

آسیب شناسی تلفات بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان پرورشی در برخی مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی کشور

عیسی شریف پور و سید جلیل ذریه‌زهره

issasharifpour@yahoo.com

موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۴

چکیده

به منظور بررسی آسیب‌شناسی و کمک به باطن علل وقوع تلفات بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی ایران، از آبان ماه ۱۳۸۰ لغایت دی ماه ۱۳۸۱ تعداد ۱۰۴ نمونه بافتی از اندامهای کبد، کسه، ضحال، لوزالمعده، روده و آبشش ۵۹ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی بیمار از برخی مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی در استانهای مازندران، فارس، مرکزی و کهگیلویه و بویراحمد جهت بررسی ضایعات بافتی نمونه‌برداری و بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. بافتهای تثبیت شده آبیگری، شفاف‌سازی و پارافینه شده و از آنها مقاطع میکروسکوپی ۵ میکرونی تهیه و به روش همانوکیلین وانوزین (H&E) رنگ آمیزی و سپس برسیه میکروسکوپ بوری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند.

تلاطم بالینی بچه ماهیهای مبتلا اغلب شامل تیرگی بدن، گزوفنالمی، آمیت، شمای غیرطبیعی و جرحشی بود. گاهی نیز آوزان شدن رشته‌های مدفوعی (کست) از ناحیه مجرج قابل مشاهده بود و برخی مبتلایان بی‌حال و در محل خروجی استخرها جمع می‌شدند.

در مشاهدات میکروسکوپی آبشش، پرخونی عروق، تورم لابه پایه رشته‌های ثانویه آبششی، هیپرپلازی و چسبندگی رشته‌ها و در مواردی چماتی شدن رشته‌های آبششی ثانویه مشاهده شد. در کلبه‌ها دژنراسیون سلولهای کلیوی، نکروز و تخریب لوله‌های کلیوی و بافت خونماز در قسمت قدامی کلیه، پرخونی عروق کثیری، افزایش رنگدانه‌های ملانین، نفوذ و افزایش سلولهای آماسی از موارد رؤیت شده بود. در آزمایش بافت کبد، پرخونی عروق کبدی، نفوذ جریب در هیاتوسیتها، پرخونی و اتساع سینوزوئیدها، افزایش تنوسیتها در سینوزوئیدها و نیز افزایش ملانوماکروفاژها، دژنراسیون و اکوتوئی هیاتوسیتها و نیز نکروز گانونی دیده شد. در موارد نادری نیز کولانژیوما (نئوپلازی مجاری صفراوی) مشاهده گردید. بافت ضحال نیز دارای پرخونی، رسوب رنگدانه‌های هموسیدین، افزایش مراکز ملانوماکروفاژها و در مواردی نکروز بود. پرخونی، دژنراسیون و نکروز آمینی‌ها و جزایر لانگرهاس لوزالمعده نیز مشاهده گردید. در مشاهدات میکروسکوپی روده آمیبیایی از جمله پرخونی زیر مخاط، چسبیدن بافت مخاطی به هم و نکروز و کنده شدن بافت شده‌ای روده رؤیت شد.

با توجه به نتایج بررسی‌های بالینی و آسیب‌شناسی بدست آمده می‌توان گفت که بیماری ایجاد شده احتمالاً یک بیماری ویروسی است که علائم آن بیشتر مشابه بیماری نکروز عفونی بافت خونماز (IHN) می‌باشد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان، آسیب‌شناسی، تلفات بچه ماهیان، بیماری نکروز عفونی بافت خونماز (IHN)، ایران

مقدمه

ماهیان قزل‌آلای مراکز تکثیر و پرورش استان چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۱ می‌باشد که از ۲۲ میلیون بچه ماهی تولیدی میزان ۲۱ میلیون تلف شده‌اند. همچون گزارش مشتملی از میزان تلفات بچه ماهیان تولیدی در استان مازندران به میزان حدود ۵۲ درصد در دست می‌باشد که از ۲۳ میلیون عدد کل بچه ماهی تولیدی ۱۲ میلیون آن تلف شده است. گزارش مکتوب دیگری حکایت از آن دارد که در اواخر سال ۱۳۸۲ نمر تلفات شدید و مشابهی در مزارع سرد آبی استان چهارمحال و بختیاری اتفاق افتاده است (ذریه زهرا، ۱۳۸۲).

