم در پوست ماهیان ازون برون مورد بررسی در این مطالعه بر خلاف برخی از مطالعات ذکر شده را می توان با دوره کوتاه نگهداری ماهیان، تراکم پایین ماهیان، نگهداری ماهیان در وان های فایبرگلاس به جای نگهداری در حوضچه های بتونی و قفس های توری و نیز عدم دستکاری ماهیان مرتبط دانست. اگرچه در مطالعه حاضر هیچگونه علائم خونریزی و ضایعه در پلاک های استخوانی، قاعده باله ها، سر و سطح بدن، تورم شکمي، شناي غیر طبیعي و سایر نشانه هاي مبنی بر بیماري مشاهده نگردید اما با توجه به بروز برخی زخم های پوستی در ماهیان خاویاری پرورشی در آب لب شور، لزوم انجام مطالعات جامع تر در خصوص نقش عوامل بیماریزا در ایجاد خونریزی و زخم در پوست ماهیان خاویاری پرورشی را ضروری می سازد.

٤-۲- باكتري شناسي

در این مطالعه با توجه به عدم مشاهده جراحت و ضایعه در پوست و آبشش ماهیان در تیمارهای مختلف، از قسمت‌های مذکور عوامل باکتریایی جداسازی نگردید. در مطالعات انجام شده توسط سایر محققین از جراحت و ضایعات پوست و آبشش ماهیان خاویاری انواع مختلفی از عوامل باکتریایی جداسازی و شناسایی گردید. بر اساس نتایج مطالعه انجام شده توسط ابوالقاسمي و همکاران (۱۳۸۹) از محل زخم در پلاك‌هاي شكمي ماهيان خاوياري در آب شيرين و لب شور باكتري‌هايي از جنس Acinetobacter، Aeromonas، Staphylococcus، Pseudomonas و باکتری‌های Enterobacteriaceae جداسازي گرديد. همچنین جلیل‌پور و همکاران (۱۳۹۲) از پوست فیل ماهیان نگهداری شده در آب شیرین باکتری‌های Enterobacteriaceae، *Staphylococcus*، *Acinetobacter sp*، *Pseodomonas* و *Aeromonas sp* جداسازی و اعلام نمودند که باکتری‌های Enterobacteriaceae بیشترین درصد باکتری های جداسازی شده را به خود اختصاص داده‌اند. بر اساس مطالعه مذکور بعد از رهاسازي و پرورش فیل ماهیان در قفس‌های مستقر در آب لب شور دریای خزر از پوست و آبشش ماهیان مورد بررسی باکتری‌های Enterobacteriaceae و باکتري‌هايي از جنس *Pseodomonas*، *Acinetobacter*، *Halomunas* و *Shewanella* جداسازی و مشخص گردید باکتری های *Pseodomonas luteola* و *Acinetobacter baumanni* بیشترین درصد باکتری های جداسازی شده را به خود اختصاص داده اند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعات محققین مختلف مشخص گردید ترکیب فلور باکتریایي موجود در پوست ماهیان با آب پرورشي مطابقت داشته و این موضوع مشخص می‌نماید که فلور سطحي ماهیان انعکاسي از میکروفلور محیطي آنها است (Cahill, 1990). در مطالعه حاضر نسبت به نمونه برداری از روده ماهیان جهت تعیین فلور باکتریایی اقدام گردید. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، در

مقایسه شمارش کلی باکتریایي روده بچه ماهیان در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده می گردد. بر اساس نتایج مذکور میزان کل باکتری های شمارش شده در تیمارهای شوری ۴-۰/۵ ppt و ۹-۴ ppt کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمارهای شوری ۰/۵-۰ ppt و ۱۳-۹ ppt نشان می دهد. کاهش تعداد فلور باکتریایی روده در تیمارهای شوری ۴-۰/۵ ppt و ۹-۴ ppt نسبت به تیمار شوری ۰/۵-۰ ppt که آب شیرین محسوب می گردد به دلیل تاثیر مقادیر مختلف شوری های مورد بررسی در این مطالعه در جلوگیری از رشد بسیاری از باکتری هایی می باشد که در آب شیرین رشد می نمایند. نتایج مذکور نشان می دهد فلور باکتریایی روده ماهیان در شوری های مختلف تغییر می نماید لذا در استفاده از پروبیوتیک ها در تغذیه ماهیان پرورشی در آب های لب شور باید از پرو بیوتیک هایی استفاده نمود که عوامل باکتریایی تشکیل دهنده آنها جزء فلور باکتریایی روده ماهیان در آب لب شور باشند. مطالعات متعددی جهت شناسایی باکتری های فلور روده گونه های مختلف ماهیان خاویاری خصوصا در ماهیان پرورشی در آب شیرین که جزء باکتری های اسید لاکتیک بوده و می‌توانند به عنوان پروبیوتیک عمل نمایند صورت پذیرفته است. شناور و همکاران در سال۱۳۹۷ از روده تاسماهي سيبري (*Acipenser baerii*) نگهداری شده در آب شیرین باکتری‌های اسیدلاکتیک *Lactococcus garvieae* ، *Weissella confusa* و *Lactococcus lactis* را جداسازی کردند به غیر از باکتری‌های اسیدلاکتیک که باکتری‌های پروبیوتیک محسوب می‌گردند باکتری‌های دیگری که برخی از آنها بیماریزا می‌باشند نیز از روده گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری در مطالعات محققین جداسازی گردیده‌اند. Bauer و همکاران در سال ۲۰۰۲ از تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) بالغ پرورشی در روسیه باکتری‌های *Flavobacterium johnsonae* ، *Aeromonas hydrophila* و *Pseudomonas fluorescence*را جداسازی نمودند.

Austin و Austin (2007) مهمترین باکتری بیماریزای مشترک در ماهیان خاویاری (فیل ماهیان و شیپ) نگهداری شده در محیط‌های دریایی را باکتری *Vibrio anguillarum* معرفی نمودند. Ghorbani و همکاران در سال ۲۰۱۴ از روده مولدین ازون برون (*Acipenser stellatus*) باکتری‌های *Aeromonas, Pseudomonas* و *Salmonella* را جداسازی و گزارش نمودند. براساس نتایج مطالعه Alizadeh و همکاران (2018) از روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) نگهداری شده در استخرهای خاکی باکتری‌های *Aeromonas sorbia*, *Aeromonas hydrophyla*, *Aeromonas sp.*, Entrobacteriaceae و Corynebacterium و از روده بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) نگهداری شده در وان‌های فایبرگلاس باکتری‌های *Aeromonas sp., Micrococcus* و *Staphylococcus* را شناسایی نمودند. Huang و همکاران (2020) از روده ماهیان خاویاری دورگه‌ی (*Acipenser schrenckii*♂× *Acipenser baeri*♀) باکتری‌های *Clostridium* ،*Cetobacterium* و *Lactococcus* و به میزان کمتر *Mycoplasma* جداسازی نمودند .

با توجه به عدم مشاهده نشانه های بیماری های باکتریایی در ماهیان مورد بررسی در این مطالعه نسبت به نمونه برداری و تهیه کشت های باکتریایی از سایر اندام هایی داخلی مانند کبد و کلیه اقدام نگردید. اما بر اساس نتایج مطالعات متعدد صورت گرفته توسط سایر محققین از سایر اندام های داخلی مانند کبد وکلیه باکتری های مختلفی از ماهیان خاویاری

دارای علائم بیماری های باکتریایی جداسازی گردیده است. از مطالعات اخیر صورت گرفته در این ارتباط می‌توان به جداسازی باکتری آئرموناس هیدروفیلا از ماهیان خاویاری شیپ و فیل ماهی پرورشی در آب شیرین توسط میلاد عادل و همکاران (۱۳۹۳) و نیز جداسازی باکتری‌های *Aeromonas hydrophila* و *Pseudomonas flurorescens* توسط Zaharia و Dumitrescu (2010) از ماهیان خاویاری پرورشی در آب شیرین و نیز جداسازی باکتری *Vibrio anguillarum* و باکتری‌های جنس *Cytofaga* را از ماهیان خاویاری پرورشی در آب لب شور توسط توسط آنها را ذکر نمود. همچنین Kayiş و همکاران (2017) از کبد و کلیه ماهیان خاویاری شیپ (*Acipenser gueldenstaedtii*) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) باکتری‌های *Acinetobacter radioresistens*، *Aeromonas sp.*، *Pseudomonas sp* و *Bacillus mycoides* را جداسازی نمودند. در این خصوص همچنین می توان به جداسازی باکتری *Vibrio metschnikovii* از کبد و کلیه ماهیان خاویاری هیبرید توسط Xiao و همکاران در سال 2020 اشاره نمود.

