

Original Article



Study of bacterial diseases with significant economic in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Hamedan, Chaharmahal-va-Bakhteyari, Kohgiluyeh-va-Boerahmad, Fars and Zanjan provinces of Iran

Mehdi Soltani ^{1,2*} , Mohamad Azizzadeh ³ , Kazem Abdi ³ , Rozhin Farshgar ¹ , Sepideh Asadi ⁴ 

1. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran.
2. Harry Butler Institute, School of Veterinary Medicine, Murdoch University, WA, Australia.
3. Department of Health and Management of Aquatic Animal Diseases, Iran Veterinary Organization, Tehran, Iran.
4. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran.

Article history:

Received: 14 April 2025
Revised: 2 July 2025
Accepted: 5 July 2025
ePublished: 8 July 2025

*Corresponding author: Mehdi Soltani, Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran. Harry Butler Institute, School of Veterinary Medicine, Murdoch University, WA, Australia.

E-mail: msoltani@ut.ac.ir

Abstract

The annual outbreaks of bacterial diseases cause high economic losses in the aquaculture sector. Thus, study of bacterial diseases which are economically important in some commercial fish species such as rainbow trout required an important consideration. In the present study the outbreak status by economically important bacterial diseases was assessed in farmed rainbow trout in provinces of Hamedan, Chaharmahal-va-Bakhteyari, Kohgiluyeh-va-Boerahmad, Fars and Zanjan. Samples of affected fish were cultured on the appropriate media and the grown colonies were processed for further identification of bacterial genus and species by molecular methods. The obtained data showed that the relative frequencies (RF) for streptococcosis caused by *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*, and *S. dysgalactiae*, lactococcosis caused by *Lactococcus garviae*, yersiniosis caused by *Yersinia ruckeri*, and aeromoniasis caused by *Aeromonas hydrophila* were 12.92%, 19.62%, 3.35%, 24.4%, 28.23%, and 80.61%, respectively. In trout farms of all studied provinces the highest RF was due to yersiniosis, while the lowest RF was due to streptococcosis caused by *S. dysgalactiae*. Secondly, depending on the health management conditions particularly based on the present/absent of stressor factors, the RF of each bacterial disease was different among the studied provinces. These finding results showed that farmed rainbow trout in these provinces are suffering from the outbreaks by these bacterial diseases that can cause severe economic loss in Iran trout aquaculture industry.

Keywords: Streptococcosis, lactococcosis, yersiniosis, aeromoniasis, trout.

Please cite this article as follows: Soltani M, Azizzadeh M, Abdi K, Farshgar R, Asadi S. Study of bacterial diseases with significant economic impact in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Hamedan, Chaharmahal-va-Bakhteyari, Kohgiluyeh-va-Boerahmad, Fars and Zanjan provinces of Iran. J Mar Bio, 2025; 17(2): 52–63. DOI:



مقاله اصلی

مطالعه بیماریهای باکتریایی با اهمیت اقتصادی در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استانهای همدان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، فارس و زنجان

مهدی سلطانی^{۱،*id}، محمد عزیززاده^{۳،id}، کاظم عبدی^{۳،id}، روژین فرشگر^{۱،id}، سپیده اسدی^{۴،id}

۱. گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران.
۲. موسسه هری باتلر، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه مرداک، استرالیای غربی، استرالیا.
۳. دفتر بهداشت و مدیریت بیماریهای آبزیان سازمان دامپزشکی ایران، تهران، ایران.
۴. گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران.

چکیده

هر ساله بروز برخی بیماریهای باکتریایی خسارت اقتصادی بالایی بر صنعت آبزی‌پروری وارد می‌نماید. در این راستا مطالعه بیماریهای باکتریایی با اهمیت اقتصادی در برخی گونه‌های ماهیان مانند ماهی قزل‌آلا از اهمیت قابل توجه برخوردار است. در تحقیق حاضر به بررسی وضعیت شیوع بیماریهای باکتریایی با اهمیت اقتصادی در تعدادی از مزارع قزل‌آلای استانهای همدان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، فارس و زنجان پرداخته شده است. در این راستا از ماهیان مرضی واقع در مناطق مختلف هر استان نمونه‌گیری و کشت باکتریایی داده و از پرگنه‌های رشد یافته برای شناسایی جنس و گونه‌های باکتریایی درگیر به روش مولکولی استفاده شد. نتایج حاصله نشان داد که فراوانی نسبی بیماری‌های استرپتوکوکوزیس با عوامل *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آکالاکتیه* و *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*، لاکتوکوکوزیس با عامل *لاکتوکوکوس گارویه*، یرسینیوزیس با عامل *یرسینیا راکری* و آئرومونازیس با عامل *آیروموناس هایدروفیلا* در مزارع استانهای تحت مطالعه به ترتیب ۱۲/۹۲ درصد، ۱۹/۶۲ درصد، ۳/۳۵ درصد، ۲۴/۴ درصد، ۲۸/۲۳ درصد و ۸۰/۶۱ درصد بود. در مزارع همه استانهای تحت مطالعه بیشترین و کمترین فراوانی نسبی به ترتیب مربوط به بیماریهای یرسینیوزیس و استرپتوکوکوزیس با عامل *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* بود. بعلاوه بسته به شرایط مدیریت بهداشتی بویژه وجود و یا عدم وجود فاکتورهای استرس‌زا فراوانی نسبی هر یک از بیماری‌های مذکور در میان مزارع تحت مطالعه متفاوت بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مزارع قزل‌آلای فوق‌الذکر از بروز بیماریهای مذکور رنج برده و موجب خسارت اقتصادی قابل توجه به صنعت قزل‌آلای کشور می‌شوند.

