DOI: 10.22092/vj.2020.343532.1736
شماره ۱۲۸ پاییز ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

پایش همه جانبه رخداد مرگ و میر بالای پرندگان آبزی مهاجر تالاب میانکاله در سال ۱۳۹۸

• **علی صفر ماکنعلی**
رئیس سازمان دامپزشکی کشور، وزارت جهاد کشاورزی
• **ارکیده حیدرنژاد (نویسنده مسئول)**
عضو هیئت‌علمی موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
• **وحید کشاورز زمانیان**
سازمان دامپزشکی کشور، وزارت جهاد کشاورزی
• **محمد حبیبی**
مدیرکل مرکز ملی تشخیص آزمایشگاه‌های مرجع و مطالعات کاربردی، سازمان دامپزشکی کشور
• **کوروس ربیعی**
رئیس اداره حیات‌وحش، اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان مازندران
• **حمیدرضا طالیفر**
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، بخش زیست شناسی
• **حامد عبدالهی**
کارشناس مرکز ملی تشخیص آزمایشگاه‌های مرجع و مطالعات کاربردی، سازمان دامپزشکی کشور
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹-۰۴-۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹-۰۵-۱۵
heidarnejhad@yahoo.com

چکیده

یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی تالاب میانکاله در مهروموم‌های اخیر، رخداد مرگ‌ومیر بالای پرندگان وحشی مهاجر در سال ۱۳۹۸ بود. تحقیق حاضر به علت اهمیت زیست‌محیطی رخداد مرگ‌ومیر پرندگان مهاجر و باهدف بررسی همه‌جانبه این رخداد و تشخیص دقیق علت شیوع مرگ‌ومیر، از طریق روش‌های استاندارد پایش غیرفعال و انجام مطالعات بالینی، کالبدگشایی و آزمایشگاهی استاندارد، انجام شد. در طی ۵۰ روز پایش منطقه، تلفات پرندگان ۳۸۵۸۷ قطعه شمارش شد. بیشترین تلفات مربوط به چنگرها (حدود ۸۵٪) و فلامینگوها (۶٪) بود. در دو منطقه بهشهر و گلوگاه از ۱۹۸ قطعه پرنده از گونه‌های مختلف نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌های بافتی شامل نمونه‌های سوآب حلقی و نای، کلوآک، خون کامل و سرم خون پرندگان زنده و بافت‌های مغز، نای، ریه، سنگدان و پیش معده، روده و محتویات، کبد، طحال، پانکراس و عضله سینه بودند. آزمایش‌های انجام‌شده بر روی نمونه‌ها عبارت بودند از: سویه‌های آنفلوانزا، نیوکاسل، وبای پرندگان، پاستورلا، انتریت و هپاتیت ویروسی اردک، تشخیص تفریقی گرم، حضور جیوه سرب، آرسنیک در بافت‌ها و نمونه‌ها، حضور سیانید در آب، باقیمانده سموم آفت‌کش و سموم. پاسخ تمامی آزمون‌ها به‌غیراز سم بوتولین منفی بود. طبق نتایج به‌دست‌آمده مسمومیت کلستریدیوم بوتولینوم در پرندگان آبزی تالاب میانکاله باعث این تلفات بالا شده است. نتایج آزمایشگاهی تائید می‌کنند که خواص فیزیکوشیمایی رسوبات و آب این قسمت، مؤید شرایط مساعد و مطلوب بروز بوتولیسم و سایر بیوتوکسین‌ها می‌باشد و ممکن است، در صورت عدم مدیریت، در سال‌های آتی تکرار شده و به همراه سایر عوامل ازجمله عوامل عفونی، باعث تشدید مرگ‌ومیر پرندگان شوند.