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر و نیز نتایج سایر محققین برخی از عوامل بیماریزای باکتریایی خصوصا عوامل فرصت طلب عفونی قابلیت ایجاد شرایط باکتریمی در ماهیان خاویاری پرورشی در آب لب شور را داشته و از اندام های داخلی و خارجی ماهیان مذکور قابل جداسازی می باشند. این عوامل در شرایط استرس زا رمی توانند ایجاد بیماری و تلفات نمایند (Alicia *et al*.,2005).

۴-۳-قارچ شناسي

آلودگی های قارچی از جمله علل بروز تلفات در صنعت آبزی پروری محسوب می شوند. قارچ ها از مهمترین عوامل بیماریزای عفونی ماهیان پرورشی بوده که می‌توانند ماهیان دارای جراحات و زخم های پوستی، ماهیان بیمار و ماهیان ضعیف شده به دلیل تغذیه نامناسب و ماهیان تحت استرس به دلیل دستکاری های مداوم را در سنین مختلف آلوده نمایند. عوامل قارچی به عنوان عوامل ثانویه از جراحات جلدی ماهیان جداسازی و تاثیرات بیماریزایی و تخریبی آنها پس از تهیه مقاطع آسیب شناسی به اثبات رسیده است (Roberts, 2001). با توجه به این امر می‌توان آلودگی به میکروارگانیسم‌های قارچی را به عنوان یکی از عوامل اساسی در ارزیابی وضعیت بهداشتی آبزیان پرورشی مدنظر قرارداد. هر یک از عوامل قارچی در آب های استخرها و حوضچه های پرورشی در شرایط فیزیکی و شیمیایی ویژه ای رشد می نمایند. شناخت شرایط فیزیکی و شیمیایی رشد عوامل قارچی در آب های پرورشی ماهیان می تواند در اتخاذ تدابیر ویژه در کنترل عوامل مذکور و پیشگیری از آلودگی ماهیان پرورشی موثر باشد. اگرچه نمک در درمان آلودگی های قارچی ماهیان پرورشی آب شیرین در مراحل اولیه بسیار پرکاربرد می باشد اما با توجه به بروز آلودگی های قارچی در ماهیان پرورشی در آب های لب شور مانند دریای خزر ضرورت شناخت عوامل قارچی مقاوم به شوری های مختلف واستفاده از سایر ترکیبات ضدقارچی را ضروری می نماید.

براساس نتایج حاصل از این مطالعه، مقایسه میانگین شمارش کل عوامل قارچی در آب، پوست و آبشش بچه ماهیان پس از تیماربندی آنها در شوری های مختلف از وجوداختلاف معنی‌دار آماری در ارتباط با تعداد عوامل قارچی شمارش شده در تیمارهای مختلف شوری حکایت می نماید. نتایج حاصل نشان داد که تعداد عوامل قارچی در پوست و آب پرورشی در محدوده شوری ۰/۵-۰ ppt به شکل معنی‌داری بیشتر از سایر شوری ها بوده (گونه قارچ) و کمترین تعداد عوامل قارچی در پوست و آب پرورشی در شوری های ۱۳-۹ ppt و ۹-٤ ppt مشاهده می گردد (۴ گونه قارچ) که این امر بیانگر آن است که تعداد زیادی از عوامل قارچی در آب های شیرین و یا با شوری بسیار پایین قادر به رشد و ایجاد آلودگی در ماهیان پرورشی بوده و با افزایش میزان شوری آب تعدادی از عوامل قارچی امکان رشد در آب استخرها و حوضچه های پرورشی و ایجاد آلودگی در ماهیان پرورشی را ندارند. نتایج حاصل از مطالعات سایر محققین نیز تایید کننده نتایج حاصل از این مطالعه می باشد که میزان شوری آب نقش مهمی در تنوع عوامل قارچی دارد (Dighton *et al*., 2005). بر اساس نتایج مطالعات صورت گرفته توسط فیروزبخش و همکاران (۱۳۸۸) تنوع و فراوانی ارگانیسم های قارچی جداسازی شده از آبشش، پوست و باله ماهیان خاویاری پرورشی در آب شیرین بیش از تنوع و فراوانی ارگانیسم های قارچی جداسازی شده از آبشش، پوست و باله ماهیان خاویاری صید شده از آب لب شور دریای خزر می باشد.

بر اساس مطالعه مذکور تنوع گونه های قارچی جداسازی شده از تاسماهیان ایرانی پرورشی در آب شیرین (۱۱ گونه) بیش از تنوع گونه های قارچی جداسازی شده از تاسماهیان ایرانی صید شده از دریای خزر (۹ گونه) می باشد که با نتایج مطالعه حاضر تا حدود زیادی مطابقت دارد. اما در مطالعه حاضر بیشترین گونه قارچی جداسازی شده از تمامی تیمارهای شوری مربوط به جنس پنی سیلیوم *Penicillium sp.* بوده لیکن در مطالعه فیروزبخش و همکاران (۱۳۸۸) بیشترین گونه قارچی جداسازی شده از تاسماهیان ایرانی پرورشی در آب شیرین و نیز صید شده از دریای خزر مربوط به جنس کلادوسپوریوم *Cladosporium sp.* می‌باشد. Zaharia و Dumitrescu (2010) قارچ هاي تريكوفيتون، آسپرژيلوس، پنيسيليوم، ژئوتريكوم، كريپتوكوكوس، ردودرولا و مخمر را از ماهيان و آب پرورشي در بررسي بيماري هاي ماهيان خاوياري در آب شور گزارش نمودند.

همچنین نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعه جامعی که در خصوص وضعیت بهداشتی فیل‌ماهیان پرورشی در آب شیرین و نیز در آب لب شور دریای خزر توسط جلیل پور و همکاران در سال ۱۳۹۲ انجام و مشخص نمود میانگین شمارش کل عوامل قارچي در آب، پوست و آبشش بچه ماهيان پس از معرفي به قفس های مستقر آب لب شور دریای خزر روند كاهشي داشته است مشابه می باشد. در مطالعه مذکور نیز بیشترین گونه قارچی جداسازی شده از آب لب شور دریای خزر و فیل ماهیان نگهداری شده در قفش های مستقر در آن مربوط به جنس پنی سیلیوم *Penicillium sp.* بوده است. از بین قارچ های جداسازی شده برخی از گونه ها به عنوان عوامل بیماریزای احتمالی در آبزیان گزارش شده اند. بطوریکه قارچ *Cladosporium* از عفونت‌های زیر جلدی و عمقی در ماهی کاد آتلانتیک توسط Rechenbach& Klinke (1956) گزارش گردید. همچنین برخی از مخمرها از آب‌های شور و شیرین و نیز از زخم های جلدی و ماهیچه ای نیز

جداسازی شده اند (NNoga,2000). قارچ پنیسیلیوم از جمله قارچ های ساپروفیت محسوب شده و به طور فراوان در طبیعت، خاک، مواد گیاهی و مواد غذایی در حال فساد مشاهده می شود.

٤-٤- انگل شناسی

انگل ها به عنوان یکي از مهمترین عوامل آلوده کننده ماهیان خاویاري بصورت مستقیم و یا غیر مستقیم در بروز بیماري در این ماهیان نقش اساسي ایفا می نمایند. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات انگل شناسی انجام شده در تحقیق حاضر، تنها گونه انگلی جدا شده از بچه ماهیان ازون برون مورد بررسی از گروه های تیمار، انگل تریکودینا .SP بوده که از پوست و آبشش بچه ماهیان خاویاری جداسازی گردید.

با توجه به نتایج مطالعات متعددانجام شده توسط محققین مختلف در ارتباط با ماهیان خاویاری، می‌توان مشاهده انگل‌های تک یاخته خارجی را در استخرهای خاکی و محیط های محصور پرورشی متصور بود. انگل‌تریکودینا از مهمترین‌ترین عوامل انگلی تک یاخته ای شایع در ماهیان خاویاری می‌باشد. این انگل در ایران توسط محققین مختلف از جمله یوسفیان (۱۳۸۱) و (شناور و همکاران،۱۳۸۲،۱۳۸۱، ۱۳۸۰،۱۳۷۹) و شناور (۱۳۸۸) گزارش گردیده است.

براساس مطالعات صورت پذیرفته، آلودگي شدید به مژکداران همزیست سطحي (مانند تریکودینا) معمولا در ماهیان ضعیف یا ماهیاني دیده مي شود که در شرایط محیطي نامناسب نگهداري مي شوند. افزایش مواد آلي محلول در آب و غذا دهي بیش از حد از جمله عواملي هستند که شرایط فیزیکوشیمیایي آب را به هم زده و رشد و تکثیر این مژه‌داران را افزایش مي دهند. تحمیل استرس‌هایي با علل متفاوت به بچه ماهیان پرورشي، موجب کاهش قدرت دفاعي بچه ماهیان در برابر انگل تریکودینا مي گردند (جلالي،۱۳۷۷).