واژگان کلیدی: استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، یرسینیوزیس، آئرومونازیس، قزل‌آلا

تاریخچه مقاله

- تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱/۲۵
تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۴/۴/۱۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۴/۱۴
تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۴/۴/۱۷

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: مهدی سلطانی، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران. موسسه هری باتلر، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه مرداک، استرالیای غربی، استرالیا.

ایمیل: msoltani@ut.ac.ir

استناد: سلطانی، مهدی؛ عزیززاده، محمد؛ عبدی، کاظم؛ فرشگر، روژین؛ اسدی، سپیده. مطالعه بیماریهای باکتریایی با اهمیت اقتصادی در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استان‌های همدان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، فارس و زنجان. مجله زیست‌شناسی دریا، تابستان ۱۴۰۴؛ ۱۷(۲): ۵۲-۶۳

مقدمه

توسعه پایدار صنعت آبی‌پروری مستلزم توجه ویژه به چالش‌های پیش‌روی این صنعت می‌باشد. در میان چالش‌های عمده صنعت موضوع بروز بیماری‌های نوپدید و بازپدید به عنوان یکی از مهمترین چالش‌های پیش روی این صنعت می‌باشد به طوری که بروز این بیماری‌ها هر ساله خسارت اقتصادی فراوانی را به صنعت وارد می‌کند. به هر حال بسته به گونه‌های ماهی پرورشی و شرایط اکولوژیکی کشورها و مناطق مختلف جهان، اهمیت اقتصادی این بیماری‌ها متفاوت می‌باشد و این مهم با بروز و تشدید چالش تغییرات آب و هوایی به مراتب برای پرورش دهندگان آشکار گردیده است (Mardani et al., 2022). در این میان بروز و ظهور بیماری‌های بازپدید و نوظهور با عوامل باکتریایی و ویروسی از اهمیت بالایی برخوردار است. در ایران تغییرات آب و هوایی دهه اخیر می‌تواند موجب تشدید بیماری‌های عفونی با عوامل باکتریایی گردیده لذا مطالعه مستمر این بیماری‌ها و کسب اطلاع از فراوانی آنها در مناطق مختلف کشور می‌تواند به ارائه راهکارهای مناسبتر و پیش‌گیری و کنترلی آنها منجر شود. این موضوع بویژه از آن جهت مهم می‌باشد که بروز تشدید بیماری‌های باکتریایی نه تنها منجر به وارد کردن خسارات اقتصادی ناشی از تلفات (کاهش تولید) می‌شود بلکه از آنجایی که برخی از این بیماری‌ها مانند استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس از جمله بیماری‌های مشترک ماهی و انسان می‌باشد. لذا تشدید آنها در مزارع موجب افزایش خطرات بهداشت عمومی و مصرف کنندگان را به دنبال خواهد داشت (Soltani et al., 2015; Soltani et al., 2013; 2021; Soltani et al., 2013; 2021). به عنوان مثال در مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۱۳) میزان ۵۶ درصد از مزارع تحت مطالعه در استان چهارمحال و بختیاری به لاکتوکوکوزیس و ۲۰ درصد آنها به استرپتوکوکوزیس مبتلا بودند که هر دو جزء بیماری‌های مشترک انسان و ماهی هستند. بعلاوه در مطالعه مذکور به ترتیب ۶۴ و ۱۲ درصد مزارع قزل‌آلای استان کهگیلویه و بویراحمد به لاکتوکوکوزیس و استرپتوکوکوزیس مبتلا بودند (Soltani et al., 2013). بعلاوه از آنجایی که تشدید این بیماری‌ها می‌تواند منجر به افزایش مصرف بی‌رویه داروها که مشکلات عمده زیست محیطی و اکولوژیکی بر فون و فلورای اکوسیستم‌های آبی کشور شده و همچنین باعث تشدید خطر سلامت مصرف کنندگان از طریق مصرف ماهیان حاوی مقادیر قابل توجه باقی‌مانده داروها در لاشه ماهیان شود. این موضوع از آن جهت مهم است که متأسفانه به علت عدم اجرای برنامه واکسیناسیون علیه این بیماری‌ها در مزارع کشور منجر به استفاده بی‌رویه و مکرر آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت گردیده است (Soltani Miller et al., 2018; et al., 2023). برای مثال در مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۲۳) مقاومت میکروبی عوامل بیماری‌زای پرستینوزیس، استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس و آیرومونازیس جدا شده از مزارع ماهیان قزل‌آلای برخی از استانهای کشور به اریتروماسین و اکسی‌تراسایکلین به میزان ۸۷/۸ درصد گزارش شده است که خود بیانگر استفاده بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد (Soltani et al., 2023). به دلایل مذکور بررسی مستمر بیماری‌های عفونی با عامل باکتریایی در مزارع ماهیان کشور از جمله مزارع قزل‌آلا از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا تحقیق حاضر با هدف مطالعه بیماری‌های باکتریایی شایع در مزارع قزل‌آلای تعدادی از استانهای کشور و تعیین فراوانی نسبی آنها می‌باشد. بدیهی است نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند منجر به ارائه راهکارهای پیش‌گیری و کنترلی توسط سازمانهای مسئول مانند سازمان دامپزشکی کشور شود.