کلمات کلیدی: مرگ‌ومیر، پرندگان وحشی آبزی، تالاب میانکاله، کلستریدیوم بوتولینوم

Veterinary Researches & Biological Products No 128 PP: 130-139

A Comprehensive Monitoring of The High Mortality Rate of Wild Waterbirds in Miankaleh Wetland in 2020

By: Maken Ali, A. S., Head of Iran Veterinary Organization (IVO). Heidarnejd, O. (Corresponding Author), Faculty Member of Institute of Agricultural Education and Extension, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran. Keshavarz Zamanian, V., Iran Veterinary Organization. Habibi, M., General Director of Central and Referance Laboratory and Applied Studies. Rabiei, K., Research Center and Department of Environment in Mazandaran, Sari, Iran. Talifar, H., Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran and Abdollahi, H., National Reference Laboratory, Diagnosis and Applied Studies Center, Iran Veterinary Organization.

Received: 2020-07-02 **Accepted: 2020-08-05**

Email: heidarnejhad@yahoo.com

One of the most important environmental problems of Miankaleh wetland in recent years was high mortality of wild waterbirds occurrence in 2020. The present study was conducted to perform a comprehensive monitoring of this event and accurate diagnosis of the cause of death, due to the environmental significance of wild waterbirds mortality, through standard passive Surveillance methods and clinical, autopsy and laboratory studies. The estimated death of birds was 38587, during 50 days. The highest losses were related to Common Coot (about 85%) and flamingos (6%). 198 birds were sampled from different species of birds in two areas (Behshahr and Galuogah). Tissue samples included samples of pharyngeal and tracheal swabs, cloaca, whole blood and blood serum of live birds, and brain, tracheal, lung, gizzard and anterior gastric tissues, intestines and its contents, liver, spleen, pancreas and Chest muscle of dead birds. Tests performed on the samples included: influenza serotypes, Newcastle disease, avian Cholera, pasteurella, duck viral enteritis, duck viral hepatitis, differential diagnosis between gram-negative and gram-positive bacteria, presence of mercury, Arsenic and the remnants of pesticides in tissues and samples, cyanide in water. All tests were negative, except for botulin toxin. According to the results, Clostridium botulinum poisoning is cause of high casualties of waterfowl in Miankaleh Wetland. Laboratory results were shown that the physicochemical properties of alluvium and water create favorable conditions for the production of biotoxins and if it will be not managed, they may recur in the coming years.

Keyword: death, wild waterbirds, Miankaleh wetland, Clostridium botulinum

مقدمه

در سی سال اخیر، مسائل زیست‌محیطی تالاب‌ها و حفاظت آن‌ها بیشتر موردتوجه و اهمیت قرارگرفته است. با توجه به آب‌وهوای خشک و نیمه‌خشک ایران و کمبود پهنه‌های آب شیرین در ایران نسبت به گستره جغرافیایی آن، اهمیت تالاب‌ها دوچندان می‌گردد (Jaafari et al., ۲۰۱۳). یکی از وقایع مهم تالاب‌های کشور، مهاجرت فصلی پرندگان به این تالاب‌ها است. هرساله تعداد زیادی از پرندگان مهاجر به تالاب‌های جنوبی دریای خزر، ازجمله تالاب میانکاله پناه می‌آورند. تالاب میانکاله یکی از زیستگاه‌های مهم و باارزش پرندگان مهاجر آبزی و پرندگان بومی است. این تالاب بازمانده‌ی تیپ اراضی مشجر ساحلی در ساحل جنوبی دریای خزر بوده و به‌عنوان منطقه‌ای مهم برای پرندگان توسط سازمان بین‌المللی حیات پرندگان شناسایی‌شده است. این تالاب در سال ۱۹۷۱ به‌عنوان تالاب بین‌المللی در کنوانسیون رامسر به ثبت رسیده است (Bagherzadeh Karimi, ۲۰۱۴).