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، درصد شیوع انگل تریکودینا در بچه ماهیان ازون برون نگهداری شده در تیمار شوری ۰/۵-۰ PPT با ۶۶/۷ درصد، دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به درصد شیوع انگل مذکور در بچه ماهیان ازون برون در تیمارهای شوری ۹-۴ و ۱۳-۹ PPT با ۱۱/۱ درصد می‌باشد. ضمن اینکه میانگین شدت انگل نیز با افزایش شوری، کاهش مناسبی را نشان می‌دهد. نتایج مذکور بیانگر آن است که افزایش شوری در حذف انگل خارجی *Trichodina* sp. موثر بوده و یا افزایش میزان شوری آب پرورشی شدت آلودگی به انگل مذکور در پوست و آبشش ماهیان کاهش می‌یابد.

در ارتباط با دلایل عدم مشاهده سایر عوامل انگلی به جزء انگل تک یاخته ای تریکودینا در بچه ماهیان ازون برون نگهداری شده در شوری‌های مورد نظر در این مطالعه می‌توان عنوان نمود که از جمله عوامل موثر در آلودگی ماهیان به عوامل انگلی، وجود میزبان‌های واسط می‌باشند که می تواند در بروز برخی از عوامل انگلی نظیر نماتودها، سستودها و... نقش بسزایی ایفا نماید. با توجه به اینکه ماهیان مورد بررسی در این مطالعه در مدت زمان کوتاهی نگهداری در وان‌های فایبرگلاس و بصورت محصور امکان مهاجرت و تغذیه در مناطق مختلف دریا از موجودات بنتیک نظیر کرم‌ها و...

نداشتند لذا امکان انتقال عوامل انگلی از طریق میزبان‌های واسط به بچه ماهیان مورد بررسی در این مطالعه میسر نگردیده بود. محدود بودن زمان نگهداري ماهیان در یک محیط آبی و در نتیجه کامل نشدن سیر تکامل بسیاري از انگل‌ها، عدم حضور میزبان‌هاي واسط، نامساعد بودن شرایط دمایي جهت تکثیر و رشد بسیاري از انگل‌ها در مدت زمان نگهداري ماهیان در محیط پرورشي را می‌توان از جمله دلایل احتمالي کم بودن تنوع انگلي در ماهیان پرورشي دانست (جلالي جعفری، ۱۳۷۷) .

٤-٥- مطالعات آسیب شناسی

عوامل فیزیکی و شیمیایی آب تاثیر بسیار زیادي روي رشد، بقا و متابولیسم ماهی دارند که تغییر آنها از حد مجاز، به بروز مشکلاتی در پرورش ماهی منجر خواهد شد (Chakraborty and Mirza, 2007) .

شوري از عوامل محیطی مهم و تأثیرگذار بر ماهیان است. در گونه هاي مختلف ماهیان تفریخ تخم ها، جذب کیسه زرده، رشد لاروها و کنترل رشد ماهیان وابسته به شوري محیط است (Boeuf and Payan ,2001) .

با توجه به آنکه ماهیان در تماس مستقیم با محیط آبی پیرامون خود می باشند، تغییر در پارامترهاي آب از قبیل شوري بر آنها اثر می گذارد .ایجاد تغییرات فیزیولوژي در ماهیان پاسخی به تغییرات ایجاد شده در محیط زندگی ماهیان است. از جمله ارزیابی سلامت ماهیان متاثر از تغییرات محیطی مانند تغییرات شوری' آسیب شناسی بافت های اندام های مختلف آنها می باشد. اگرچه تغییرات شوری آب می تواند اندام های مختلف ماهیان را تحت تاثیر قرار دهد اما در برخی از اندام ها تاثیرات تغییرات شوری با شدت بیشتری بروز می نماید.

٤-٥-١- مطالعات آسیب شناسی آبشش

آبشش به عنوان یک اندام تنفسی در تماس مستقیم با آب دریا بوده و جایگاه اصلی تغییرات اسمزی در شوری‌های مختلف می باشد(Luzio et al.,2021 ، Laverty and Skadhauge, 2012) . در زمینه بررسي فیزیولوژي سیستم تنظیم اسمزي، آبشش مهمترین اندامي است که عملکرد تنظیم اسمزي را بر عهده دارد و در اپیتلیوم آبششي، سلول هاي کلراید که داراي دانسیته بالایي از آنزیم Na+, K+-ATPase هستند، مهمترین نقش را در روندهاي تنظیم یوني و اسمزي بر عهده دارند (*et* Evans *al*.,2005) . در اپی تلیوم آبشش سلول هاي کلراید (سلول هاي غنی از میتوکندري) مهم ترین سلول ها براي تبادلات یونی می باشد و با تغییر شوري محیط ساختار این سلول ها دچار تغییرمی شود (Moghadam *et al*.,2013) . این سلول ها، بر روي اپی تلیوم، فیلامنت و لاملاها حضور دارند، اما حضور آن ها در پایه ي تیغه‌هاي آبششی ثانویه پرر نگ‌تر و محسوس تر می‌باشد، با این وجود، برخی از شرایط محیطی می‌تواند در افزایش تعداد سلول‌هاي کلرایدي در لاملاها نقش مؤثرتري داشته باشد. تغییر در تعداد و اندازه سلول‌هاي کلرایدي تاکنون در ماهیان مختلف از جمله تاسماهی ایرانی گزارش شده

است (Khodabandeh *et al*.,2009) . در آبشش تبادلات یونی توسط سلول‌هاي كلراید در اپیتلیوم آبششی انجام می‌شود. سلول هاي كلراید در جذب و ترشح یون ها در استرس هاي شوري نقش ایفا می کنند.

مطالعات انجام شده نشان داده است در ماهیان پس از سازگار شدن به محیط با شوري بیشتر، بر تعدادسلولهاي كلراید آنها افزوده می‌شود كه نشان دهنده نقش كلیدي این سلول ها در سازگاري به محیط جدید است (Carmona *et al*.,2004 ; Altinok *et al*.,1998) . آبشش به دلیل تماس مستقیم و دائمی با محیط آبی نسبت به استرس هاي محیطی حساس است و از آنجایی كه آبشش مهمترین عضو مسئول تنظیم اسمزی می باشد، لذا تغییرات ساختار بافت آبشش می تواند تا حد زیادی بر عملكرد آن تأثیر بگذارد (Allen *et al*.,2011) . با توجه به این امر تغییرات هیستوپاتولوژیک صورت گرفته در آبشش می تواند به عنوان یک نشانگر در ارزیابی اثرات شوري بر ماهی استفاده شود (DiMaggio *et al*.,2004) .

بررسی مقاطع بافتی آبشش ماهیان تحت تیمار با شوری‌های مختلف در این مطالعه از بروز آسیب‌های میکروسکوپیک شامل پرخونی، خونریزی، چسبندگی و چماقی شدن رشته های ثانویه، هیپرپلازی، نکروز سلولی، رسوب هموسیدرین و تخریب لایه اپیتلیوم رشته های اولیه و ثانویه آبشش حکایت می نماید که با افزایش مقادیر شوری در تیمارهای مورد بررسی شدت آسیب های مذکور افزایش می یابد. آسیب‌هاي بافت آبششی مشاهده شده در مطالعه حاضر جزء آسیب‌هاي عمومی بوده كه در شرایط بروز استرس‌های مختلف از جمله وجود آلاینده هاي مختلف روي می‌دهند (Nero *et al*.,2006 Miron *et al*.,2008) . مطالعات مختلف نشان داده است این تغییرات موجب افزایش توانایی ماهی در مقابله با استرس شوري می شود. به عنوان مثال افزایش قابل ملاحظه تعداد سلولهاي اپیتلیومی نشان دهنده شروع ایجاد تغییرات در بافت آبششی است (Mauceri *et al*.,2005) . اگر چه افزایش میزان شوري در محیط و به موجب آن ایجاد تغییرات قابل توجه دربافت آبشش منجر به افزایش سازگاري ماهی می‌شود. با این وجود در بلندمدت تغییرات ایجاد شده موجب كاهش كارایی آبشش در تنفس شده و مشكلاتی را براي سلامت ماهی ایجاد می كند (Nero *et al*.,2006).

هیپرپلازي نیز مانند ادم در آبشش ماهیان یكي از واكنش‌هاي دفاعي بدن در پاسخ به مسمومیت‌ها و آلودگي‌هاي مضر است كه در بررسي ها قابل مشاهده است (Van Heerden *et al*.,2004). بنابراین، هیپرپلازي شایع ترین عارضه در نمونه‌هاي میكروسكوپي آبشش ماهیان به شمار مي‌آید و بیشتر یك پاسخ عمومي به تحریكات اعم از انگل‌ها، ذرات معلق یا آمونیاک و یا هر تحریك دیگر جهت محافظات یا سازش است كه اغلب در مقابل میزان كم عوامل آسیب رسان بروز مي دهد (Roberts, 2001) .