مواد و روش‌ها

مزارع ماهی استان‌های تحت مطالعه

مزارع ماهی قزل‌آلا واقع در محدوده جغرافیایی استانهای چهار محال و بختیاری (شامل مزارع ماهی واقع در مناطق اردل، چلگرد، فارس، سبزکوه، لردگان و بازوفت) کهگیلویه و بویر احمد (شامل مزارع سی‌سخت و مزارع رودخانه بشار)، همدان (شامل مزارع مجتمع گاماسیاب در منطقه نهاوند)، فارس (مزارع ماهی واقع در مناطق اقلید و سپیدان) و زنجان (مزارع منطقه ماهنشان) بودند.

نمونه‌گیری و کشت و جداسازی عوامل باکتریایی از ماهیان مرضی

عملیات نمونه‌گیری و کشت باکتریایی از ماهیان بیمار و به تعداد حداقل ده ماهی از هر مزرعه و در شرایط استریل از بافت کلیه قدامی و یا طحال بر روی محیط تریپتیک سوی آگار حاوی خون گوسفند کشت داده شد. پس از نگهداری پلیت‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت

۷۲ ساعت از پرگنه‌های رشد یافته گسترش‌های رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش‌های کاتالاز و اکسیداز به عمل آمد و از پاساژهای ثانویه در محیط حاوی گلیسرول ۱۵ درصد در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان مطالعات مولکولی نگه‌داری شدند.

مطالعات مولکولی تشخیص جنس و گونه باکتریایی

استخراج DNA

برای تشخیص ایزوله‌های باکتریایی به دست آمده با تاکید بر شناسایی عوامل مولد بیماری‌های یرسینیوز، لاکتوکوکوز و آئروموناز، استرپتوکوکوز انجام شد. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سینا کلون) انجام و کمیت و کیفیت DNAهای استخراجی به روش الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ و اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمایش‌های PCR

برای انجام آزمایش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ذکر شده و سیکل حرارتی ترموسایکلر (BIO-RAD, USA) بیان شده در جدول ۱ استفاده گردید. آزمایش PCR با حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای اختصاصی، ۵/۱۲ میکرولیتر مستر میکس حاوی آنزیم Taq پلیمرز، dNTPs، بافر PCR، و ۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه و ۴ میکرولیتر DNA الگو بود. الکتروفورز محصول PCR بدست آمده با استفاده از بافر TBE 1x و ژل آگارز ۱٪ (شرکت سیناژن) انجام (۷۰ میلی‌لیتر ژل حاوی ۴ میکرولیتر محلول رنگی (Gene DireX) و میزان ۵ میکرولیتر محصول PCR به چاهک‌های ژل تهیه شده اضافه و الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد). بعلاوه از نمونه‌های کنترل مثبت و منفی نیز مارکر (Gene DireX ۱۰۰bp) استفاده شد و اندازه باندهای حاصله با استفاده از ترانس لومیناتور (BIO-RAD, USA) تعیین گردید. از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و گونه‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه، یرسینیا راکری، آئروموناس هیدروفیلا، استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه (گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (Soltani et al., 2025).

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده برای تشخیص گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی در این مطالعه

(Soltani et al., 2025).

جنس/گونه باکتری	توالی پرایمر 5'-3'	دما (°C)	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
استرپتوکوکوس	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	۵۵	۵۰۰	Conrads et al., 1997
	GTACCGTCACAGTATGAACTTTCC			
استرپتوکوکوس اینیایی	GTCGTAACAAGGTAAGCCGTATCG	۴۵	۵۱۴	Soltani et al., 2005
	CTTACCTTAGCCCCAGTCTAACGAC			
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	TTTGGTGTTCACACTAGACTG	۵۰	۱۲۰	Meiri- Bendek et al., 2002
	TGTGTTAATTACTCTTATGCG			
استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه	TGGAACACGTTAGGGTCG	۵۰	۳۰۰	Forsman et al., 1997
	CTTTTACTAGTATATCTTAACTA			
لاکتوکوکوس گارویه	CATAACAATGAGAATCGC	۵۲.۷	۱۱۰۰	Mata et al., 2004
	GCACCCTCGCGGGTTG			
آئروموناس	GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA	۶۰	۶۸۵	Ranjbar et al., 2019
	CGTGCTGGCAACAAAGGACAG			
یرسینیا راکری	CACTTAACCCCTTCCTCCTCGC	۵۷	۳۴۷	Gibello et al., 1999
	AGTAATGTCTGGGGATCTGCC			
	CTCAGTCCGTGCGACCGACT			

Chu and Lu, 2005	۵۰۳	۵۶	GATCTCCAGCCTCAGGCCTT	آنرومونا هیدروفیلا
Wim et al., 2001	۳۳۰	۶۲	AATACCGCATAACGTCTTCG	یرسینیا
			CTTCTTCTGCGAGTAACGTC	

جدول ۲: سیکل حرارتی استفاده شده برای انجام شناسایی جنس و گونه‌های باکتریایی مورد هدف به روش PCR (Soltani et al., 2025).