شیوع بیماری و مرگ‌ومیر پرندگان مهاجر یکی از مهم‌ترین رخدادهای زیست‌محیطی تالاب‌ها و دریاچه‌ها در سطح جهان است (Rocke, ۲۰۰۶). گزارش‌های متعددی از این رخداد در ایران و جهان ارائه‌شده‌اند، یکی از مهم‌ترین علل این رخداد در جهان، مسمومیت‌ها به‌خصوص ناشی از کلستریدیوم بوتولینوم عنوان‌شده است (Rocke & Friend, ۱۹۹۹; Wobeser, ۱۹۹۷; Smith, ۱۹۷۶; Russell et al., ۲۰۱۹; Ramollo, ۲۰۱۶; Van Heerden, ۱۹۷۲; Martinovich et al., ۱۹۷۲; Włodarczyk, ۱۹۷۲; et al., ۲۰۱۴; Woudstra et al., ۲۰۱۲; Blaker, ۱۹۶۷; Grubb, ۱۹۶۴). از گزارش‌های داخلی کشور می‌توان به شیوع بوتولیسم و ایجاد تلفات پرندگان مهاجر رودخانه ارس در سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۹۴ و وقوع آنفولانزای فوق حاد که باعث تلفات پرندگان مهاجر در مرداب انزلی در سال ۱۳۸۴، تالاب میقان در سال ۱۳۹۵ و منطقه بوجاق در سال ۱۳۹۶ اشاره نمود.

بوتولیسم پرندگان نوعی بیماری غیر عفونی ناشی از مصرف سموم

تولیدشده توسط باکتری گرم مثبت کلستریدیوم بوتولینوم (*Clostridium botulinum*) است (Rocke & Friend, ۱۹۹۹). هفت سویه مختلف از نوروتوکسین‌های بوتولیسم شناسایی‌شده‌اند که با برچسب A تا G نام‌گذاری شده‌اند و سویه‌های موزاییکی با ویژگی دو سم نیز گزارش شده‌اند (Anza et al., ۲۰۱۴; Getchell & Bowser, ۲۰۰۶). شیوع بوتولیسم پرندگان به‌طورمعمول در نوع C، موزاییک C / D یا نوع E ایجاد می‌شود. مرگ ماهی‌ها به‌طورمعمول در نوع E رخ می‌دهد (Cromie et al., ۲۰۱۲). وجود کلستریدیوم بوتولینوم در رسوبات تالاب‌ها به‌صورت گسترده‌ای گزارش‌شده است و به‌طورمعمول برای فعال‌سازی و تولید سم، گرما و شرایط کمبود اکسیژن نقش اساسی را بر عهده دارد، اما شوری و PH رسوبات و آب نیز احتمال شیوع بوتولیسم در اکوسیستم‌های آبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Espelund & Klaveness, ۲۰۱۴). تشخیص اولیه بوتولیسم پرندگان غالباً بر اساس ترکیبی از علائم نشان داده‌شده توسط پرندگان بیمار و عدم وجود یافته‌های خاص پس از مرگ است (Rocke & Bollinger ۲۰۰۷).

یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی تالاب میانکاله در سال‌های اخیر، رخداد مرگ‌ومیر بالای پرندگان وحش تالاب در سال ۱۳۹۸ بود. به علت اهمیت زیست‌محیطی رخداد مرگ‌ومیر پرندگان مهاجر در سطح ملی و بین‌المللی، تحقیق حاضر باهدف بررسی همه‌جانبه این رخداد و تشخیص دقیق علت شیوع مرگ‌ومیر، از طریق روش‌های استاندارد پایش غیرفعال و انجام مطالعات بالینی، کالبدگشایی و آزمون‌های آزمایشگاهی استاندارد، انجام شد.

مواد و روش‌کار

مشخصات محل وقوع رخداد

شبه‌جزیره و پناهگاه حیات‌وحش میانکاله در شمال کشور ایران و جنوب دریای خزر و بین طول‌های جغرافیایی "۰۸ ´۲۴ °۵۲ تا "۰۲ ´۰۲ °۵۴ شرقی و عرض‌های جغرافیایی"۳۶ ´۴۶ °۳۶ تا "۵۷ ´۳۶ °۳۶ شمالی واقع‌شده است. میانکاله از دو محیط آبی با وسعت ۴۵۰۰۰ هکتار شامل خلیج و تالاب میانکاله و خشکی با وسعت ۲۳۸۰۰ هکتار تشکیل‌شده است.