چسبندگي رشته‌هاي ثانویه به یكدیگر مي‌تواند ناشي از تغییر یا انعقاد موكوس از طریق تغییر در تركیب گلیكوپروتئین موكوسي باشد كه در سطح سلول هاي آبششي وجود دارد و توسط فلزات سنگین ایجاد مي‌شود (رضواني گیل كلائي و همكاران، ۱۳۸۵). در این عارضه اپي تلیوم دو تیغه ثانویه مجاور بواسطه هیپرپلازي و یا برآمادگي و در برخي موارد هیپرتروفي اپي تلیوم به هم اتصال مي یابد و موجب توقف تبادل گاز از طریق سطوح مربوطه مي شود .متأسفانه محرک

هاي مختلف ممكن است سبب ايجاد عوارض تقريباً يكسان شوند و تخريب ساختاري آبشش مي تواند پاسخي عمومي به استرس ايجاد شده به وسيله سموم باشد .

به طور كلي تخريب آبشش علاوه بر عوامل انگلي در اثرتحريكات شيميايي كه شامل عوارض اثرات مستقيم مواد سمي مثل نكروز و جدايي اپي تليوم از غشاي پايه وعوارض دفاعي در مقابل مواد سمي از قبيل اتصال تيغه هاي ثانويه و هيپرپلازی اپي تليوم است (ابطحي وهمكاران، ۱۳۸۵) مي تواند باشد. عوارض مشاهده شده در پژوهش حاضر با پژوهش های صورت گرفته توسط شهریاري مقدم و همکاران در سال ۱۳۹۷ بر روي هامون ماهی (*Schizothorax zarudnyi*)، Yohana و Pabloe (۲۰۰۷) بر روی ماهی *Orinocensis metynnis* و نیز با نتایج Nazari و همکاران (۲۰۲۱) بر روی ماهی سفید و Fathollahi و همکاران بر روی بچه تاسماهیان ایرانی انگشت قد که با شوری های مختلف تحت تیمار قرارگرفته بودند مشابهت دارد. هيپرپلازي بافت پوششي، چسبندگي لاملاها، تلانژيكتازي و تزايد سلول‌هاي موكوسي برخي از تغييرات ساختماني آبشش ها هستند و احتمالاً بيانگر واكنش محدود آبشش ماهيان به محرک ها با منشا آب و يا خون مي باشد (حاجي مرادلو،۱۳۷۷).

٤-٥-٢- مطالعات آسیب شناسی روده

روده ماهی‌ها از بافت پوششی استوانه اي كه سطح آن از پرزهاي كوچكی پوشيده می باشد تشكيل شده است. در بین گونه هاي مختلف جزئيات ساختمانی پرزها ممكن است متفاوت باشد. اين پرزها نقش بسيار مهمی در افزايش سطح سلولی ايفاء می كنند، چنين عملی باعث افزايش سطح تماس سلول ها و مواد غذايی در روده می گردد و به اين ترتيب امكان جذب و گرفتن غذا نسبت به سلول هاي فاقد پرز بيشتر می گردد. از جمله ارگان هايی كه در ماهی ها در انجام عمل اسمزي شركت دارند شامل دستگاه گوارش، آبشش، كليه و كبد می باشد. شوري ممكن است محتواي روده، فعاليت آنزيم هاي گوارشی، ميزان جذب مواد مغذي و در نهايت رشد را تغيير دهد (Boeuf and Payan, 2001). طبق نتايج به دست آمده از مطالعات انجام شده طول ريزپرزهاي روده در ماهيان نگهداری شده در آب لب شورو انتقال ناگهانی ماهيان به آب شور بيشترين اندازه را داشته كه نشان دهنده آن است ميزان جذب غذا در اين ماهيان بيشتر است (Abdulhadi, 2005) .

نحوه و زمان رهاسازي ماهيان (از نظر سن ماهی) از مراكز تكثير و پرورش به آب های لب شور مانند دريای خزر بسيار مهم بوده و تاثير بسزايی روي بافت روده و رشد دارد و بچه ماهيان خاويارى كه در وزن های پايين بهتر است كه به صورت تدريجی به شوري آداپته شوند. بررسی مقاطع بافتی آبشش ماهيان تحت تيمار با شوری های مختلف در اين مطالعه از بروز آسيب‌های ميكروسكوپيک شامل افزايش سلول‌های جامی شكل، واكوئله شدن اينتروسيت‌ها، افزايش ضخامت پارين بين چين‌های روده‌ای، نكروز شدن اينتروسيت و پرزهای ميكروويلی و پرخونی حكايت می نمايد كه با افزايش مقادير شوری در تيمارهای مورد بررسی شدت آسيب های مذكور افزايش يافته است.

بررسی و مقایسه آسیب های بافتی روده بچه ماهیان ازون برون در تیمارهای مختلف شوری در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات سایر محققین نشان می دهد آسیب های ایجاد شده نسبت به ماهیان دریایی مانند ماهی سی باس شدیدتر بوده است. نتایج بررسی اشرف و همکاران در سال ۱۳۹۵ نشان داد در تاثیر سطوح شوري هاي۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر و آب شیرین بر روي بافت روده ماهی سی باس آسیایی (Lates calcarifer) به مدت ۳۰ روز، ساختار ویلی ها و آنتروسیت هاي بافت روده کاملاً طبیعی بوده و در محل قرارگیري هسته سلول هاي گوارشی نیز در تصاویر مختلف تفاوت چندانی مشاهده نشد. در تصاویر ارائه شده از تیمارهاي مختلف ضایعات بافت شناسی دیده نشد و ساختار لایه هاي مخاطی، عضلانی و سروز و همچنین سلول هاي موکوسی روده عادي و تغییرات چندانی را نشان نداد. عدم وجود اختلافات معنی‌دار در نتایج مطالعه مذکور نشان داد که ماهی سی باس آسیایی یک گونه مقاوم نسبت به شوري بوده و محیط هاي هایپرهالین را تحمل می کند. همچنین، Mahmoud و همکاران (۲۰۲۱) بروز ضایعاتی مانند نکروز در انتروسیت های روده ماهیان تیلاپیای نیل تیمار شده با شوری های ۱۰ درصد و ۲۰ درصد را گزارش نمودند که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد.

٤-٥-٣- مطالعات آسیب شناسی کبد

کبد به دلیل نقش ویژه‌ای که در متابولیسم بدن دارد یکی از مهمترین اندام‌های بدن ماهیان می‌باشد. بنابراین کبد حساس به آلاینده‌ها و نیز آسیب‌پذیر در برابر ضایعات ناشی از مواد شیمیایی می‌باشد. کبد اندام مناسبی برای بررسی تاثیر محرک های محیطی می‌باشد. بنابراین بررسی ساختار کبد برای ارزیابی سلامت ماهیان روش مناسبی می‌باشد (*et al*.,2020 Shirangi *et al*.,2016 ; Handayani). آسیب‌های کبد می‌توانند موجب اختلال و قطع مکانیسم‌های فیزیولوژیک کبد مانند متابولیسم پروتئین‌ها، کربوهیدرات ها، چربی‌ها و نیز تولید پروتئین پلاسما و صفرا و سم زدایی و در نهایت موجب اختلال در متابولیسم و عملکرد اندام های ماهی گردد (Sattari, 2002).

بررسی مقاطع بافتی کبد ماهیان تحت تیمار با شوری های مختلف در این مطالعه از بروز آسیب‌های میکروسکوپیک شامل رکورد صفراوی، دژنرسانس چربی، هیپرتروفی، پرخونی و خونریزی و نکروز سلولی حکایت می نماید که با افزایش مقادیر شوری در تیمارهای مورد بررسی شدت آسیب‌های مذکور افزایش می یابد.

عوارض مشاهده شده در پژوهش حاضر با پژوهش های صورت گرفته توسط Nazari و همکاران (2021) بر روي ماهی سفید(*Rutilus kutum*) مشابه بوده و بر اساس نتایج مطالعات Nofal و همکاران (2019) که تاثیرات مقایر مختلف شوری بر روی بافت های مختلف ماهی تیلاپیای شکم سرخ (*Coptodon zillii*) را بررسی نمودند مشخص گردید اگرچه ماهی مورد مطالعه جزء ماهیان مقاوم در برابر شوری می باشد اما افزایش بیش از حد شوری آب باعث تغییرات بافتی در ساختار کبد. این ماهی گردیده و آسیب های بافتی شامل دژنراسیون در سلول های کبدی، خونریزی در ناحیه کبد و پانکراس نکروز و ادم، و تجمع رنگدانه هموسیدرین را ایجاد می نماید.

