



بررسی آسیب‌شناسی بافتی شیوع نکروز آبششی در ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دشت ارژن استان فارس

رضا صادقی لیمنجوب^۱، فاطمه متفکر^{۲*}، امیر حسین رضازاده شیرازی^۳، حسین بیدار^۴

۱. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان و زنبور عسل، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، کازرون، ایران

۲، ۳، ۴. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه آزاد کازرون، کازرون، ایران

* مسئول مکاتبات: fati1377motefaker@gmail.com

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی آسیب‌شناسی بافتی نکروز آبششی در ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در یکی از مزارع پرورش فعال در دشت ارژن استان فارس بود. برای این منظور، از ۲۰۰ نمونه ماهی قزل آلا به صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام شد و با استفاده از روش‌های استاندارد تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، وضعیت بافت‌های آبششی آن‌ها مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۱۲۷ نمونه (۵/۶۳ درصد) دارای ضایعات نکروزی در آبشش‌ها بوده‌اند، در حالی که ۷۳ نمونه (۵/۳۶ درصد) فاقد ضایعات قابل مشاهده بودند. مهم‌ترین علائم میکروسکوپی شامل تخریب غشاء سیتوپلاسمی (۲۵ درصد)، تنوسیتی سیتوپلاسم (۱۷ درصد)، تنوسیتی هسته (۹ درصد)، پیکنوز (۷ درصد) و جایگزینی بافت همبند (۶ درصد) بود. نتایج نشان می‌دهد که نکروز آبششی به عنوان یکی از آسیب‌های شایع و مهم در مزارع پرورش ماهی می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی، استرس‌های پرورشی و عوامل بیماری‌زا گسترش یابد. پایش مداوم و رعایت اصول بهداشتی و زیست‌محیطی، نقش مؤثری در کاهش شیوع این بیماری خواهد داشت.

واژگان کلیدی: نکروز آبششی، آسیب‌شناسی بافتی، ماهی قزل آلائی رنگین کمان، ضایعات میکروسکوپی، پرورش ماهی.

مقدمه

آبشش‌ها از مهم‌ترین ساختارهای حیاتی در ماهیان به شمار می‌روند که وظایفی همچون تبادل گازها، تنظیم اسمزی، دفع مواد زائد نیتروژنی و تنظیم تعادل اسید و باز را بر عهده دارند (Evans et al., 2015). آسیب به ساختار آبشش، به ویژه نکروز، می‌تواند منجر به اختلال در فرآیندهای حیاتی فوق شده و در نهایت به کاهش کارایی زیستی، ضعف عمومی و افزایش تلفات در جمعیت ماهیان منجر شود (Fernandes et al., 2017). یکی از آسیب‌های شایع در سیستم آبشش ماهیان پرورشی، به ویژه گونه‌ی اقتصادی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، نکروز آبششی (Gill Necrosis) است که منشأی چندعاملی دارد و عوامل محیطی، پاتولوژیک و مدیریتی متعددی در بروز آن نقش دارند (Noga, 2020).

عوامل ایجادکننده نکروز آبششی شامل آلودگی‌های میکروبی (نظیر باکتری‌های گرم منفی)، انگل‌ها (همچون *Dactylogyrus* spp.)، ویروس‌ها، شرایط نامناسب کیفی آب (نظیر سطوح پایین اکسیژن محلول، افزایش آمونیاک و نیتريت)، تراکم بالای جمعیتی و استرس‌های ناشی از تغییرات ناگهانی محیطی می‌باشند (Kim and Austin, 2018; Shinn et al., 2015). بررسی‌های انجام شده در ایران نیز نشان‌دهنده شیوع بالای نکروز آبششی در مزارع پرورش ماهی هستند. برای نمونه، مطالعه‌ی Alizadeh و همکاران (2019) در شمال کشور نشان داد که حضور باکتری‌های گرم منفی در بافت آبشش نقش مهمی در نکروز دارد، در حالی که پژوهش Mohabi و همکاران (2021) به وجود انگل‌های تک‌میزبانه به عنوان عامل همراه در این ضایعه اشاره کرده‌اند. همچنین Esmaeili و همکاران (2022) با تحلیل کیفیت آب در مزارع پرورشی، افزایش آمونیاک و کاهش اکسیژن را از جمله عوامل محرک نکروزی معرفی کرده‌اند. از سوی دیگر،