اقلیم و آب و هوا

این تالاب در اقلیم گرم مرطوب تا معتدل قرارگرفته است که در تابستان گرم و در زمستان معتدل بوده و تغییرات دمای سالیانه آن محدود است، بارندگی سالیانه متغیر و از ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌متر در نوسان است. درجه حرارت منطقه از ۶- تا ۳۲+ درجه سانتی‌گراد در نوسان می‌باشد. به دلیل اثرات گرمایی دریای خزر، یخبندان و ریزش برف در منطقه کم و نادر است.

تنوع زیستی پرندگان تالاب

پناهگاه حیات‌وحش میانکاله سراسر سال برای پرندگان مهم بوده و از کانون‌های مهم برای زادآوری، مهاجرت و زمستان گذرانی ۲۰۰ گونه از پرندگان آبزی و کنارآبزی است که اغلب آن‌ها از پرندگان مهاجر هستند که برای زمستان گذرانی به تالاب میانکاله می‌آیند. گونه های اصلی پرندگان تالاب عبارتند از: چنگر معمولی (*Fulica atra*)، فلامینگو (*Phoenicoperus Minor*)، اردک‌های غواص (*Aythya spp*)، عقاب دریایی دم سفید (Haliaeetus albicilla)، کشیم (*Podiceps cristatus*)، حواصی‌ها (*Nycticorax spp*)، اگرت‌ها (*Mesophoyx spp*)، کاکایی ارمنی (*Larus Armenicus*) و کاکایی خزری(*Larus cachinnans*).

روند زمانی رخداد ، تابلوهای بالینی و کالبدگشایی و آزمایش‌های تشخیص طبی انجام‌شده

در روز دوم بهمن‌ماه ۹۸، متعاقب مشاهده مرگ‌ومیر پرندگان وحشی مهاجر در تالاب میانکاله، اکیپ مشترک سازمان‌های دامپزشکی و حفاظت محیط‌زیست در قالب برنامه رصد و پایش غیرفعال هماهنگ، برای بررسی علت تلفات سریعاً به منطقه اعزام شدند. با توجه به اهمیت موضوع، بررسی رخداد مرگ‌ومیر بالای پرندگان وحشی تالاب میانکاله در قالب یک بررسی همه‌جانبه بر اساس برنامه اقدام و رهیافت کلاسیک و حرفه‌ای سازمان دامپزشکی کشور در مواجهه با مرگ‌ومیر غیرطبیعی در پرندگان وحشی (مهاجر و مقیم) انجام گرفت. برنامه پایش غیرفعال به مدت ۵۰ روز (از دوم بهمن تا ۲۲ اسفندماه ۱۳۹۸) که میزان تلفات کاهش یافت، ادامه داشت. عملیات پایش و نمونه‌گیری در دو منطقه ساحلی شهرستان‌های گلوگاه و بهشهر انجام و نتایج به‌صورت تفکیکی و تجمیعی اعلام شد.

در ابتدای ورود به منطقه پرندگان بیمار و تلفات ازنظر علائم بالینی و کالبدگشایی موردبررسی قرار گرفتند، سپس با توجه به اهمیت بررسی آزمایشگاهی علت رخداد، نسبت به اخذ نمونه‌های بافتی شامل نمونه‌های سوآب حلقی و نای، سوآب کلوآک، خون کامل و سرم خون از پرندگان زنده و بافت‌های مغز، نای، ریه، سنگدان و پیش معده، روده و محتویات، کبد، طحال، پانکراس و عضله سینه و همچنین نمونه آب اقدام و به آزمایشگاه‌های مرجع ارسال شد. درمجموع از ۱۹۸ قطعه پرنده نمونه‌گیری شد.