با توجه به معضل پیش آمده و برای کمک به یافتن علل و عوامل این تلفات، تحقیق حاضر با استفاده از نمونه‌های بچه ماهی جمع‌آوری شده از مزارع تکثیر و پرورش استیهای مازندران- فارس، کهگیلویه و بویراحمد و مرکزی که دارای علائم بیماری بوده و برای مطالعات آسیب‌شناسی مطلوب بودند، بجم بدبرهن

مواد و روش کار

از آن ماه ۱۳۸۰ لذیت دی ماه ۱۳۸۱ تعداد ۵۹ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی به وزن کمتر از ۲ گرم که دارای علائم بیماری بودند از برخی مراکز تکثیر و پرورش ماهی سرد آبی در استانهای مازندران، فارس، مرکزی و کهگیلویه و بویراحمد که دمای متوسط آب آنها کمتر از ۱۲ درجه سانتیگراد بود، جمع‌آوری گردید (جدول ۱).

تعداد ۱۰۴ نمونه بافتی از اندامهای کبد، کلبه، طحالی، لوزالمعده، روده و آنتش بچه ماهیهای بیمار تهیه و بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. بافتهای تثبیت‌شده مطابق روش معمول و استاندارد آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه تهران - استفاده از دستگاه آماده‌سازی بافت انگبری. شفاف سازی، پارافینه و قالب‌گیری شده و سپس بوسیله دستگاه میکروتوم دورنی از بافتهای قالب‌گیری شده مقاطع میکروسکوپی ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین و

در سالهای اخیر، مرگ و میر قابل توجهی در میان بوردن و بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در نقاط مختلف جهان مانند دانمارک (Lorenzen & Karas, 1992)، ایتالیا و انگلیس (عابدیان امیری، ۱۳۸۰)، ژاپن (Wakabayashi et al., 1997)، شیلی (Buston et al., 1995) و استرالیا (شیخ‌زاده، ۱۳۸۲) گزارش گردیده است. این عارضه بعنوان سندرم مرگ و میر بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان نامگذاری شده است که بدون انجام درمان، میزان مرگ و میر به ۵۰ تا ۶۰ درصد می‌رسد (Lorenzen, 1991). به نظر می‌رسد که این سندرم یک عفونت سپتی سمیک باشد که باعث بروز تلفات اقتصادی شدید در صنعت پرورش قزل‌آلا بخصوص در اروپا شده است (Faruk et al., 2002). عوارضی مشابه این سندرم در اکویستهای ماهیان سرد آبی در جهان گزارش شده که به نامهای مختلف در منابع علمی از آن یاد شده است؛ جمله سندرم تلفات زودرس (Early Mortality Syndrome) که از اهمیت خاصی در کشورهای اروپا و آمریکا برخوردار بوده و گونه‌های مختلفی از آزاد ماهیان را مبتلا نموده است. طی سالهای ۱۹۶۸ تا ۱۹۹۲ میزان تلفات از ۲۰ تا ۳۰ درصد در میان نوزادان آزاد ماهیان متغیر بوده ولی در ژوئیه ۱۹۹۲ میزان تلفات در میان ماهی آزاد *Salmo trutta* در مناطق مختلف آمریکا به ۶۰ تا ۹۰ درصد نیز رسید (عابدیان امیری، ۱۳۸۰).

در سالهای اخیر تلفات گسترده و مکرری در میان لاروها و بچه ماهیهای قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی تولیدی در مرکز تکثیر و پرورش ماهیهای سرد آبی کشور سیر اتفاق افتاده است. براساس امر شیلات ایران در مجموع در فصل تکثیر سال ۱۳۸۱-۱۳۸۲ در ۱۴ استان کشور در مراکز تکثیر بحث خصوصاً تعداد ۱۱۹۷۲۴۵۰۰ عدد بچه ماهی قزل‌آلا تولید شده است. براساس گزارش استانها تعداد ۵۸۳۴۵۹۰۰ عدد معادل ۴۹ درصد از این بچه ماهیان بر اثر عوامل متفاوت تلف شده‌اند (ویژه نامه دومین همایش ماهی پرورشی ایران، ۱۳۸۲) گزارش رسمی شیلات ایران حاکی از وقوع حدود ۹۵ درصد تلفات بچه