٤-٥-٤- مطالعات آسیب شناسی کلیه

کلیه به عنوان اندامی دفعی نقش مهمی در تنظیم اسمزي، حفظ و نگهداري حالت ثابت آب و تراکم مواد محلول بر عهده دارد. کلیه اندام مهمی است که با تولید ادرار در غلظتها و حجمهاي مختلف، به تنظیم آب و یون هاي بدن ماهیان کمک می‌کند (ستاري،۱۳۸۱). کلیه نقش فعالی در خروج یون‌هاي دو ظرفیتی و حذف آب اضافی به ترتیب در محیط‌هاي هیپواسمتیک (Hypoosmotic) و هیپراسمتیک (Hyperosmotic) دارد (Ghahremanzadeh *et al*.,2014) قطر گلومرول‌هاي کلیوي در گونه‌هاي مختلف ماهیان متفاوت است مثلاً در ماهی کپور علفخوار قطر این گلومرول‌ها همانند ماهیان استنوهالین آب شیرین بزرگ می‌باشد در حالیکه قطر گلومرول‌های کلیوي در ماهیان استنوهالین دریایی، بسیار کوچکتر بوده و در گونه‌هاي یوري هالین در دوره انتقال از یک محیط به محیط دیگر (آبشور و شیرین) متغیر می باشد (2001 , Ostrandef, 2000 ; Schlenk and Benson). بررسی‌هاي بافت‌شناسی کلیه در این تحقیق نشان داد که بچه ماهیان تحت تنش شوري، تغییراتی نسبت به آب شیرین نشان داده اند. مطالعه هیستوپاتولوژی بافت کلیه بچه ماهیان نشان داد که تغییرات بافتي در محیط آب شیرین نسبت به آب لب شور، کاملاً مشهود بوده است و در راستاي سازش پذیري در آب لب شور، افزایش حفره داخلي لوله‌های پیچیده نزدیک و لوله های پیچیده دور و همچنین کاهش قطر گلومرول‌ها مشاهده شد. بنابراین با توجه به تغییر محیط از آب شیرین به آب لب شور، ساختار بافت کلیه بچه ماهیان سفید نیز تغییر یافت.

بررسی مقاطع بافتی کلیه ماهیان تحت تیمار با شوری‌های مختلف در این مطالعه از بروز آسیب‌های میکروسکوپیک شامل اتساع فضای گلومرولی، نکروز سلولی، خونریزی و پرخونی و هیپرتروفی سلولی حکایت می‌نماید.

عوارض مشاهده شده در پژوهش حاضر با پژوهش های صورت گرفته توسط Nazari و همکاران (2021) بر روي ماهی سفید(*Rutilus kutum*)' و نیز تا حدودی با نتایج مطالعه Ali و همکاران (2022) بر روی ماهی تیلاپیا مشابه می باشد. همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعه تاثیر شوری بر روی بافت کلیه بچه ماهیان سفید که توسط بهروزی و همکاران (۱۳۹۴) انجام گرفت مشخص گردید بافت کلیه بچه ماهیان در تمام گروه هاي وزني جهت سازش پذیری با آب لب شور، نسبت به بافت کلیه بچه ماهیان در آب شیرین رودخانه تغییر می نماید بطوریکه در انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به آب لب شور، افزایش حفره داخلي لوله های پیچیده نزدیک (Proximal Convoluted Tubule) و لوله های پیچیده دور(Distal Covoluted Tubule) و همچنین کاهش قطر گلومرول‌ها مشاهده شد. با توجه به ویژگی‌های فیزیولوژیک اختصاصی ماهیان مختلف، تغییرات بافتی ایجاد شده در اندام‌های آنها در زمان قرار گرفتن در معرض مقادیر مختلف شوری متفاوت می‌باشد که از آن جمله می‌توان به تغییرات ایجاد شده در بافت کلیه ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) در اثر سطوح مختلف شوری اشاره نمود. بر اساس نتایج مطالعه حامدی و همکاران (۱۳۹۵) بررسی های آسیب شناسی بافت کلیه در تمام تیمارها برخی تغییرات از جمله هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری، کاهش فضای بومن و افزایش تجمع ملانوماکروفاژها، نفوذ گویچه‌های سفید خون و نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری را نشان داد. به طور کلی، بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، ماهی سی باس سازگاری خوبی در پاسخ به سطوح

مختلف شوری بعد از ۳۰ روز نشان داد. اما بطور کلی بیشترین اثرات بافتی متعلق به تیمار صفر و کمترین اثرات متعلق به شوری ۳۵ درهزار بوده است.

بر اساس اطلاعات حاصل از این مطالعه در نتیجه گیری کلی می توان عنوان نمود ماهیان نگهداری شده در آب لب شور در مقایسه با ماهیان پرورشی در آب شیرین به عوامل میکروبی و انگلی با شدت و تنوع کمتری آلوده می شوند و با افزایش میزان شوری آب، شدت و تنوع این عوامل کاهش می یابد. از سوی دیگر اگرچه بروز برخی از آسیب های عمومی در آبشش، روده، کبد و کلیه بچه ماهیان می تواند در نتیجه استرس های ناشی از دستکاری ها باشد اما افزایش شدت این آسیب ها بیانگر آن است که باید از معرفی بچه ماهیان با وزن های پایین بدون عادت دهی تدریجی به شوری های بالاتر خودداری گردد.

پیشنهادها

۱- با توجه به کمبود منابع آب شیرین جهت پرورش ماهیان خاویاری به منظور استفاده از دریای خزر و سواحل جنوبی آن جهت رهاسازی و پرورش ماهیان خاویاری به عنوان یک ضرورت لازم است تمهیدات لازم جهت کنترل و حذف عوامل بیماریزای آلوده‌کننده ماهیان خاویاری در آب لب‌شور که در مطالعه حاضر و مطالعات سایر محققین شناسایی گردیده‌اند فراهم شود.

۲- نصب فیلترهای مناسب در مسیر انتقال آب لب شور دریای خزر به مزارع پرورش ساحلی ماهیان خاویاری و ضدعفونی آب لب شور قبل از ورود به استخرهای پرورشی ضروری می باشد.

۳- ضروری است جهت معرفی بچه ماهیان به منظور پرورش یا رهاسازی در آب های لب شور از جمله دریای خزر، نسبت به تهیه بچه ماهیان از مراکز تکثیر و پرورش دارای گواهی بهداشتی و نیز قرنطینه نمودن بچه ماهیان و بررسی عدم آلودگی آنها به عوامل بیماریزای عفونی اقدام گردد.

۴- ضروری است با توجه به تفاوت‌های بین گونه‌ای تاسماهیان نسبت به بررسی تأثیرات مقادیر مختلف شوری در کنترل آلودگی‌های میکروبی و انگلی تحقیقات جامعی صورت پذیرد.

۵- پیشنهاد می‌گردد با توجه به تاثیر شوری در فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهیان نسبت به جداسازی و بررسی اثر پروبیوتیک های اختصاصی از ماهیان نگهداری شده در آب لب شور دریای خزر اقدام گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مساعدت ریاست و معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری جناب آقای دکتر علیرضا شناور ماسوله و جناب آقای دکتر محمود محسنی و نیز مشاوران و همکاران محترم پروژه آقایان ، مهندس جلیل جلیل پور، خانم دکتر باقرزاده، دکتر سهیل بازاری مقدم، مهندس مهدي علیزاده، دکتر ذبیح ا... پژند، دکتر علي حلاجیان، مهندس مجید پورصفر، مهندس هوشنگ یگانه و دکتر اسماعیل حسین نیا و مهندس عشوری صمیمانه تشکر و قدرداني نموده و توفیقات روز افزونشان را از خداوند متعال خواستارم.