کلیه آزمون‌های انجام‌شده بر روی نمونه‌های جانوری بر اساس روش‌های استاندارد اجرایی (Standard Operating Procedure,SOP) سازمان جهانی بهداشت دام انجام شد (OIE,۲۰۱۹). نمونه‌های طیور برای ابتلا به بیماری‌های نیوکاسل، هپاتیت ویروسی اردک، انتریت ویروسی اردک، وبای پرندگان، پاستورلا مولتی‌سیدا بر اساس آزمون‌های تشخیص تفریقی بین گروه باکتری‌های گرم منفی و مثبت و هوازی و بی‌هوازی، آزمون حضور فلزات سنگین، آزمایش‌های فیزیکو شیمیایی آب شامل هدایت الکتریکی، سختی کل، نیتریت، مس، آزمون تشخیص آفت‌کش‌ها و سموم بر روی کلیه نمونه‌های اخذشده نیز بر اساس استانداردهای سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (Iranian National Standardization Organization, ۲۰۱۳a, ۲۰۱۳b, ۲۰۱۵) انجام شد، آزمون تشخیص ۲۶ نوع بیوتوکسین و آزمون تأییدی حضور کلستریدیوم بوتولینوم (Francisco et al., ۲۰۱۶) انجام گرفت.

روش آزمون تشخیص کلستریدیوم بوتولینوم *(Mouse Bioassay)*

از نمونه های اخذ شده عصاره گیری شده و مایع رویی یا عصاره‌ی به دست آمده با محلول تریپتون-پپتون-گلوکز- مخمر (TPGY) فیلتر شده و مایع رویی یا سوپرناتانت به دست آمده جدا شد. ۰٫۵ ml از نمونه

به ناحیه ICR (Imprinting control region) دو موش شش هفته ای تزریق شد و نشانه های بارز بوتولیسم (فلج ناحیه خلفی، تخریب نخاع کمری، تنفس سخت) و مرگ در آنها رصد شد. در صورتی که موشها تا ۵ روز زنده می-ماندند، به روش آسان کشته شده و پس از ختثی سازی سروتیپ‌های مختلف سم بوتولین، نمونه ها به دو موش دیگر تزریق شده و علائم بیماری دوباره رصد شدند(Francisco et al., ۲۰۱۶).

جدول ۱- برنامه پایش همه‌جانبه رخداد مرگ‌ومیر پرندگان وحشی آبزی تالاب میانکاله

ردیف	فعالیت
۱	جمع‌آوری اطلاعات میدانی
۲	تهیه تابلوی بالینی غالب پرندگان بیمار در محل رخداد
۳	تهیه تابلوی کالبدگشایی از پرندگان مریض و تازه تلف‌شده
۴	ارزیابی خواص فیزیکو شیمیایی آب و رسوب میانکاله
۵	ارزیابی اولیه تغییرات اکوسیستمی محل رخداد
۶	انجام اپیدمیولوژی توصیفی
۷	ارائه فرضیه‌های احتمالی بروز رخداد
۸	انجام آزمون‌های آزمایشگاهی
۹	تحلیل نتایج آزمایشگاهی دریافتی
۱۰	بررسی، اصلاح و ارزیابی فرضیات
۱۱	اعمال اقدامات کنترلی و پیشگیری
۱۲	اقدامات کوتاه‌مدت میان‌مدت و بلندمدت
۱۳	انتشار گزارش

رهیافت سازمان دامپزشکی کشور در مواجهه با مرگ‌ومیر غیرطبیعی در پرندگان وحشی (مهاجر و مقیم)

بر اساس دستورالعمل‌های سازمان جهانی بهداشت دام و سایر مجامع ذیصلاح بین‌المللی بهداشت حیوانات زمینزی و خاکزی سازمان دامپزشکی برنامه رصد و پایش غیرفعال، در قالب رصد و پایش هماهنگ با سازمان حفاظت از محیط‌زیست را در برنامه کاری قرارداد. طبق این دستورالعمل، با گزارش بروز تلفات غیرطبیعی در پرندگان وحش مهاجر و یا مقیم، گزارش رخداد توسط محیط‌بانان سازمان محیط‌زیست به اداره کل دامپزشکی استان مربوطه ارسال‌شده و به‌طور موازی به ستاد مرکزی سازمان دامپزشکی کشور و سازمان حفاظت از محیط‌زیست نیز گزارش داده شد (OIE,۲۰۱۹).