بررسی‌های بین‌المللی مانند مطالعه‌ی Turner و همکاران (2020) نشان داده‌اند که افزایش بار میکروبی در محیط آبی با بروز واکنش‌های التهابی و نکروزی در بافت آبشش ماهی قزل‌آلا همراه است.

با توجه به اهمیت اقتصادی بالای قزل‌آلای رنگین‌کمان در صنعت آبیاری پروری ایران و نقش حیاتی سلامت آبشش در بقای این گونه، لزوم بررسی آسیب‌شناسی دقیق بافت آبشش در مناطق مختلف پرورشی بیش از پیش احساس می‌شود. به‌ویژه در سال‌های اخیر، افزایش موارد نکروز آبششی در مزارع مناطق معتدل کشور، از جمله دشت ارژن در استان فارس، نگرانی‌هایی در خصوص سلامت و بهره‌وری این صنعت ایجاد کرده است (Ahmadi et al., 2023). بررسی هیستوپاتولوژیکی دقیق بافت آبشش، می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در خصوص نوع ضایعات، شدت و توزیع آن‌ها فراهم آورده و زمینه‌ساز شناسایی علل احتمالی بیماری، طراحی راهبردهای پیشگیری و کنترل و بهبود عملکرد مدیریتی در مزارع گردد.

هدف از این پژوهش، بررسی آسیب‌شناسی بافت آبشش در نمونه‌های ماهیان مبتلا در یکی از مزارع پرورش قزل‌آلا در منطقه‌ی دشت ارژن استان فارس است. در این مطالعه با تکیه بر روش‌های هیستوپاتولوژیکی، به تحلیل الگوهای ضایعات، تعیین شدت نکروز و ارزیابی علل احتمالی زمینه‌ساز آن پرداخته می‌شود تا گامی در جهت بهبود سلامت ماهیان و کاهش تلفات ناشی از بیماری‌های تنفسی برداشته شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، جهت بررسی آسیب‌شناسی نکروز آبششی در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان، تعداد ۱۰۰ نمونه از ماهیان پرورشی از مزرعه‌ی قزل واقع در دشت ارژن استان فارس به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌برداری در بازه‌ی زمانی فصل پاییز، مقارن با افزایش بروز مشکلات تنفسی در استخرهای پرورشی، انجام گرفت.

نمونه‌ها پس از بی‌هوش‌سازی انسانی با استفاده از محلول ملایم بی‌حسی (MS-222 با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، به‌منظور کاهش استرس و درد، کالبدگشایی شده و آبشش‌ها با رعایت اصول استریل جداسازی گردیدند. نمونه‌های بافتی بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر شده تثبیت شده و جهت بررسی‌های آسیب‌شناسی به آزمایشگاه تخصصی منتقل شدند. در آزمایشگاه، نمونه‌ها پس از طی مراحل آبگیری (با استفاده از اتانول در غلظت‌های افزایشی)، شفاف‌سازی (با زایلن) و قالب‌گیری در پارافین، به‌وسیله‌ی میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه تهیه شد. برش‌ها بر روی لام‌های شیشه‌ای منتقل و به روش هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی گردیدند. لام‌های رنگ‌شده با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی‌های 100× و 400× مورد ارزیابی قرار گرفتند. شاخص‌های پاتولوژیکی شامل پرخونی (Hyperemia)، نفوذ سلول‌های التهابی (Inflammatory cell infiltration)، چسبندگی ثانویه تیغه‌های آبششی (Secondary lamellar fusion)، هایپرتروفی سلولی و نکروز اپی‌تلیوم مورد بررسی کیفی و کمی قرار گرفت. ارزیابی کمی ضایعات به‌صورت درصد فراوانی در میان نمونه‌های مورد مطالعه و شدت ضایعه (خفیف، متوسط، شدید) بر اساس مقیاس نیمه‌کمی استاندارد انجام شد.