منابع

- ابطحي، ب.، بهمني، م.، شريف پور، ع .، اسماعيلي ساري، ع .، كا ظمي، ر.، حلاجيان.ع .، ۱۳۸۵. گزارش نهايي بررسي آثار هيستوپاتولوژيك ناشي از عوامك زيست محيطي درياي خزر روي ماهيان خاوياري .موسسه تحقيقات شيلات ايران .٦٨ ص.
- ابوالقاسمي، س .ج.، سلطاني، م.، پور كاظمي، م.، شريف پور، ع.، جلالي جعفري، ب .و شناور ماسوله، ع.، ۱۳۸۸ . شناسايي وجدا سازي باكتريهاي موجود در ضايعات خارجي ماهي پرورشي شيپ(*Acipenser nudiventris*) در مجتمع تكثير و پرورش ماهيان خاوياري شهيد دكتر بهشتي .مجله علمي -پژوهشي شيلات، واحد آزاد شهر .صفحات ۹۸-۸۹.
- بازاری مقدم، س.، شریف روحانی، م.، شریف پور، ع.، حقیقی، ع.، مهرابی ، م.، معصوم زاده، م.، جلیل پور، ج.، علیزاده، م.، شناور ماسوله، ع.، پژند ، ذ.، پوردهقانی، م. حلاجیان، ع.، صادقی، م.،یزدانی ، م.،پور علی، ح. ۱۳۹۲. بررسی تاثیر عصاره های سیر و آویشن شیرازی درکنترل انگل های خارجی بچه تاسماهی ایرانی. رشت: موسسه تحقیقات شیلات ایران، ١٤٤ صفحه.
- بهروزی، ش.، فارابی، و.، هدایتی فرد، م.، شریفیان، م.. ۱۳۹٤ . بررسی اثر شوری بر نرخ بازماندگی و تغییرات بافت کلیه بچه ماهی *Rutilus frisii* kutum نشریه دامپزشکی. پژوهش و سازندگی شماره ۱۰۷ ' صفحات ۳۷-۳۱.
- پورعلي فشتمي ،ح. ر.، پوركاظمي، م .، ارشد.ع ، و ؛ محسـني.م ،۱۳۸۵. پرورش تاسماهيان در مناطق ساحلی. گزارش نهايي پروژه مشترك با محيط زيست دريای خزر (حمايت مالی كوچک CEP) انستيتو تحقيقات بين المللی ماهيان خاوياری. ۱۰۰ ص.
- پورغلام، رضا. ۱۳۷۲. بررسي درصد و شدت آلودگي ماهيان خاوياري به انگل پلي‌پوديوم هيدروفيورم، بولتن علمي شيلات ايران، ش، ص- ۱۳.
- توكل ،س،. مطلبی، ع ،. بهمنی .م ،. حلاجيان ؛ ع ،. جلالی .ب،.۱۳۸۸. بررسی انگل‌های آبشش ماهيان خاوياری در دريای خزر و آب شيرين. پاتوبيولوژی مقايسه ای ايران' دوره:٦ ' شماره:۳ ' صفحات ۸٤-۷۷.
- جلالی جعفري، ب. ۱۳۷۷. انگل‌ها وبيماريهای انگلی ماهيان آب شيرين، چاپ اول، تهران، معاونت تكثير و پرورش آبزيان صفحات ٦۳-۲٤.
- جليل پور ،ج،. شناور ماسوله، ع ،. عليزاده. م ،. معصوم زاده ؛ م ،. بازاری مقدم.س، .مهرابی ،. م، ر ،. ۱۳۹۲. بررسي فلور باكتريايي فيل ماهيان پرورشي (*Huso huso*) قبل و پس از رهاسازی در قفس دريای خزر. مجله علمي پژوهشي- زيست شناسی دريا / دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال پنجم. شماره بيستم. ص ۵۳-٤۵ .
- حاجي مرادلو، . م .۱۳۷۷ . بررسي آنومالي هاي آبشش ماهيان خاوياري در جنوب شرقي درياي خزر. اولين سمپوزيوم ملي ماهيان خاوياري، رشت.

- حامدی، ش.، رحیمی، ر.، نفیسی بهابادی، م.، عضدی، م.، سلیمانی ، ز . ۱۳۹۵ . تأثیر سطوح مختلف شوری بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ماهی سی باس آسیایی.(*Lates calcarifer*) مجله منابع طبیعی دوره ۹۶ ، شماره ۳۱ ص۳۳۹-۳۳۱.
- خلخال، ر،. ۱۳۷۹. فلور قارچي مراحل مختلف تکثیر تاسماهیان در کارگاه شهید بهشتي، پایان‌نامه جهت دریافت دکتراي عمومي دامپزشکي، دانشگاه تهران، ٦٢ ص.
- دانش خو ش اصل، ع،. ۱۳۷۷. بررسی مقدماتی پرورش فیل ماهی در آب های شیرین و لب شور. خلاصه مقالات اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. ٦ صفحه.
- رحماني، ح .١٣٦٤. بررسي میزان آلودگي تاسماهیان سواحل جنوبي دریاي خزر به آمفلینا فولیاسه‌آ، پایان‌نامه دکتراي دامپزشکي، دانشکده دامپزشکي دانشگاه تهران.
- رضواني گیل کلایي، س.، شریف پور .، کاظمي، ر.، غلامي پور، س.، سعیدي، ع.ا.، پرداختي، ع.ر.، نصراله زاده، ح.، حلاجیان، .، نجد پور، ش. ۱۳۸۵ . گزارش نهایي بررسي آثار هیستوپاتولوژیك ناشي از برخي آلاینده هاي زیست محیطي دریاي خزر روي ماهیان استخواني شکارچي آزاد و سوف دریاي خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ٤٨ ص.
- ساداتاخوي، ر،. ۱۳۷۲. بررسي آلودگي قارچي تخم تاسماهیان در کارگاه تکثیر و پرورش ماهي شهید بهشتي (سدسنگر)، پایان‌نامه جهت دریافت دکتراي عمومي دامپزشکي دانشگاه تهران.
- ستاري. م،. ۱۳۷۸. بررسي شیوع آلودگي هاي کرمي داخلي ماهیان خاویاري صید شده از سواحل جنوبي غربي دریاي‌خزر. دانشکده دامپزشکي دانشگاه تهران، ٢٥٤ ص .
- ستاري، م .،۱۳۸۱. ماهی شناسی، تشریح و فیزیولوژي .انتشارات نقش مهر، صفحه ۱۳۸ و ٦٥٩.
- سرافراز، ژ.، و اکبریان، م.، ۱۳۸٤ . مروري بر بیولوژي ماهیان خاویاري خزر .انتشارات نقش مهر، ٦٤ صفحه.
- سفلایي، ن .۱۳۷۸. بررسي باکتري‌هاي گرم منفي غالب در تاسماهیان سد سنگر، پایان‌نامه جهت دریافت کارشناسي ارشد رشته شیلات، دانشکده منابع طبیعي و علوم دریایي دانشگاه تربیت مدرس، ٨٤ ص .
- سلطاني، م .۱۳۷۹. ایمن‌سازي ماهي قره‌برون بر علیه باکتري آئروموناس هیدرفیلا،گزارش نهایي پروژه، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۲۹ ص .
- شریف پور، ع. ذریه زهرا، ج. معصومیان، م. پازوکی، ج. قیاسی، م. سعیدی، ع. کارگرموخر، ر. فلاحی، ر. اسماعیلی، ف. نظری، ع.، ۱۳۸۵. روشهای آزمایشگاهی بیماری‌های ماهی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۰۷ ص.
- شناور ماسوله، ع .، پور کاظمي، م.، ستاري، م.، جلیل‌پور، ج.، معصوم زاده، م .، ۱۳۸۲. گزارش‌نهایي پروژه بررسي کمي‌و کیفي بچه ماهیان خاویاري (بخش‌کنترل‌کیفي)، موسسه تحقیقات شیلات ایران.

- شناور ماسوله، ع ،. ستاري، م،. معصوميان، م،. ابراهيم زاده موسوي، ح،. جليل‌پور، ج،. معصوم زاده، م ،. بازاري مقدم ، س ،.۱۳۸۱. گزارش نهايي پروژه بررسي كمي‌وكيفي بچه ماهيان خاوياري(بخش كنترل كيفي)، موسسه تحقيقات شيلات ايران.
- شناور ماسوله، ع ،. سعيدي، ع. رستمی، ح. پورکاظمی، م. بازاری مقدم، س. جلیل پور، ج. معصوم زاده، م. علیزاده، م. پوردهقان، م. کاظمی، ر. صادقی راد، م. حقیقی، س. ۱۳۸۸. گزارش نهايي طرح ملی بررسی وضعیت بهداشتی مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری ، موسسه‌تحقیقات شیلات ایران. ۳۹۰ صفحه.
- شناور ماسوله، ع ،. سلطاني، م،. معصوميان، م،. ابراهيم زاده موسوي، ح،. جليل‌پور، ج،. سيف‌زاده، م،. ۱۳۷۹. گزارش نهايي پروژه بررسي كمي و كيفي بچه ماهيان خاوياري (بخش كنترل كيفي)، موسسه تحقيقات شيلات ايران.
- شناور ماسوله، ع ،. سلطاني، م،. معصوميان، م،. ابراهيم زاده موسوي، ح،. جليل‌پور، ج،. ۱۳۸۰. گزارش نهايي پروژه بررسي كمي‌و كيفي بچه‌ماهيان خاوياري (بخش كنترل كيفي)، موسسه تحقيقات شيلات ايران.
- شناور ماسوله، ع ،. معصوميان، م،. سلطاني، م،. زارع گشتي، ق،. كوچكيان صبور، ا،. سيف‌زاده، م،. وهابي ، ي،. عفت پناه، ا،. درويشي، ف .۱۳۷۹. بررسي فلور باكتريايي مراحل تخم، لارو ، انگشت قد و فون انگلي بچه ماهيان خاوياري در كارگاه تكثير و پرورش شهيد بهشتي ، ۸۱/۷۰۸گ ن، موسسه‌تحقيقات‌شيلات ايران، ۳۳ ص.
- شناور ماسوله، ع. پورکاظمی، م. سلطاني، م. ، يارمحمدي، م. ، يزداني، م. عليزاده، م. ، جليل پور، ج بازاري مقدم، س. ، معصوم زاده، م. ، حسيني فر ، ح. اسماعيلي، پ. ، بني اسماعيلي، ی.. ۱۳۹۷. جداسازي و شناسايي مولكولي باكتريهاي توليد كننده اسيد لاكتيک از روده تاسماهي سيبري (*Acipenser baerii*)
- عادل، م. سعيدي، ع.ا و صفري .، ر. ۱۳۹۳. بررسی علل تلفات ماهيان خاوياري پرورشی (فيل ماهی و ماهی شيپ) در استان مازندران طی سال هاي ۹۰- ۱۳۸۸. مجله شيلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. سال هشتم، شماره سوم، پاييز ۹۳ /صفحات: ٤٦-۳۹
- غروقي، . ۱۳۷۵. بررسي آلودگي انگل ديپلوستوموم (ديپلوستوميازيس) در بچه تاسماهيان پرورشي، بولتن‌علمي شيلات ايران، ش، ص۲۲ .
- غروقي، ا .۱۳۷۳. شناسايي انگل‌هاي كرمي لوله گوارشي و خوني ماهي قره‌برون در سواحل جنوبي درياي‌مازندران، گزارش نهايي پروژه، مركز تحقيقات شيلاتي استان مازندران، ۹ ص.
- غروقي، ا .۱۳۷۳. شناسايي انگل‌هاي فيل‌ماهي در سواحل جنوبي‌درياي مازندران، گزارش نهايي پروژه، مركز تحقيقات شيلات مازندران، ٣٤ص .