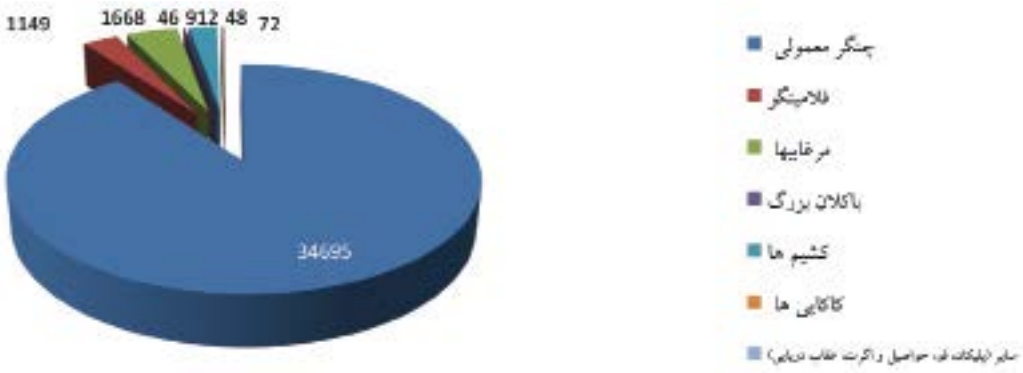
بررسی رخداد مرگ‌ومیر بالای پرندگان وحشی تالاب میانکاله با توجه به اهمیت موضوع، طبق پروتکل‌های استاندارد پایش غیرفعال و در قالب یک بررسی اپیدمیولوژیک و با یک توالی مطابق جدول ۱ صورت گرفت.

نتایج

آمار تلفات

دوم بهمن‌ماه ۹۸ گزارش تلفات در منطقه تالاب میانکاله استان مازندران مبنی بر مشاهده ۳۰ تا ۴۰ قطعه تلفات پرنده آزاد پرواز به اداره دامپزشکی شهرستان اعلام شد.

محدوده تحت تأثیر به طول حدوداً بیست کیلومتر بود، لاشه‌های زیادی از پرندگان تلف‌شده توسط جریانات آبی به حاشیه جنوبی خلیج آورده شده و همچنین بسیاری از پرندگان نظیر چنگر (*Fulica atra*)، اردک گیلار (*Mareca penelope*) و فلامینگوها (*Phoenicopterus. spp*) که در قسمت‌های کم‌عمق جنوبی خلیج تغذیه می‌نموده‌اند، در محل تلف‌شده و لاشه‌های تازه زیادی جمع‌آوری گردید. درمجموع تلفات پرندگان ۳۸۵۸۷



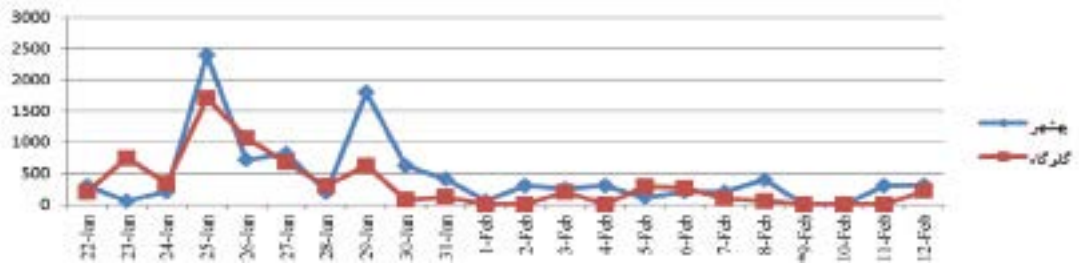
شکل ۱- نسبت درصد تلفات پرندگان در دوره پایش

قطعه تلفات شمارش شد. سرعت درگیری و زمان لازم برای تلف شدن سریع اتفاق افتاده به‌طوری‌که پرنده دقایقی قبل در حال تغذیه بوده و با معده پر تلف گردیده بود. داده‌های حاصل از جمع‌آوری لاشه‌ها دربرگیرنده طیف وسیعی از گونه‌های پرندگان، اما با فراوانی متفاوت بود. اوج تلفات در تاریخ‌های سوم تا پنجم بهمن‌ماه برای چنگر معمولی (*Fulica atra*) اتفاق افتاده است