جدول ۱: توزیع استانی نمونه‌های جمع‌آوری شده برای مطالعات آسیب شناسی

ردیف	نام مرکز تکثیر و پرورش	استان	تاریخ نمونه برداری	تعداد نمونه
۱	شهید باهنر - کلاردشت	مازندران	۸۰/۸/۷	۳
۲	فول وانا - مرز	مازندران	۸۰/۱۱/۲	۱
۳	فول وانا - مرز	مازندران	۸۰/۱۱/۱۶	۳
۴	رنگین گمان - مرز	مازندران	۸۰/۱۱/۱۶	۳
۵	جمعی سی سخت	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۲/۱۶	۵
۶	۱۳۸ - سی سخت	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۲/۱۶	۵
۷	حمیدیان سی سخت	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۲/۱۶	۵
۸	امتی فرد - (تنگ براتی)	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۲/۱۷	۴
۹	شهید مطهری - باسویج	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۲/۱۸	۱۰
۱۰	۲۲ بهمن - میدان	فارس	۸۱/۲/۱۹	۱۰
۱۱	دغفانی - سراب یضا	کهگیلویه و بویراحمد	۸۱/۸/۲۶	۴
۱۲	هائیمی - لراک	مرکزی	۸۱/۱۰/۱۷	۶
جمع کل نمونه‌ها				۵۹

عروق کلبوی، افزایش رنگدانه‌های ملانین، نفوذ و افزایش سلولهای آماسی و مشاهده روند تکثیر سلول شامل دژنراسی، پیکنوز، کربولیر و کاربورگیسی که سلولها از موارد رؤیت شده در بررسیهای میکروسکوپی کلبه بود (شکلهای ۳ و ۴).

کلبه: پرخونی عروق کلبوی، نفوذ چربی در هیاتوسیتها، پرخونی و اتساع سینوزوئیدها، افزایش موسیتها در سینوزوئیدها و نیز افزایش مراکز ملانوماکروفازها، تورم ابری و دژنراسی واکونولی هیاتوسیتها و تکثیر کلبوی در بافت کلبه دیده شد. در موارد نادری نیز کولاتزیوما (لتوپلازی مجاری صفراوی) مشاهده گردید (شکلهای ۵، ۶ و ۷).

طحال: پرخونی، رسوب رنگدانه‌های هموسیدرین (هموسیدروزیس)، افزایش مراکز ملانوماکروفازها و در مواردی تکثیر یافت طحال دیده شد (شکل ۸).

لوزالمعده: پرخونی، دژنراسیون و تکثیر آسنی‌ها و حزامی لانگرهانس لوزالمعده مشاهده گردید (شکل ۹).

روده: پرخونی زیر مخاط، چسبیدن بافت مخاطی بهم، تکثیر و کنده شدن بافت عمدهای روده رؤیت شد (شکل ۱۰).

توزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند مقاطع تهیه شده بوسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند.

نتایج

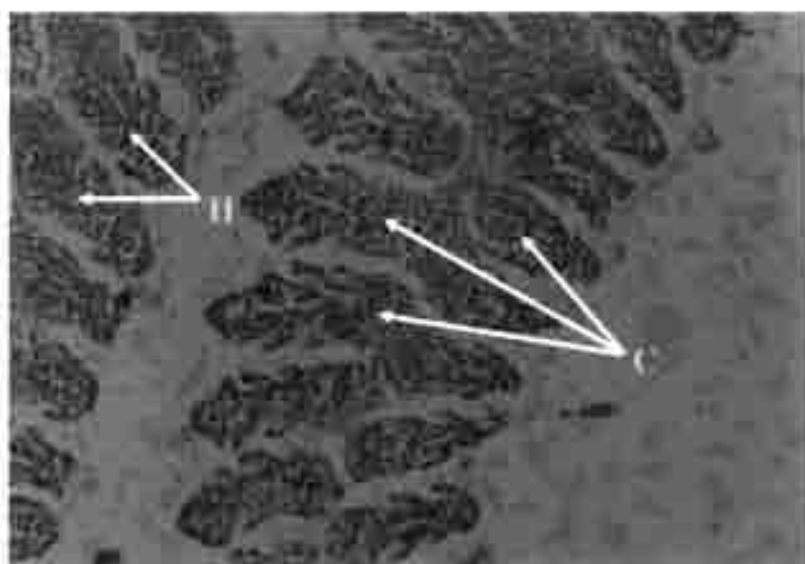
در بازدید از مراکز تکثیر و پرورش و بررسیهای بافتی بجه ماهیان بیمار، علائم زیر مشاهده گردید:

تیرگی بدن، اگزوفتالمی، نوبتره، اتساع شکم و آسیت وجود کت های مدفوعی آویزان از مخرج برخی بجه ماهیان بیمار، شنای غیر طبیعی چرخشی و تجمع در کنارهای استخر یا در محل خروجی آب.