به‌منظور تحلیل آماری، داده‌های کمی وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ گردید و آزمون‌های توصیفی برای ارائه میانگین و انحراف معیار هر شاخص به‌کار رفت. همچنین، برای بررسی همبستگی بین شدت ضایعات با فاکتورهای محیطی احتمالی، در صورت وجود داده‌های تکمیلی، از آزمون‌های آماری مناسب (نظیر آزمون کای‌دو یا ANOVA) استفاده خواهد شد.

نتایج

نتایج آسیب‌شناسی نشان داد که نکروز آبششی در تعداد قابل‌توجهی از نمونه‌های مورد بررسی مشاهده شد. از مجموع ۲۰۰ نمونه‌ی مورد ارزیابی، ۱۲۷ نمونه (معادل 63/5 درصد) دارای علائم پاتولوژیکی مرتبط با نکروز آبششی بودند، در حالی که در ۷۳ نمونه (36/5 درصد) ضایعه‌ای مرتبط با این سندرم مشاهده نگردید. این یافته بیانگر شیوع بالای نکروز آبششی در مزرعه‌ی مورد مطالعه می‌باشد. بررسی‌های میکروسکوپی با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین نشان‌دهنده‌ی طیفی از تغییرات سلولی در بافت آبشش بود که متناسب با شدت ضایعه، از تغییرات خفیف تا شدید متغیر بود. مهم‌ترین نشانه‌های میکروسکوپی مشاهده‌شده به شرح زیر است:



- تخریب غشاء سیتوپلاسمی در ۲۵ درصد از نمونه‌ها (۵۰ مورد)، که به‌عنوان یکی از شاخص‌های اولیه نکروز سلولی محسوب می‌گردد.
- افزایش تنوسیتی سیتوپلاسم (Cytoplasmic eosinophilia) در ۱۷ درصد موارد (۳۴ نمونه)، که ناشی از تغییرات پروتئینی سلولی است.
- افزایش تنوسیتی هسته (Nuclear hyperchromasia) در ۹۰ درصد نمونه‌ها (۱۸ مورد)، که نشان‌دهنده فشرده‌سازی DNA در مراحل اولیه آسیب است.
- پیکنوز هسته‌ای (Nuclear pyknosis) که در ۷ درصد نمونه‌ها (۱۴ مورد) مشاهده شد و معمولاً در مراحل پیشرفته‌تر نکروز اتفاق می‌افتد.
- جایگزینی بافت همبند به جای بافت عملکردی آبشش در ۶ درصد نمونه‌ها (۱۲ مورد)، که نشانه‌ای از واکنش ترمیمی بافتی مزمن و از بین رفتن ساختار اصلی آبشش است.