جنس/گونه باکتریایی	مرحله	تعداد دور	درجه حرارت (°C)	زمان
پاتوژن های گرم مثبت				
استرپتوکوکوس	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال		۵۵	۱ دقیقه
	توسعه		۷۲	۱/۵ دقیقه
استرپتوکوکوس اینیایی	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۳ دقیقه
	واسرشته سازی	۳۵	۹۴	۱ دقیقه
	اتصال	۳۵	۴۵	۱ دقیقه
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	توسعه	۳۵	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱۰ دقیقه
	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۴ دقیقه
	واسرشته سازی	۳۰	۹۲	۳۰ ثانیه
استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه	اتصال	۳۰	۵۰	۴۰ ثانیه
	توسعه	۳۰	۷۲	۴۰ ثانیه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
لاکتوکوکوس گاروبه	واسرشته سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۵	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱/۵ دقیقه
یرسینیا	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۲/۷	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه

۴۵ ثانیه	۹۴	۳۶	واسرشته سازی	
۴۵ ثانیه	۶۲	۳۶	اتصال	
۴۵ دقیقه	۷۲	۳۶	توسعه	
۷ دقیقه	۷۲	۱	توسعه نهایی	
				پاتوزن های گرم منفی
۴ دقیقه	۹۴	۱	واسرشته سازی اولیه	یرسینیا راکری
۱ دقیقه	۹۲	۲۵	واسرشته سازی	
۱دقیقه	۵۷	۲۵	اتصال	
۱ دقیقه	۷۲	۲۵	توسعه	
۵ دقیقه	۷۲	۱	توسعه نهایی	آئروموناس
۵دقیقه	۹۴	۱	واسرشته سازی اولیه	
۴۵ ثانیه	۹۴	۳۰	واسرشته سازی	
۱ دقیقه	۶۰	۳۰	اتصال	
۱ دقیقه	۷۲	۳۰	توسعه	آئروموناس هیدروفیلا
۵ دقیقه	۷۲	۱	توسعه نهایی	
۵ دقیقه	۹۴	۱	واسرشته سازی اولیه	
۲ دقیقه	۹۴	۳۰	واسرشته سازی	
۲ دقیقه	۵۶	۳۰	اتصال	
۲ دقیقه	۷۲	۳۰	توسعه	
۲ دقیقه	۷۲	۱	توسعه نهایی	

نتایج

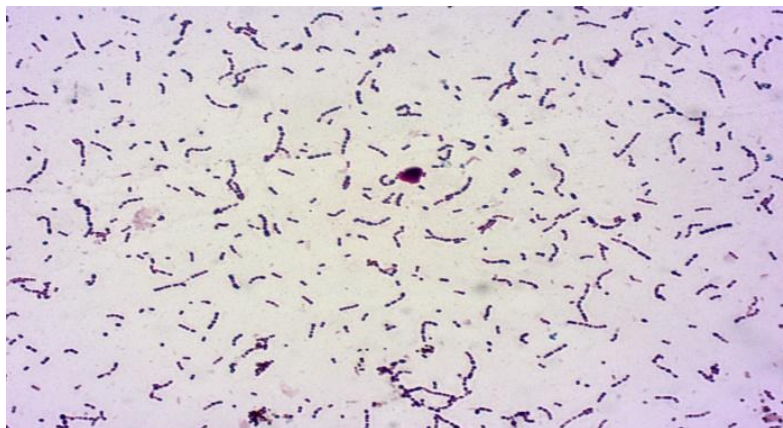
یافته های بالینی

ماهیان مرضی مورد نمونه برداری دارای علائم خونریزی در باله ها، کاهش تحرک و عدم اشتها، اگزوفتالمی همراه با پرخونی و یا خونریزی در چشم ها، تیرگی پوست، کاتاراکت، بعضاً کوری یک طرفه، تورم مخرج همراه با پرخونی بودند.

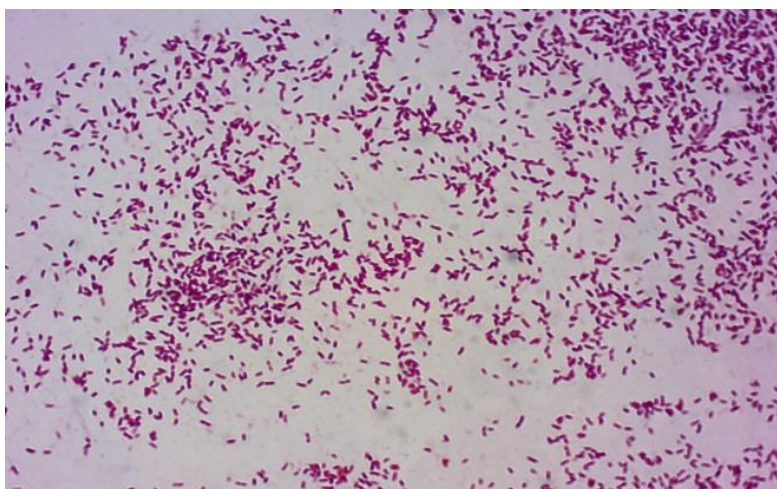
نتایج کشت باکتریایی

در مطالعات کشت و جداسازی و رنگ آمیزی گرم مجموعاً ۲۰۹ ایزوله باکتریایی به دست آمد. در استان همدان از مجموع ۶۰ نمونه ماهی بیمار کشت داده شده تعداد ۳۸ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۹ ایزوله گرم منفی و تعداد ۱ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی جداسازی گردید. در حالی که در استان زنجان از مجموع ۳۰ نمونه ماهی بیمار کشت داده شده تعداد ۱۱ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۲ ایزوله گرم منفی جداسازی گردید. بعلاوه در استان چهار محال و بختیاری تعداد ۴۴ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۲۷ ایزوله گرم منفی و تعداد ۲ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی از مجموع تعداد ۹۰ نمونه ماهی بیمار کشت داده شده جداسازی گردید. در استان فارس از مجموع ۲۰ نمونه ماهی بیمار کشت داده شده تعداد ۱۱ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۸ ایزوله گرم منفی جداسازی گردید. همچنین در استان کهگیلویه و بویر احمد از مجموع ۴۰ نمونه ماهی بیمار کشت داده شده تعداد ۲۲ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۱ ایزوله گرم منفی و تعداد ۳ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی جداسازی گردید.