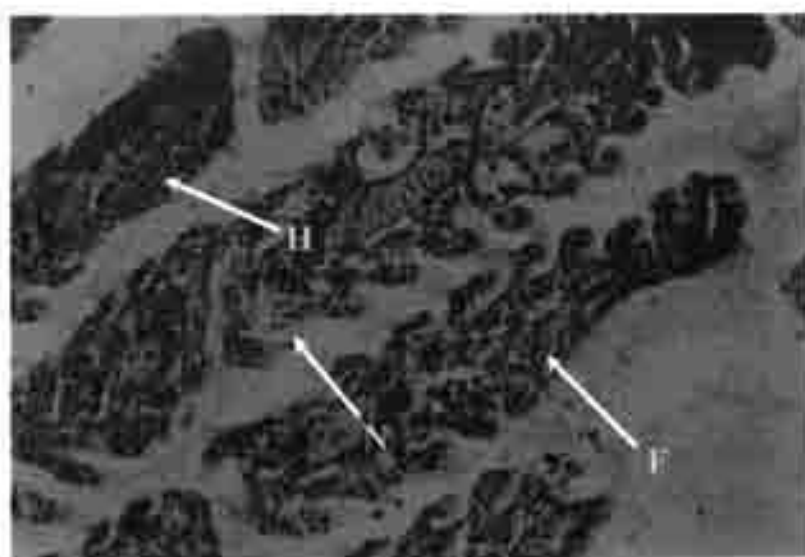
با بررسی و مطالعه مقاطع تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری، ضایعات و آسیبهای بافتی زیر شرح اندامهای مختلف مشاهده گردید:

آبشن: پرخونی عروق، تورم لایه پایه رشته های تلبویه آبشنی، هیپرپلازی و چسبندگی رشتهها و در مواردی چسبکی شدن رشتههای آبشنی تلبویه مشاهده شد (شکلهای ۱ و ۲).

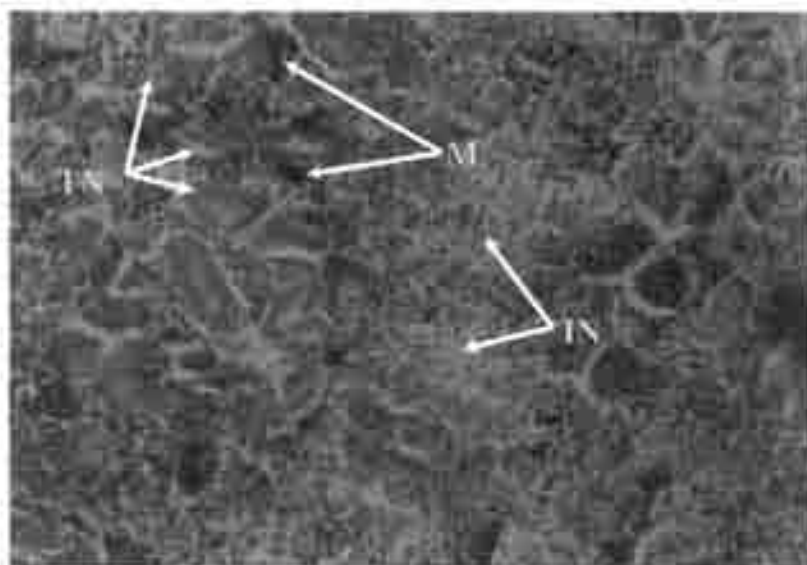
کلبه: دژنراسیون سلولهای کلبوی، تکثیر و تخریب لوله های کلبوی و بافت خون ساز در قسمت قدامی کلبه، پرخونی



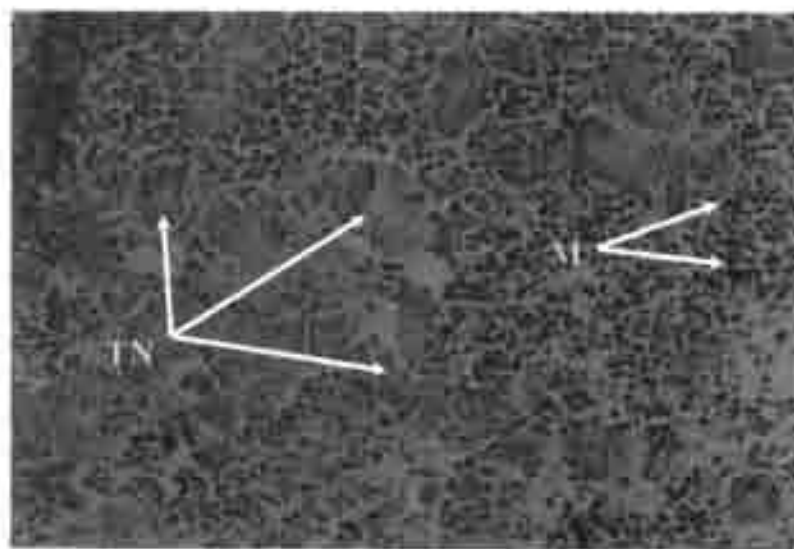
شکل ۱: پرغش (C) و هیپرپلازی (H) تپندهای ثانویه آبششی (H&E, X 105)