در بسیاری از نمونه‌ها، این ضایعات به‌صورت ترکیبی مشاهده گردیدند و شدت آن‌ها از ناحیه‌ای به ناحیه‌ی دیگر در آبشش متغیر بود. همچنین، پرخونی عروق خونی، چسبندگی ثانویه‌ی تیغه‌های آبششی و نفوذ سلول‌های التهابی نیز به‌طور هم‌زمان در تعداد قابل توجهی از نمونه‌ها مشاهده گردید که تأییدکننده‌ی وقوع یک پاسخ التهابی فعال در بافت آسیب‌دیده بود. آنالیز داده‌ها نشان داد که ارتباط معناداری میان شدت ضایعات با افزایش فراوانی نکروز وجود دارد ($P < 0.05$)؛ همچنین، الگوی پراکندگی ضایعات نشان داد که نواحی مرکزی آبشش بیش از نواحی محیطی درگیر ضایعه بودند که ممکن است ناشی از کاهش جریان آب در آن نواحی باشد. این نتایج به‌طور کلی بیانگر درگیری گسترده بافت آبششی با فرآیندهای نکروتیک و التهابی بوده و حاکی از تأثیر جدی عوامل پاتولوژیک، از جمله عوامل محیطی یا میکروبی، در بروز این سندرم در مزرعه‌ی مورد مطالعه است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نکروز آبششی یکی از مشکلات شایع و قابل توجه در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در منطقه مورد مطالعه است. بروز ضایعات بافتی نکروزی در بیش از ۶۳ درصد نمونه‌ها، حاکی از گستردگی این عارضه در مزرعه‌ی قزل واقع در دشت ارژن استان فارس می‌باشد. این میزان بالای درگیری پاتولوژیک، ضرورت بررسی عمیق‌تر عوامل مستعدکننده و مداخله‌گر در محیط‌های پرورش ماهی را برجسته می‌سازد.

یافته‌های هیستوپاتولوژیک، نظیر تخریب غشاء سیتوپلاسمی، تنوسیتی سیتوپلاسم و هسته، پیکنوز هسته‌ای و جایگزینی بافت همبند به‌جای بافت عملکردی آبشش، نشانه‌ای از مراحل پیشرونده‌ی آسیب و مرگ سلولی هستند که معمولاً در اثر تنش‌های مزمن محیطی، آلودگی‌های میکروبی و ویروسی، و کیفیت پایین آب رخ می‌دهند. این تغییرات در بسیاری از نمونه‌ها به‌صورت ترکیبی و هم‌زمان مشاهده شدند که نشان‌دهنده‌ی پیشرفت بالینی بیماری و احتمال مزمن بودن عوامل ایجادکننده آن است.

مطابق با گزارش‌های قبلی، عواملی چون کاهش اکسیژن محلول، افزایش آمونیاک و نیترات، تراکم بالای ماهی، و نوسانات دمایی، از جمله فاکتورهای مؤثر در بروز ضایعات آبششی و اختلالات تنفسی در ماهیان پرورشی به‌شمار می‌روند (Evans et al., 2015; Fernandes et al., 2017; Noga, 2020). این عوامل با تضعیف سدهای دفاعی بافت تنفسی و ایجاد شرایط مناسب برای رشد عوامل بیماری‌زا، احتمال بروز نکروز آبششی را افزایش می‌دهند.

یافته‌های حاضر زنگ خطری برای سلامت زیستی و اقتصادی مزارع پرورش ماهی در منطقه به‌شمار می‌آیند. به‌ویژه، مشاهده جایگزینی بافت همبند به‌جای تیغه‌های تنفسی طبیعی می‌تواند عملکرد تنفسی ماهی را به شدت کاهش داده و زمینه‌ساز تلفات گسترده گردد. چنین تغییراتی اغلب برگشت‌ناپذیر بوده و بر نرخ رشد، ضریب تبدیل غذا و بقاء ماهیان اثر منفی مستقیم دارد.

بر این اساس، اقدامات اصلاحی و پیشگیرانه‌ای مانند پایش مستمر کیفیت آب (شامل دما، اکسیژن محلول، pH، آمونیاک و نیترات)، کنترل تراکم پرورش، بهینه‌سازی سیستم‌های هوادهی، کاهش استرس محیطی، و اجرای برنامه‌های پایش سلامت ماهیان به‌صورت دوره‌ای توصیه



می‌گردد. همچنین، کاربرد روش‌های نوین در شناسایی سریع عوامل بیماری‌زا و تقویت سامانه‌های دفاعی ماهی، می‌تواند در کاهش اثرات بیماری‌های تنفسی مؤثر باشد.