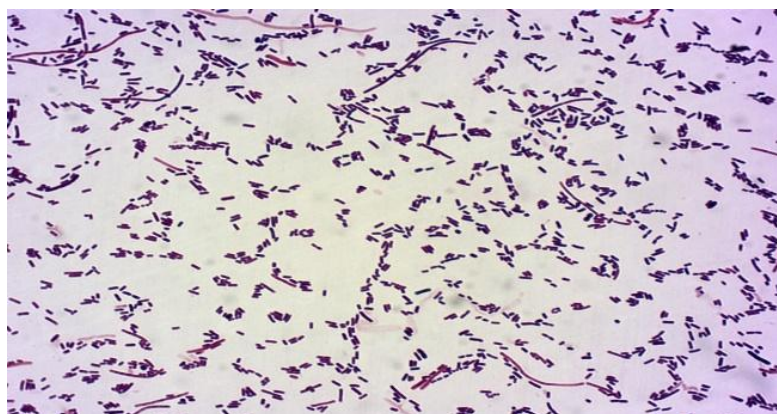
شکل ۱، مورفولوژی نمونه ایزوله های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی (رنگ آمیزی گرم) به دست آمده از ماهیان مرضی در استان های تحت مطالعه را نشان می دهد.



شکل ۳-۱: کوکسی‌های گرم مثبت زنجیره‌ای (×۱۰۰)



شکل ۳-۲: باسیل و کوکوباسیل‌های گرم منفی (×۱۰۰)



شکل ۳-۳: مخلوط باسیل و کوکوباسیل گرم مثبت (×۱۰۰)

نتایج یافته‌های مولکولی

مجموع تعداد گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شده از ماهیان بیمار در جدول ۳ آمده است. نتایج تفکیک شده گونه‌های باکتریایی بدست آمده از مزارع هر یک از این استانها به شرح زیر می باشد.

جدول ۳: مجموع تعداد گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شده از ماهیان بیمار در استانهای تحت مطالعه.

استان	گونه‌های پاتوژن گرم مثبت (تعداد)	گونه‌های پاتوژن گرم منفی (تعداد)	مجموع گونه‌های پاتوژن (تعداد)
چهار محال و بختیاری	۴	۲	۶
فارس	۲	۲	۴
همدان	۳	۲	۵
کهگیلویه و بویر احمد	۴	۲	۶
زنجان	۲	۱	۳

نتایج آزمایشهای مولکولی شناسایی گونه های باکتریایی جدا سازی شده به تفکیک مناطق مختلف استانهای تحت مطالعه در جداول ۴-۱ الی ۴-۵ نشان داده است. گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در همه استانها شامل لاکتوکوکوس گارویه، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس اینیایی، یرسینیا راکری، آنروموناس هایدروفیلا و استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه بود.

جدول ۴: گونه های باکتریایی شناسایی شده به تفکیک مناطق مختلف استانهای تحت مطالعه. ۱. استرپتوکوکوس اینیایی ۲. استرپتوکوکوس آگالاکتیه ۳. استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه ۴. لاکتوکوکوس گارویه ۵. یرسینیا راکری ۶. آنروموناس.

جدول ۴-۱: استان چهار محال و بختیاری

جمع گونه باکتریایی	گونه باکتریایی						منطقه تحت مطالعه
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	
۳	-	-	+	+	-	-	اردل - مزارع بالا دست
۳	+	-	-	+	-	+	اردل - مزارع میانی
۴	+	+	-	+	-	+	اردل - مزارع پایین دست
۲	-	+	-	-	+	-	چلگرد
۲	-	+	-	-	+	-	فارسان
۲	-	-	-	-	+	-	سبزکوه - بالادست
۳	+	+	-	+	-	-	سبزکوه - پایین دست
۳	-	+	+	-	+	-	لردگان

۴	+	-	+	-	+	+	بازوفت
---	---	---	---	---	---	---	--------

جدول ۴-۲: استان فارس

جمع گونه باکتریایی	گونه باکتریایی						منطقه تحت مطالعه
	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۴	+	+	+	-	+	-	اقلید
۱	-	+	-	-	-	-	سبیدان

جدول ۴-۳: استان همدان

جمع گونه باکتریایی	گونه باکتریایی						منطقه تحت مطالعه
	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۱	-	+	-	-	-	-	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)
۲	+	+	-	-	-	-	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)
۳	-	-	+	-	+	+	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)
۳	-	-	+	-	+	+	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)
۲	+	+	-	-	-	-	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)
۳	-	-	+	+	+	-	نهایوند گام آسیاب (بابا رستم)