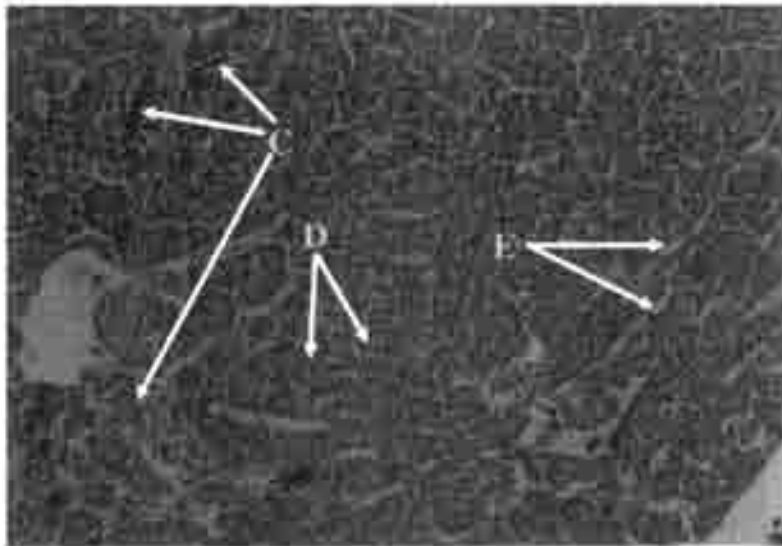
شکل ۲: به هم چسبیدن (F)، نکروز (N) و هیپرپلازی (H) رشته‌های ثانویه آبششی (H&E, X 210)



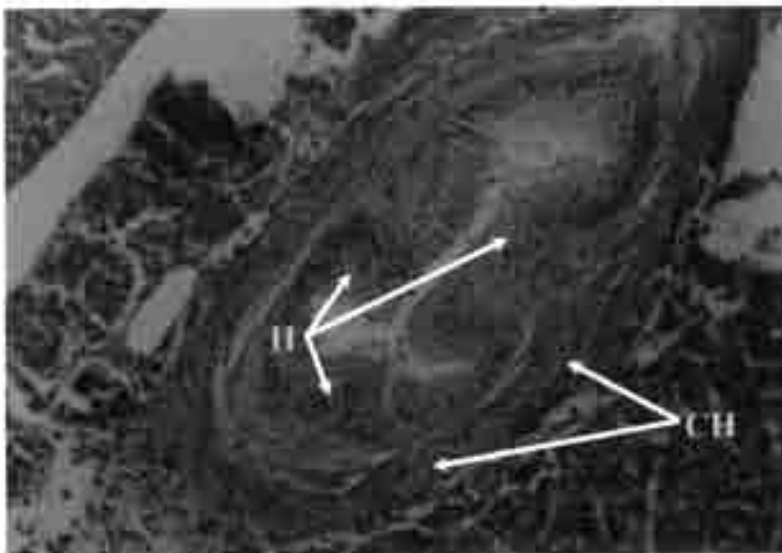
شکل ۳. نکروز لوله‌های کلیوی (TN) به همراه نکروز بافت غشای مخاطی (IN) و افزایش رنگدانه‌های ملانین (M) در کلیه (H&E, X 105)



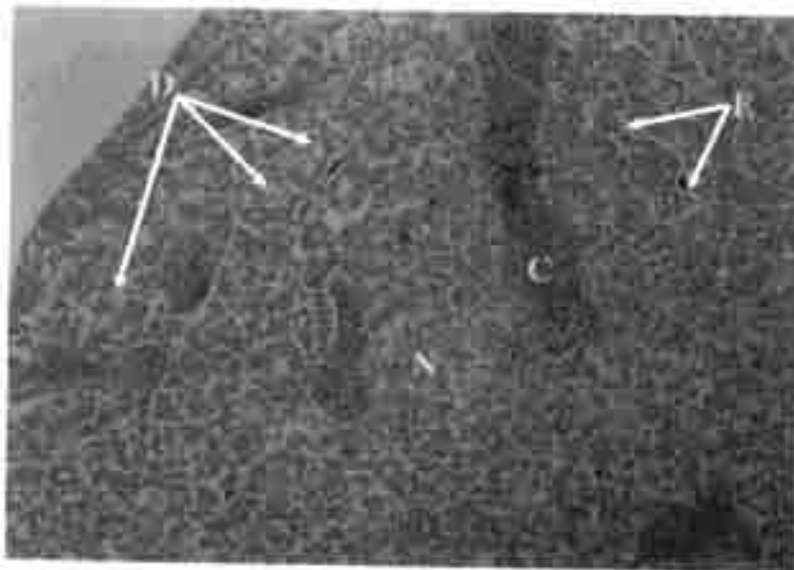
شکل ۴. نکروز لوله‌های کلیوی (TN)، رسوب و تجمع رنگدانه‌های ملانین (M) در بافت کلیه (H&E, X 210)