بیش از ۹۵٪ از تلفات، متعلق به چهار گروه چنگرها، فلامینگوها، کشیم‌ها و مرغابی‌ها بود. در گروه مرغابی‌ها گونه‌هایی نظیر، اردک سر حنایی (*Aythya ferina*)، اردک سیاه کاکل (*Aythya fuligula*)، اردک اردهای (*Mareca strepera*)، اردک چشم طلایی (*Bucephala clangula*)، مرگوس

جدول ۲- نتایج و روش آزمون‌های آزمایشگاهی انجام‌شده بر روی ۱۹۸ نمونه بافتی اخذشده و آب تالاب میانکاله

نوع آزمون	روش/پروتکل آزمون	نتیجه
آنفلوانزا A آنفلوانزای فوق حاد پرندگان و سایر ویروس‌های تیپ	RT-PCR	منفی
نیوکاسل	RT-PCR	منفی
وبای پرندگان	Gram stain-FDA-BAM R۳۲	منفی
پاستورلا	Bio assay	منفی
انتریت ویروسی اردک	RT-PCR	منفی
هپاتیت ویروسی اردک	RT-PCR	منفی
تشخیص تفریقی بین گروه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت	Gram stain-FDA-BAM R۳۲	منفی
حضور جیوه در بافت‌ها و نمونه‌ها	ISIR۲۱۶۵۹	منفی
حضور سرب بافت‌ها و نمونه‌ها	ISIR۲۱۶۴۹	منفی
حضور آرسنیک بافت‌ها و نمونه‌ها	PRUSSIAN BLUE MODIFIED	منفی
حضور سیانید در آب	PRUSSIAN BLUE MODIFIED	منفی
آفت‌کش‌ها	Modified-ISIRI۱۷۰۲۶	منفی
سموم ارگانوفسفره	Modified-ISIRI۱۷۰۲۶	منفی
سموم ارگانو کلره	Modified-ISIRI۱۷۰۲۶	منفی
سم کلستریدیوم بوتولینوم	Mouse Protected test	مثبت



شکل ۲- تلفات پرندگان وحشی آبزی در دو حوزه بهشهر و گلوگاه ۲۲ روز اول دوره ی پایش، *در این دو روز به علت بارندگی نمونه‌گیری انجام نشد.

کاکلی (*Mergus serrator*)، فیلوش (Anas acuta)، اردک گیلار (*Mareca penelope*) و اردک سرسفید (*Oxyura leucocephala*) تلفات داشته‌اند. اردک نوک ملاقه‌ای (*Spatula clypeata*) و البته تعدادی تنجه (*Tadorna tadorna*) هم تلف‌شده‌اند. همچنین تلفات چند مورد غاز خاکستری (Anser anser) و یک مورد غاز پیشانی‌سفید (*Anser erythropus*) دیده‌شده است.

در گروه کاکایی‌ها و پرستوهای دریایی گونه‌های تلف‌شده شامل؛ کاکایی خزری (*Larus cachinnans*)، کاکایی ارمنی (*Larus armenicus*)، کاکایی سرسیاه (*Larus ridibundus*) و پرستوی دریایی معمولی (*Sterna hirundo*) بوده‌اند. همچنین دو مورد تلفات از دو گونه کنارآبزی، آبچلیک خالدار (*Tringa guttifer*) و سلیم کوچک (*Charadrius alexandrinus*) دیده‌شده است که نمی‌توان از مشترک بودن علل مرگ‌ومیر آن‌ها با سایر گونه‌های تلف‌شده در رخداد مذکور به‌طورقطع اظهارنظر کرد.

محدوده‌ی درگیر تلفات، به دلیل آب کم‌عمق خلیج حدود ۳۰ سانتی‌متر تا یک متر و در قسمت دارای تجمع تلفات، به‌طور متوسط، دارای نیم متر عمق بود که رشد جلبکی و منابع تغذیه‌ای چنگر معمولی و گاماروس به‌عنوان غذای اصلی فلامینگوها که با فیلتر کردن جلبک‌ها از آن‌ها تغذیه می‌نمایند. بر اساس پایش به‌عمل‌آمده هیچ‌گونه تلفاتی در بخش‌های عمیق‌تر خلیج دیده نشد.