جدول ۴-۴: استان زنجان

جمع گونه باکتریایی	گونه باکتریایی						منطقه تحت مطالعه
	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۱	-	+	-	-	-	-	مزارع منطقه ماهنشان بالا دست
۱	-	+	-	-	-	-	مزارع منطقه ماهنشان بخش میانی
۲	-	-	+	-	+	-	مزارع منطقه ماهنشان پایین دست

جدول ۴-۵: استان کهگیلویه و بویر احمد

جمع گونه باکتریایی	گونه باکتریایی						منطقه
	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۲	-	+	+	-	-	-	منطقه سی سخت
۳	+	-	+	-	-	+	رودخانه بشار مزارع بالا دست
۳	-	+	-	-	+	+	رودخانه بشار مزارع میانی
۳	-	-	+	+	+	-	رودخانه بشار مزارع پایین دست

فراوانی نسبی هریک از این گونه‌های باکتریایی به تفکیک استان و گونه باکتریایی در جدول ۵ نشان داده شده است. بر این اساس در استان همدان گونه‌های *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* (۳/۴۴ درصد) و *یرسینیا راکری* (۲۴/۱۴ درصد) به ترتیب از کمترین و بیشترین فراوانی نسبی برخوردار بودند در حالی که این فراوانی نسبی برای مزارع قزل‌آلای استان زنجان به ترتیب گونه‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیکه* (۲۱/۷۴ درصد) و *یرسینیا راکری* (۵۲/۲ درصد) بودند. بعلاوه کمترین و بیشترین فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی شناسایی شده به ترتیب برای استان های چهارمحال و بختیاری *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* (۴/۷۶ درصد) و *یرسینیا راکری* (۲۸/۵۷ درصد) و برای کهگیلویه و بویر احمد *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* و *آئروموناس هایدروفیلا* کمترین فراوانی (۵/۵۶ درصد) و بیشترین فراوانی متعلق به *یرسینیا راکری* و *لاکتوکوکوس گارویه* (۲۵ درصد) بود. همچنین برای استان فارس گونه های *آئروموناس هایدروفیلا* کمترین (۱۰/۵۳ درصد)، *یرسینیا راکری* و *لاکتوکوکوس گارویه* (۳۱/۵۸ درصد) بیشترین فراوانی را داشتند. کمترین و بیشتری فراوانی نسبی این گونه‌های باکتریایی در ۵ استان تحت مطالعه به ترتیب مربوط به گونه‌های *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* (۳/۳۵ درصد) و بیشترین *یرسینیا راکری* (۲۸/۲۳۸ درصد) می باشد.

جدول ۵: فراوانی نسبی گونه های باکتریایی جداسازی شده از مزارع قزل‌آلای استانهای تحت مطالعه

گونه پاتوژن	همدان		زنجان		چهار محال و بختیاری		کهگیلویه و بویر احمد		فارس		همه استانها	
	تعداد	فراوانی نسبی (%) n=۵۸	تعداد	فراوانی نسبی (%) n= ۲۳	تعداد	فراوانی نسبی (%) n=۷۳	تعداد	فراوانی نسبی (%) n=۳۶	تعداد	فراوانی نسبی (%) n=۱۹	تعداد	فراوانی نسبی (%) n=۲۰۹
<i>استرپتوکوکوس اینیایی</i>	۱۱	۱۸/۹۷	۰	۰	۱۰	۱۵/۸۸	۶	۱۶/۶۷	۰	۰	۲۷	۱۲/۹۲
<i>استرپتوکوکوس آگالاکتیکه</i>	۱۲	۲۰/۶۸	۵	۲۱/۷۴	۱۴	۲۱/۵۴	۵	۱۳/۸۹	۵	۲۶/۳۲	۴۱	۱۹/۶۲
<i>استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه</i>	۲	۳/۴۴	۰	۰	۳	۴/۷۶	۲	۵/۵۶	۰	۰	۷	۳/۳۵
<i>لاکتوکوکوس گارویه</i>	۱۳	۲۲/۴۲	۶	۲۶/۱	۱۷	۲۶/۹۸	۹	۲۵	۶	۳۱/۵۸	۵۱	۲۴/۴
<i>یرسینیا راکری</i>	۱۴	۲۴/۱۴	۱۲	۵۲/۲	۱۸	۲۸/۵۷	۹	۲۵	۶	۳۱/۵۸	۵۹	۲۸/۲۳
<i>آئروموناس هایدروفیلا</i>	۵	۸/۶۳	۰	۰	۹	۱۸/۲۹	۲	۵/۵۶	۲	۱۰/۵۳	۱۸	۸/۶۱
ناشناخته	۱	۱/۷۲	۰	۰	۲	۳/۱۷	۳	۸/۳۳	۰	۰	۶	۲/۸۷
جمع	۵۸	۱۰۰	۲۳	۱۰۰	۷۳	۱۰۰	۳۶	۱۰۰	۱۹	۱۰۰	۲۰۹	۱۰۰