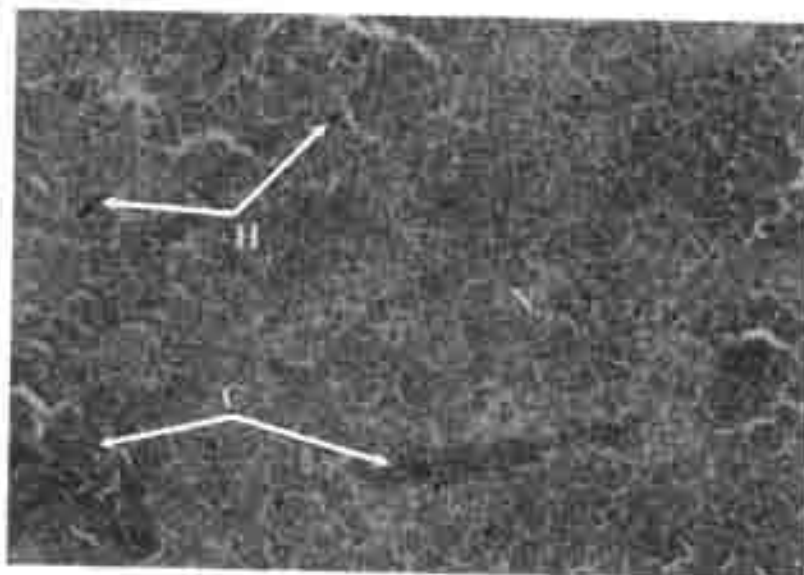
شکل ۵ پرغوشی (C)، دژنراسیون چربی در هیاتوسیت‌ها (D) و اتساع سینوزوئیدهای
کبدی (E) (H&E, X 105)



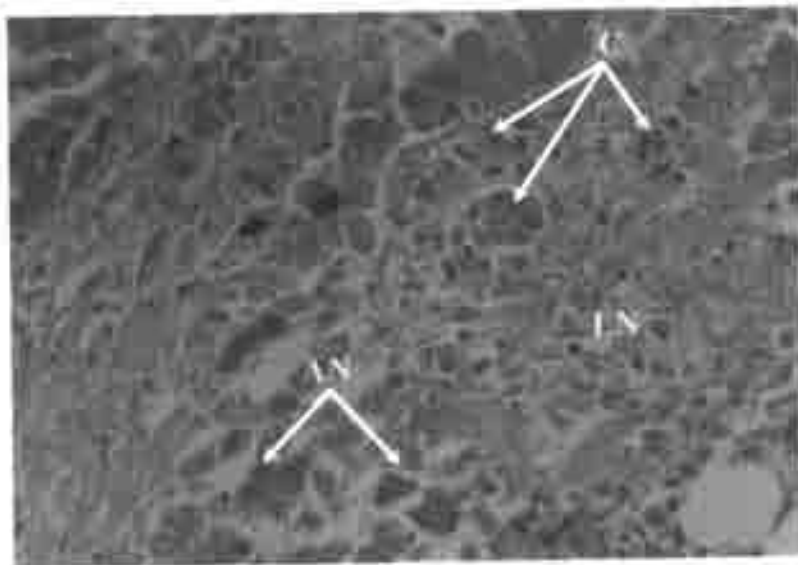
شکل ۶ استوئیلازی مجرای صفراوی (کولانژیوما) در کبد
تکثیر و تراکم بیش از حد سلول‌های پوششی مجرای صفراوی (H) افزایش بافت همبندی
اطراف مجرای صفراوی (CH) (H&E, X 210)