- 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 ٦٤. شماره٤. ۲۹۵-۲۹۱ .
- کاکوزا، الف. ، ۱۳۸۰. روش های نوین تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. دوره کوتاه مدت آموزش ضمن خدمت کارشناسان شیلات. لنستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ٦۰ صفحه.
- کر، د. ، ۱۳۷۷. پرورش ماهیان خاویاری به روش پن کالچر در خلیج گرگان تا وزن بیش از ۳۰گرم . مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. ٦٥ صفحه.
- کیوان، ا.، ۱۳۸۱ . مقدمه اي بر بیوتکنولوژي پرورش ماهیان خاویاري .انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی .۲۷۰ ص.
- مالکوم، سی.ام. بوریچ.، مترجم، غلامرضا شیرازی.، ۱۳۸۰. پرورش آبزیان در قفس، اداره کل آموزش و ترویج، ۳۸٤
- مخیر، بابا .۱۳۵۲. فهرست انگل هاي ماهیان خاویاري تاسماهیان (Acipenseridae) ایران، مجله دانشکده دامپزشکي.
- مخیر، بابا .۱۳۵۹. بررسي انگل هاي ماهیان حوزه سفیدرود، نامه دانشکده دامپزشکي دانشگاه تهران.
- نیاك، علاءالدین. کهنه‌شهري، مجید و آذري، قباد .۱۳٤۹. آلودگي به تریکودینا در ماهیان خاویاري بحرخزر، نامه دانشکده دانشگاه تهران، دوره، شماره .
- یوسفیان، م. قیاسی، م. فیروزکندیان، ش. ملائی، ح. زاهدی، آ. ۱۳۸۱ . پایش کمی و کیفی و بهداشتی بچه ماهیان خاویاری در مجتمع تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی .
- AL Abdulhadi, H.A. 2005. Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapla spilurusI*) and Sea Bream (Myliocuvieri). Egyptian Journal of Aquatic Research. 31(1): 387-396.
- 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
- Alizadeh Roodposhti M., Sattari M., Khara H., Shenavar Masouleh A.R. 2018. Comparative study on bacterial flora of the intestine in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerlings reared in fiberglass tanks and earthen ponds. Iranian Journal of Fisheries Sciences 17(4) 629-640.
- 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.
- Altinok, I., Galli, S.M. and Chapman, F.A.,1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturegeon, *Acipenser oxyrinchus* desotoi. Comp. Biochem. Physiol., 120A:609-616.
- Amira I. Nofal1*, Nahla H. El-Shaer2 and Amany E. Nofal., 2019. Molecular and Histological Studies of Salinity effect on gills and liver of *Coptodon zillii* in Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries Zoology Department, Faculty of Science, Ain Shams University, Cairo, Egypt. Vol. 23(2): 275 – 290.
- Asadi, F., & Halajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P. & Jadidizadeh, F. 2006. Serum biochemical parameters of *Huso huso*. Comparative Clinical Pathology. 15:245–248.
- Austin, B.; Austin, D.A. 1993. Bacterial Fish pathogens: Disease in Farmed and Wild fish. 2nd Edition, Ellis Horwood Ltd. Chichester, pp.376.
- Bauer, ON, Pugachev, ON, Voronin, VN. 2002. Study of parasites and diseases of sturgeons in Russia: a review. J. Appl. Ichthyol18:420–429.
- Berger, V. J., and Kharazova, A. D. 1997. Mechanisms of salinity adaptations in marine molluscs. Hydrobiologia 355, 115–126.
- Bugrov, L., 1999. Marine culture of Caspian beluga in underwater cages: Off-shore prospects. Journal of Applied Ichthyology, 15(4-5),324-325.
- Cahill M. 1990. Bacterial flora of fishes. Microbial Ecology volume 19, pages 21–41.
- Chakraborty, B.K. and Mirza, M.J.A., 2007. Effect of stocking density on survival and growth of endangered bata, Labeo bata (Hamilton–Buchanan) in nursery ponds. Aquaculture, 265(1-4), 156-162.

- Czeczuga, B.; Maszynsko; Wossughig. Damalya. Kisiewiczb.(1995):Aquatic faungi growing on the eggs of several species Acipencer fishes ACTAIchthtolohica Piscatoria
- David H. Evans , Peter M. Piermarini , and Keith P. Choe. . 2005. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. American Physiological Society. Physiol Rev 85: 97–177.
- 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.
- Dulski , T., Kujawa , R., Martyna Godzieba , M., and Ciesielski, S.,2020. Effect of Salinity on the Gut Microbiome of Pike Fry (*Esox lucius*). Applied sciences., 10, 2506, 217.
- Fernando. 1972. Methods for the Study of Freshwater Fish Parasites. Department of Biology, University of Waterloo, 76 pages.
- Gagnaire, B., Frouin, H., Moreau, K., Thomas-Guyon, H., and Renault, T. 2006. Effects of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, Crassostrea gigas (Thunberg). Fish Shellfish Immunol. 20, 536–547. doi: 10.1016/j.fsi.2005.07.003
- Ghahremanzadeh Z., Bani A., Imanpoor Namin J., Hallajian A., 2014. Comparative investigation of kidney tubules of *Kutum, Rutilus* frisii kutum in brackish water (Caspian Sea) and fresh water (Khoshkrood River). Journal of Animal Researches 27, 134-142.
- Ghorbani-Choboghlo, H.; Khosravi, A. R.; Sharifzadeh, A. ; Taghavi, M.; Darvishi, S.; Ashrafi, Tamami, I.; Erfanmanesh, A. 2014. Gastrointestinal microflora of captured stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*, Pallas, 1771) from Southeast Caspian Sea, Iran. Iranian Journal of Fisheries Sciences 13(2) 319- 329.
- GillesBœufa Patrick Payanb. 2001. How should salinity influence fish growth? Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. Volume 130, Issue 4, December 2001, Pages 411-423.
- Gussev, A. V., 1983. The methods of collection and processing of fish parasitic monogenean. Nauka, 114-116. (In Russian).
- Holt, J.; Krieg, N. 1994. Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. 9th
- Kayiş, Ş.1; Er, A.1; Kangel, P.2 and Kurtoğlu, İ. Z. 2017. Bacterial pathogens and health problems of *Acipenser gueldenstaedtii* and *Acipenser baerii* sturgeons reared in the eastern Black Sea region of Turkey. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. IJVR, 2017, Vol. 18, No. 1, Ser. No. 58, Pages 18-24
- Keremah R.I., Davies O.A. and Abezi I.D. 2014. Physico-Chemical Analysis of Fish Pond Water in Freshwater Areas of Bayelsa State, Nigeria. Greener Journal of Biological Sciences. Vol. 4 (2), pp. 033-038.
- Khodabandeh, S., Khoshnood, Z., Mosafer, S. (2009). Immunolocalization of Na+, K+- ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. Aquac. Res, 40; 329–336.
- Kozlov, V.I. 1993. Sturgeon farming. Moscow. VNIRO. 64P.
- Lartseva, L. V., 1992. Microbiological monitoring of sturgeon (acipenseridae) in the Volga delta. Joyrnal of applied ichthyology, vol.15, pp: 291-292.
- Laverty, G., and Skadhauge, E. 2012. Adaptation of teleosts to very high salinity. Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol. 163, 1–6. doi: 10.1016/j. cbpa.2012.05.203
- Luzio, A., Parra, S., Costa, B., Santos, D., Álvaro, A. R., and Monteiro, S. M. 2021. Copper impair autophagy on zebrafish (Danio rerio) gill epithelium. Environ. Toxicol. Phar. 86:103674. doi: 10.1016/j.etap.2021.103674
- Mauceri A., Fossi M.C., Leonzio C., Ancora S., Minniti F., Maisano M., Lo Cascio P., Ferrando S., Fasulo S. 2005. Stress factors in the gills of Liza aurata (Perciformes, Mugilidae) living in polluted environments. Italian Journal of Zoology, 72(4): 285-292.
- Nazari, Y., Sadeghpour, A., Khara, H., 2021. Determination of acute toxicity of sodium chloride and its effect on pathological lesions of gills, liver and kidney of fingerling kutum *Rutilus kutum* (Kamensky, 1901). Caspian Journal of Environmental Sciences, Vol. 20 No. 2 pp. 253-264.
- Noga, EJ 2000, Fish Disease: Diagnosis and Treatment, Iowa State University Press, Iowa, USA, 367 p.
- Ostrandef, G.K., 2000. The laboratory, fish (1sted.). Diego Academic Press. 33P.
- Raikova ,E.V. 1984. polipodioz ikry osetrovikh ;In The fresh water fishes ofEurope; Holcik,J (1989) ,vol.1 , part.2, AULA - Verlag Weisbaden publication .
- Reichenbach-Klinke, H.-H., 1956. Ueber einige bisher unbekannte Hypho-myceten bei verschiedenen Su¨ sswasser- und Meeresfischen. Myco-pathol. Mycol. Appl. 7, 333–347.
- Schlenk, D. and Benson, W.H., 2001. Target organ toxicity in marine and freshwater. Taylo & Francis. pp.
- Shahriari Moghadam M., Abtahi B., Mosafer Khorjestan S., Bitaab M.A. 2013. Salinity tolerance and gill histopathological alterations in Liza aurata Risso, 1810 (Actinopterygii: Mugilidae) fry. Italian Journal of Zoology, 80(4): 503-509.