بحث

با عنایت به تعیین فراوانی نسبی گونه‌ها در مزارع هر استان و نیز ۵ استان مشخص شد که گونه‌های *یرسینیا راکری* و *لاکتوکوکوس گارویه* و در مرحله بعد گونه های *استرپتوکوکوس اینیایی* و *دیس‌گالاکتیکه* از بیشترین فراوانی نسبی در استانهای تحت مطالعه برخوردار بودند. بعلاوه بیشترین فراوانی نسبی در مجموع ۵ استان‌های تحت مطالعه مربوط به *یرسینیا راکری* بود. علاوه بر *یرسینیا راکری* فراوانی نسبی جداسازی، گونه‌های *لاکتوکوکوس گارویه*، *استرپتوکوکوس اینیایی* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیکه* به عنوان عوامل بروز بیماری و تلفات در مزارع استان‌های تحت مطالعه

قابل توجه می‌باشد. همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بیماری ناشی از برخی گونه‌های باکتریایی *آئروموناس هایدروفیلا* و *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* در مزارع قزل‌آلا اتفاق می‌افتد. البته اینکه آیا این گونه‌ها عامل اولیه بروز بیماری هستند یا نه نیازمند مطالعات آتی و بررسی دقیق‌تر مانند ارزیابی میزان حدت آنها می‌باشد. با توجه به فراوانی *یرسینیا راکری* به‌عنوان گونه غالب، باید با اهتمام بیشتری در برنامه‌های کنترلی گنجانده شود. جداسازی گونه‌های باکتریایی مختلف نشان‌دهنده تنوع عوامل باکتریایی بیماری‌زا در این مناطق است. گونه‌هایی نظیر *آئروموناس هایدروفیلا* و *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیکه* احتمالاً بیشتر به‌عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب یا ثانویه عمل می‌کنند. از این رو، پایش مداوم باکتری‌های بیماری‌زا به‌عنوان بخشی جدایی‌ناپذیر از برنامه‌های مدیریتی در این مزارع توصیه می‌گردد.

در مطالعات قبلی به عمل آمده توسط محققین مختلف مانند Haghighi- Karsidani و همکاران در سال ۲۰۱۰، Soltani و همکاران در سال ۲۰۱۳، Soltani و همکاران در سال ۲۰۲۵ و Zorizahra و همکاران در سال ۲۰۲۰ عمدتاً موفق به جداسازی و شناسایی گونه‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *یرسینیا راکری* از مزارع ماهیان بیمار شده‌اند. با این حال در مطالعه اخیر توسط Soltani و همکاران در سال ۲۰۲۵ که بر روی مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه انجام گرفته علاوه بر جداسازی و تعیین گونه باکتریایی شناسایی در مطالعه حاضر به درصد فراوانی مشابه از آنها در این دو استان پی بردند. بنابراین نتایج مطالعه حاضر بیانگر تنوع و گستردگی گونه‌های مختلف باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی عامل بیماری در مزارع قزل‌آلای استان‌های تحت مطالعه می‌باشد. علاوه بر شناسایی بیش از یک گونه باکتریایی در ماهی مرضی در مطالعه حاضر و مطالعات قبلی مانند مطالعه Soltani و همکاران در سال ۲۰۲۵ بیانگر امکان بروز عفونت‌های باکتریایی همزمان در ماهیان می‌باشد که در این صورت می‌تواند منجر به افزایش تلفات و خسارت اقتصادی بیشتر در مزارع شود. تشابه نتایج مطالعات عمدتاً به این دلیل است که گونه‌های یادشده، پاتوژن‌های غالب و بومی‌شده در مزارع قزل‌آلا در ایران هستند و شرایط محیطی و مدیریتی مشابه در استان‌های مختلف، موجب تکرار نتایج گردیده است. همچنین استفاده از روش‌های یکسان آزمایشگاهی در تحقیقات مختلف نیز به هم‌راستایی یافته‌ها کمک کرده است. اگرچه علت یا علل بروز عفونت‌های همزمان نیازمند مطالعات دقیق‌تر می‌باشد اما یکی از علل شایع و اولیه می‌تواند ناشی از استفاده از آب حاوی گونه‌های باکتریایی مذکور همراه با بروز استرس در ماهیان باشد. همچنین علل وجود این بیماری‌ها در مزارع تحت مطالعه می‌تواند ناشی از وجود عوامل استرس‌زای مستعد کننده در مزارع ماهی باشد و در این رابطه عوامل مستعد کننده خطر ساز متعددی برای بروز بیماری‌های مذکور توسط محققین مختلف مورد توجه قرار گرفته است برای مثال در مطالعات قبلی انجام شده توسط سلطانی و همکاران در سال ۲۰۲۵ از میان ۲۳ فاکتور خطر ساز فراوانی نسبی حضور این فاکتورها در مزارع قزل‌آلای تحت مطالعه در استان‌های کردستان و کرمانشاه بیش از ۸۰ درصد برآورد شده است. در میان این فاکتورها کاهش اکسیژن و افزایش درجه حرارت (Reyes et al., 2021) و نیز استفاده از منابع آبی دست دوم (مزارع ماهی، مناطق توریستی، روستا و فعالیت‌های کشاورزی در بالادست) از اهمیت بالایی برخوردارند زیرا موجب ایجاد شرایط استرس‌زای قابل توجه در مزارع ماهی شده و علاوه به تکثیر این گونه‌های باکتریایی کمک می‌نماید.