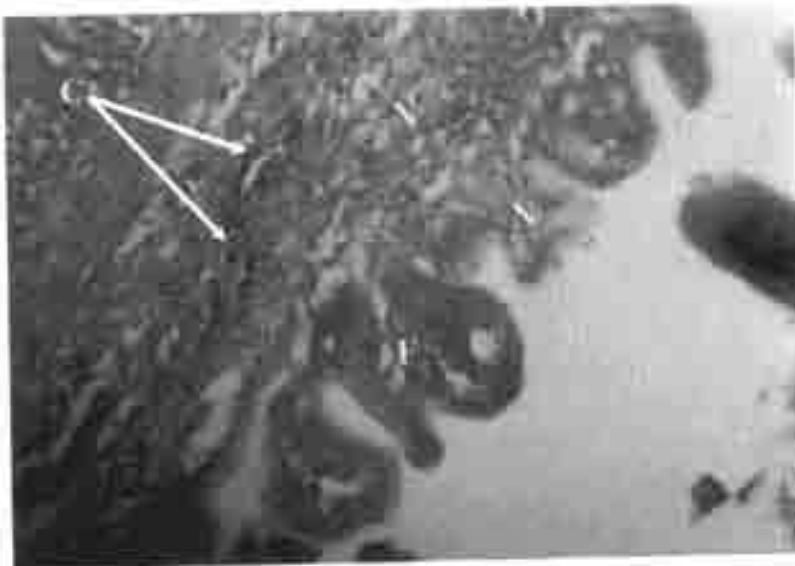
شکل ۷: پرغوشی شدید (C)، دژنراسی و اکوتولی سلولهای کبدی (D)، نکروز هپاتوسیتها (N) و اتساع سینوزوئیدها (E) در بافت کبد (H&E, X 105)



شکل ۸: پرغوشی (C)، رسوب رنگدانه‌های هموسیدرین (هموسیدروزیس) (H) و نکروز (N) در بافت طحال (H&E, X 105)



شکل ۹: نکروز آسپتی ما (AN)، نکروز جراثیم لانگرمائیس (L.N) و پیرجونی (C) در لوزالمغزہ (H&E, X 420)



شکل ۱۰: پیرجونی زیرمخاط (C)، نکروز (N) و تہ ہم چسبیدن بالفت مخاطی (F) روده (H&E, X 210)

بحث

به طور کلی تشخیص بیماریها را می توان تا حدود زیادی با استفاده از معاینات بالینی و آزمایشهای پاراکلینیکی انجام داد. در این مطالعه معاینات و مشاهدات بالینی انجام شده و بررسیهای هیستوپاتولوژیک بر مبنای گزارش کمک تشخیصی پاراکلینیکی مورد استفاده فرار گرفته است.

نتایج حاصل از معاینات بالینی در این تحقیق نشان می دهد که بچه ماهیهای بیمار علاوه بر شای غیر عادی و تجمع در کناره های استخر و محل خروجی آب، دارای تیرگی رنگ، بیرون زدگی دوطرفه چشم، اتساع شکم و آسیب بوده اند. همچنین کست های مدفوعی آبزیان از مخرج آنها نیز دیده شد. در منابع مختلف علمی سه علامت تیرگی رنگ، گزوفتالمی و انبساط شکم توأم با آب آوردگی را به عنوان علائم اصلی بیماریهای ویروسی ماهیها ذکر می کنند. افزون بر اینها وجود کست های مدفوعی کشیده نیز قابل ذکر است. در بچه ماهیهای مورد مطالعه همانگونه که ذکر شد این علائم اصلی بیماریهای ویروسی به طور کامل مشاهده شده است. علاوه بر علائم تیرگی رنگ، گزوفتالمی، اتساع شکم و آسیب که در بیماریهای ویروسی مشاهده می شود (سلطانی، ۱۳۸۰؛ مخیر، ۱۳۸۱؛ Roberts, 2001)، سایر علائم بالینی مشاهده شده در این تحقیق در بیماری موارد با علائم بالینی گزارش شده از ماهیهای که دچار بیماریهای مهم ویروسی نکروز عفونی لوزالمعده (IPN)، نکروز عفونی بافت های خون ساز (IHN) و سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS) هستند (Roberts, 2001 ; Roberts & Shepherd, 1997) مطابقت دارد. لیکن تفاوتی در علائم مشاهده شده در این تحقیق و علائم گزارش شده در خصوص این بیماریها وجود دارد.

در بیماری IPN حاد چرخش ماهی همراه با قرار گرفتن سر به طرف پلئین و ناحیه دمی به طرف بالاست که یک علامت مشخص بیماری است (سلطانی، ۱۳۸۰) در

صورتی که این حالت در بچه ماهیان مورد مطالعه مشاهده نگردید.