- Strautmen, I.F. & Tolokonnikov, G. Yu. 1987. Results of experimental rearing of marketable sized Beluga sturgeonat the Yegorlytsk Farm. VNIRO, Moscow, pp. 96-100.
- Van Heerden, D.; Vosloo, A. and Nikinmaa, M. 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1á (HIF-1á) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 69: 271-280.
- Vargas-Chacoff, L., Astola, A., Arjona, F.J., Martín del Río, M.P., García-Cózar, F., Mancera, J.M., Martínez-Rodríguez, G., 2009. Pituitary gene and protein expression under experimental variation on salinity and temperature in gilthead sea bream Sparus aurata. Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol. 154, 303–308.
- Willoughby, I.G., 1994. Fungi and Fish Diseases. Pisces Press. Stirling, Scotland.
- Xiao li Huang, Liang Zhong, Wei Fan, Yang Feng, Guanqing Xiong, Sha Liu, Kaiyu Wang, Yi Geng, Ping Ouyang, Defang Chen, Shiyong Yang, Lizi Yin, Lili Ji . 2020. Enteritis in hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♂ × *Acipenser baeri*♀) caused by intestinal microbiota disorder. Aquaculture Reports. 18. 1-7.
- Yohana M, Pabloe C .2007. Behavioral and gill histopathologyical effects of acute exposure to sodium chloride in Moneda (*Metynnis orinocensis*). Journal of Environmental Toxicology and Pharmacology, 25: 365-372.
- Zaharia. T. Dumitrescu., T. Disease detected at sturgeon reared in fresh and salt water. National institute for marin research and development. Grigore Antipa, Constanta, Romania.

Abstract:

The increase in the world's population and as a result, the increase in the demand for access to proteins of aquatic origin on the one hand and the decrease in freshwater resources have made it inevitable to use saline and brackish water sources for the cultivation of various species of aquatic animals, including sturgeon. For this reason, it is necessary to investigate the effects of different amounts of salinity on cultured aquatic animals, including sturgeon, from different aspects. Due to the importance of examining the health indicators of cultured species in different conditions, in this research, an effort has been made to evaluate the health status of Starry sturgeon (*Acipenser stellatus*) fry kept in 4 salinity ranges 0-0.5 ppt, 0.5-4 ppt, 4-9 ppt, and 9-13 ppt was done. Totally 360 Starry sturgeon fry obtained from the Shahid Dr. Beheshti Sturgeon Restocking and Genetic Conservation Center, which did not have any signs of disease, abnormalities, and skin injuries, were transferred to the brackish water research station of the International Sturgeon Research Institute and to introduce them to the treatments and after a month of acclimatization of the fry to the salinities investigated in this study, sampling, and biometry and performing parasitological, bacteriological and mycological studies based on the standard methods were implemented. In order to evaluate the effects of different salinities on the vital organs of the studied fry, samples were taken and prepared from the gills, intestine, liver, and kidney of fries from the treatments to conduct pathological studies. In this study, due to the absence of signs of viral diseases, sampling and virological studies were not performed. Based on the parasitological studies conducted in this research, *Trichodina* sp. was the only ciliated protozoan parasite that was isolated and identified. The results of parasitological studies in this study showed a significant difference between the prevalence and severity of *Trichodina* sp. isolated from the juveniles of Starry sturgeon are observed in different treatments and with the increase of water salinity, the number of *Trichodina* sp. parasites contaminating the ozone fish decreases. Based on the mentioned results, the highest and lowest prevalence percentages of *Trichodina* sp. in salinity treatments, 0-0.5 ppt with 66.7%, 4-9 ppt, and 9-13 ppt with 11.1% were observed respectively. In the present study, due to the absence of wounds and external injuries, the determination of the intestinal bacterial flora of Starry sturgeon fry in the treatments was carried out, and based on the results, the intestinal bacterial flora of Starry sturgeon fry was kept in saline water was determined freshwater is different and with the increase in salinity, the diversity of bacterial flora decreases, but the population of halophilic bacteria increases. The results of mycological studies indicate a significant decrease in the number and diversity of fungal agents with increasing water salinity and prove the role of salinity in preventing the contamination of sturgeon with fungal agents, which is often secondary. Based on the results of salinity treatment of 0-0.5 ppt, 6 types of fungal agents were identified and 4 types of fungal agents were identified from salinity treatments of 4-9 ppt and 9-13 ppt. Examination of tissue sections of the gill, liver, and skin of Starry sturgeon fish sampled from the treatments that were affected by different amounts of salinity, the occurrence of some microscopic injuries such as hyperemia, bleeding, adhesion and clubbing of the secondary filaments, hyperplasia, cell necrosis, hemosiderin deposition and destruction of the epithelium layer of the primary and secondary strands of the gill, increase in goblet cells, vacuolation of enterocytes, increase in the thickness of paren between intestinal folds, necrosis of enterocytes and microvilli and hyperemia in the intestine, biliary record, fat degeneration, hypertrophy, hyperemia, hemorrhage, and cell necrosis in the liver and expansion of the glomerular space, cell necrosis, hemorrhage and hyperemia, cellular hypertrophy in all fishes treated in different salinities investigated in this study and based on the mentioned results, it was found that with the increase in water salinity, tissue damage occurs with greater intensity and extent.

Keywords: Sturgeon, Salinity, Parasitology, Bacteriology, Mycology, Pathology

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

---

Project Title: Investigation of health indicators of *Acipenser stellatus* in different salinity of Caspian Sea
Approved Number: 2-32-12-009-980154
Author: Mehdi Masoumzadeh
Project Researcher: Mehdi Masoumzadeh
Provincial Researchers: -
Collaborator(s): M. Alizadeh roudposhti, E. Hosseinnia, M. Ghasemi, A. Hallajian, A.R. Shenavar Masouleh, J. Saiadfar, M. Poursafar tabalvandani, J. Jalilpour, S. Bazari Moghaddam, Z. Pajand, A.R. Ashouri, F. Bagherzadeh Lakani, M. Abyar, M. Fallah Shojaei
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution: Guilan Province
Date of Beginning: 2019
Period of execution: 2 Years & 8 Months
Publisher: Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing: 2023

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:

Investigation of health indicators of *Acipenser stellatus* in different salinity of Caspian Sea

Project Researcher:

Mehdi Masoumzadeh

Register NO.

64390