نتیجه‌گیری

در جمع بندی فراوانی نسبی عوامل باکتریایی بیماری‌زای جدا شده از ماهیان بیمار مزارع ماهی در استان‌های همدان، زنجان، چهارمحال و بختیاری، کهکیلویه و بویر احمد و فارس نشان می‌دهد که در این مزارع درگیر بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی و نیز با اتیولوژی متعدد می‌باشند که با تشدید تغییرات آب و هوایی (افزایش درجه حرارت آب بویژه در تابستان) به تشدید بیماری‌ها افزوده و خسارت بیشتری را به بار می‌آورند. بنابراین انجام اقدامات مناسب در راستای اصلاح ساختار مزارع و ارتقا مزارع از حالت سنتی به صنعتی همراه با اعمال روشهای پیش‌گیری مانند واکسیناسیون در مزارع قزل‌آلای کشور امری ضروری است.

قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی کاربردی به شماره ۷۰۳۵/۲۰ معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و با حمایت مالی سازمان دامپزشکی کشور انجام گردیده است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی در نتایج این مطالعه ندارند.

References

1. Chu WH, Lu CP(2005). Multiplex PCR assay for the detection of pathogenic *Aeromonas hydrophila*. Journal of Fish Diseases. 28(7):437-41.
2. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah H N (1997). The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. Journal of Endodontics 23(7): 433-438.
3. Forsman P, Tilisaia-Timisjrvi A, Alatossava T(1997). Identification of staphylococcal and streptococcal causes of bovine mastitis using 16S-23S rRNA spacer regions. Microbiology 143(11): 3491-3500.
4. Gibello A, Blanco MM, Moreno MA, Cutuli MT, Domenech A, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF(1999). Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. Applied and Environmental Microbiology 65(1):346-50.
5. Haghighi Karsidani S, Soltani M, NikbakhatBrojeni G, Ghasemi M, Skall HF(2010). Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis/lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture in Iran. Iranian Journal of Microbiology 2(4): 198 (In Farsi).
6. Marandi A, Fakhri Dmemeshghieh A, Almasi P, Almasi P, Bashiri M, Soltani M (2022). An overview of climate change and prevalence of bacterial disease in salmonid aquaculture. Sustainable Aquaculture and Health Management Journal 8(2):1-19.
7. Mata AI, Blanco MM, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF, Gibello A (2004). Development of a PCR assay for *Streptococcus iniae* based on the lactate oxidase (lctO) gene with potential diagnostic value. Veterinary Microbiology. 101(2):109-16.
8. Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedmann A, Leitner G, Saran A, Friedman S, Kashi Y(2002). A PCR-based method for the detection of *Streptococcus agalactiae* in milk. Journal of Dairy Science 85(7): 1717-1723.
9. Miller RA, Harbottle H (2018). Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. Microbiology Spectrum. 6(1). PMID: 29372680.
10. Ranjbar R, Salighehzadeh R, Sharifiyazdi H(2019). Antimicrobial resistance and incidence of integrons in *Aeromonas* species isolated from diseased freshwater animals and water samples in Iran. Antibiotics 8(4):198.
11. Reyes AT, Raymundo AK, Baldrias LR, Paller VG.2 and Dalmacio IF (2021). Occurrence of *Streptococcus* spp. on Farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in Lubao, Pampanga, Philippines. International Journal of Agricultural Technology 17(3):1041-1060.

12. Soltani M, Baldisserotto B, Hosseini Shekarabi SP, Shafiei S, Bashiri M (2021). Lactococcosis Re-Emerging Disease in Aquaculture: Disease Significant and Phytotherapy. Veterinary Sciences. 8(9):181.
13. Soltani M, Jamshidi Sh, Sharifpour I (2005). Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. Biophysical characteristics and pathogenesis, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 25(3): 95-106.
14. Soltani M, Pirali KE, Taheri MA, Zargar A, Mohamadian S(2015). Study on streptococcosis and lactococcosis outbreaks in rainbow trout farms in Fars and Lorestan provinces. Journal of Veterinary Microbiology 11(1): 49-58(In Farsi).
15. Soltani M, Pirali Kheirabadi A, Taherimirkahead E, Shafie SH, Mohamadian S, Roholahi SH (2013). Molecular study of streptococcosis/lactococcosis distribution in farmed rainbow trout in Charmahal–va-Bakhteyari and Kohgiluyeh-va-Boyerahmad provinces, Iran. Iranian Journal of Epidemiology 9(2):59-68 (In Farsi).
16. Soltani M, Rakhshanimehr K, Mirzargar SS, Zargar A, Shohreh P, Asadi S (2023). Antibiotic resistance in pathogenic bacteria, the causative agents of bacterial disease in farmed rainbow trout (*onchorhynchus mykiss*) in Iran. Journal of Veterinary Research 78(2):85-96(In Farsi).
17. Soltani, M., Abdi, K., Azizzadeh, M., Farshgar, R., Asadi, S., Hosseini, E., & Khalaji, M. (2025). Bacterial diseases in rainbow trout farms in Kordestan and Kermanshah provinces and role of risk factors in their occurrence. Journal of Veterinary Research (in press).
18. Wim J, Wannet B, Reessink M, Brunings H, Henny Maas ME (2001). Detection of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* by a rapid and sensitive duplex PCR assay. Journal of Clinical Microbiology 39(12) : 4483- 4486.
19. Zorriehzahra SJ, Kakoolaki S, Adel M, Amirikar M, Behboudi N, Motallebi AA, Azadikhah D, Nekoifard A, Yavari H (2017). Epidemiologic study on Enteric Redmouth Disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured farms in West Azerbaijan province and relation this disease with environmental parameters. Iranian Scientific Fisheries Journal 25(5): 31-41(In Farsi).