در ماهیان مبتلا به بیماری VHS علائم بالینی متنوعی گزارش شده که از یک جوهری عمومی تا عدم مشاهده هر گونه علامت را شامل می شود. ماهیها از نظر ظاهر سالم به نظر می رسند و برخی ماهیها بیش از حد فعال بوده و دارای تعادل کمی می باشد که همراه با شای چرخشی و عمودی و انقباض ناحیه شکمی است. همچنین خونریزیهای منتشره در اکثر اندامهای داخلی مشاهده می شود (مخیر، ۱۳۸۱). بچه ماهیهای مورد مطالعه در این تحقیق سه حشر شای غیر عادی و چرخشی، علائم بالینی بیماری VHS را از خود نشان نمی دادند.

عمده ترین علائم بالینی مشاهده شده در بچه ماهیهای بیمار بیشتر مشابه علائم بیماری IHN می باشد که شامل شای غیر طبیعی چرخشی، تجمع در کناره های استخر و باز در محل خروجی آب و آبراز بودن قالب های مدفوعی سفید رنگ از مخرج ماهیان بیمار (سلطانی، ۱۳۸۰؛ شنغوسی و پیغان، ۱۳۸۲) است.

نتایج حاصل از بررسیها و مطالعات هیستوپاتولوژیک بچه ماهیان بیمار در این تحقیق نشان داد که اندامهای مهم و حیاتی نظیر کلیه، کبد، طحال، لوزالمعده، روده و جگر بیش از سایر درجات مختلفی از صدمات بافتی از دژنراسیون سلولی تا نکروز بافت می باشند و در یک جمع بندی می توان گفت که از نظر آسیب شناسی، صدمات میکروبیک فراوانی در اندامهای مختلف ماهیان بیمار مشاهده گردید.

یکی از مهمترین مشخصه های سه بیماری مهم ویروسی IPN، IHN و VHS وجود ضایعات نکروتیک فراوان است (Bruno & Poppe, 1996). در بیماری IPN، نکروز شدید و وسیع در بافت پانکراس و به ویژه به طور مشخصی در سلولهای اسپنژ اتفاق می افتد و در بافت کلیه، یخچونی یا خونریزی در شبکه گلبولمرولی و ادم و اهدام ایسیلیوم

Histopathology of mortality in cultured Rainbow trout fry in some coldwater hatcheries and fish farms of Iran

Sharifpour I. and Zorriehzahra S.J.

issasharifpour@yahoo.com

Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: May 2005

Accepted: March 2006

Keywords: Rainbow trout, Histopathology, Fry mortality, IHN, Iran

Abstract

Causes of the mortality of cultured rainbow trout fry in coldwater hatcheries and fish farms in Iran were investigated. Some 104 tissue specimens of liver, kidney, spleen, pancreas, intestine, and gill from 59 diseased fries from Mazandaran, Fars, Markazi and Kohgiluyeh-Boyer-Ahmad provinces were collected for histopathological studies. Tissues were immediately fixed in 10% buffered formalin for at least 24 hours. The fixed tissues were processed in an automatic tissue processor using standard procedure. After processing, tissues were embedded into wax and 5 micron sections were prepared using a rotary microtome. The sections were stained using H & E staining method, and examined under compound microscope.

The affected fries were dark in color, and showed exophthalmia, ascitis, erratic swimming, faecal casts in the anal area and lethargy. They also gathered near the outlet of the ponds.

Microscopic examination of the tissues revealed histopathologic changes including congestion, inflammation of the basal membrane of secondary lamellae, hyperplasia, and fusion of secondary lamellae and clubbing in some cases in the gill. Congestion of blood vessels, degeneration of kidney cells, necrosis of hematopoietic tissue and tubules, increase of melanin pigments and infiltration of inflammatory cells were observed in kidney. In liver congestion of blood vessels, increase of fat in hepatocytes, congestion and dilation of sinusoids with increased monocytes, increase in melano-macrophage number, vacuolation of hepatocytes and focal necrosis were seen. Bile duct neoplasia (cholangioma) was also present in some cases. Spleen showed congestion, hemosiderosis, increase in melano-macrophage centers and necrosis in some cases. The pancreas tissue showed congestion, degeneration and necrosis of acinar cells and islets of Langerhans. Congestion of sub-mucosa layer, fusion of mucosa layer, necrosis and detaching of the mucoid columnar epithelium were observed in the intestine tissue.

The clinical and histo-pathological examination results suggested that the causative agent of the fry disease is likely to be a virus with the signs similar to IHN disease.