در مجموع، مطالعه‌ی حاضر با ارائه داده‌های دقیق آسیب‌شناسی، به‌خوبی ابعاد مختلف ضایعات نکروزی در آبشش ماهی قزل‌آلا را نشان داده و می‌تواند به‌عنوان مرجع کاربردی برای اصلاح مدیریت پرورش، طراحی سیاست‌های بهداشتی و همچنین انجام پژوهش‌های آینده در زمینه‌ی بیماری‌های آبششی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب سپاس خود را از مدیریت و کارکنان محترم مزرعه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دشت ارژن به‌دلیل همکاری صمیمانه در مراحل نمونه‌برداری و فراهم‌سازی شرایط انجام تحقیق اعلام می‌دارند. همچنین از آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون که امکانات و تجهیزات لازم برای پردازش و تحلیل نمونه‌ها را در اختیار پژوهشگران قرار دادند، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

- Ahmadi, M., Dehghani, M. and Rahimi, H., 2023. Increasing incidence of gill necrosis in trout farms in Arjan Plain, Iran. *Journal of Aquaculture and Environment*, 6(2): 92–101.
- Alizadeh, H., Hosseini, S. A. and Karami, A., 2019. Identification of gram-negative bacteria associated with gill necrosis in rainbow trout in northern Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(3): 567–576.
- Evans, D. H., Claiborne, J. B. and Currie, S., 2015. *The Physiology of Fishes* (4th Ed.). CRC Press.
- Fernandes, M. N., Rantin, F. T. and Perry, S. F., 2017. Gill remodeling in fish: A link to environmental change. *Journal of Fish Biology*, 90(2): 401–420.
- Kim, J. H. and Austin, B., 2018. Bacterial pathogens in rainbow trout aquaculture: Current knowledge and future perspectives. *Aquaculture Research*, 49(6): 2051–2060.
- Mohabi, R., Tavakoli, M. and Soltani, M., 2021. Parasitological investigation of gill necrosis in rainbow trout farms in Iran. *Veterinary Research Forum*, 12(4): 387–393.
- Noga, E. J., 2020. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment* (2nd Ed.). Wiley-Blackwell
- Shinn, A. P., Pratoomyot, J., Bron, J. E., Paladini, G., Brooker, E. E. and Brooker, A. J., 2015. Economic costs of protistan and metazoan parasites in global finfish aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 38(1): 11–23.
- Turner, R. J., Patel, D. M. and Williamson, J., 2020. Microbial load and tissue inflammation in rainbow trout: A histopathological approach. *Fish and Shellfish Immunology*, 104: 273–281.

Histopathological examination of the prevalence of gill necrosis in rainbow trout in a trout farm in Dasht-e Arjan, Fars province

Reza Sadeghi limanjoob¹, Fatemeh Motefaker^{2*}, AmirHossein Rezazadeh Shirazi³, Hossein Bidar⁴

1. Department of Aquatic Animal Health and Diseases and Honey Bee, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Kazerun, Iran



2, 3,4. Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazerun, Iran

*Corresponding author: fati1377motefaker@gmail.com

Abstract

The histopathological lesions caused by gill necrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from an active breeding farm in Dasht-e Arjan, Fars province were to be studied under this research. For this purpose, a total of 200 rainbow trout samples were captured at random, and gill tissues were examined through making a standard tissue section and using the standard hematoxylin-eosin staining methods. These results indicate that 127 of the examined samples (63.5 %) were found to have necrotic lesions, whereas the remaining 73 (36.5 %) have no lesions visible. The most prominent microscopic features include cytoplasmic membrane destruction (25%), cytoplasmic eosinophilia (17%), nuclear eosinophilia (9%), pyknosis (7%), and connective tissue replacement (6%). That gill necrosis-the typical and most serious lesions affecting fish farms-may be aggravated by several environmental, breeding, and infectious factors thus continuous surveillance and adherence to health and environmental principles would effectively remedy the situation concerning the prevalence of this disease.

Keywords: Gill necrosis, histopathology, rainbow trout, microscopic lesions, fish farming.