تلفات پرندگان از اواسط اسفند علیرغم حضور پرندگانِ در منطقه فروکش کرده و به کمتر از ده قطعه در روز رسیده و عملاً از دهه سوم اسفند تلفات جدیدی دیده نشد. در این ایام به دلیل افزایش طول روز و روشنایی، افزایش دما، بالا رفتن سطح هورمون جنسی در پرندگان و وضعیت بی‌قراری مهاجرت، روند مهاجرت برگشت پرندگان هم آغاز گردید.

نتایج تابلوهای بالینی، کالبدگشایی و آزمون‌ها آزمایشگاهی

تعریف تابلوهای بالینی و کالبدگشایی: در پرندگان مبتلا علائم بالینی نظیر فلجی بال و فلجی پا و حرکات چرخشی در سر که نشان‌دهنده علائم عصبی است دیده شد. در مواردی پرندگان مبتلا اغلب در نگه‌داشتن سرخود مشکل داشتند. پرندگان مبتلا همچنین ناتوانی در پرواز و یا راه رفتن را نشان می‌دادند. پرندگان بیمار و تلف‌شده عمدتاً فاقد علائم کالبدگشایی بوده و صرفاً در تعداد بسیار محدودی از پرندگان کالبدگشایی شده، پرخونی روده و خونریزی پتشی در بخش‌هایی از دستگاه گوارش مشاهده شد.

نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی: با توجه به روند صعودی تلفات در بین پرندگان منطقه، برای علت تلفات، فرضیه‌های مختلفی مانند بیماری‌های فرامرزی، سایر بیماری‌های ویروسی و باکتریایی، مسمومیت‌های شیمیایی، فلزات سنگین و بیوتوکسین‌ها، مطرح بود، بر اساس این فرضیه‌ها، آزمایش‌های مربوطه بر روی کلیه بافت‌ها و نمونه‌های اخذشده انجام شد و نتایج در جدول ۲ آورده شده است. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی بر روی آب تالاب نیز انجام شد و نتایج در جدول ۳ نشان داده‌شده است.

طبق اطلاعات جدول ۲، تنها نتایج آزمون حضور بیوتوکسین ها در سرم و محتویات روده مثبت بود. با انجام آزمون‌های اختصاصی تائید گردید که بیوتوکسین عامل تلفات، بیوتوکسین ناشی از باکتری کلستریدیوم بوتولینوم بوده است.

بحث

نتایج این پایش همه‌جانبه نشان داد که علت اصلی بروز تلفات در تالاب میانکاله، مسمومیت با سم باکتری کلستریدیوم بوتولینوم بوده است. بررسی‌های میدانی نشان داد که در نواحی و روستاهای اطراف میانکاله در استان‌های مجاور تالاب تلفات غیرطبیعی در پرندگان وحش مقیم و مهاجر و طیور بومی و صنعتی گزارش نشده است. در قسمت خشکی میانکاله جمعیت فراوانی از پستانداران وجود داشت که هیچ رخداد بهداشتی در این گروه از حیوانات اکوسیستم نیز اتفاق نیفتاده است.

یافته‌های اپیدمیولوژیکی در تالاب میانکاله نشان می‌دهد که تلفات اخیر عمدتاً در پرندگان بالغ از دو گروه از مهاجر اتفاق افتاده است، پرندگان فیلتر کننده (*Filter feeder birds*) مانند فلامینگو و پرندگان آبزی غواص

جدول ۳ - نتایج آزمون‌های فیزیکو شیمیایی آب تالاب در زمان بروز رخداد

ردیف	آزمون	نتیجه
۱	هدایت الکتریکی	۲۶۹۷۰(میکرو موس)
۲	سختی کل	۴۴۸۰(ppm)
۳	PH	۶/۸
۴	نیتریت	۰/۹ (ppm)
۵	کلراید	۱۴۰۹۵(ppm)
۶	کادمیوم	۱۴۷/ ۵ (ppm)
۷	مس	۰/۵(ppm)

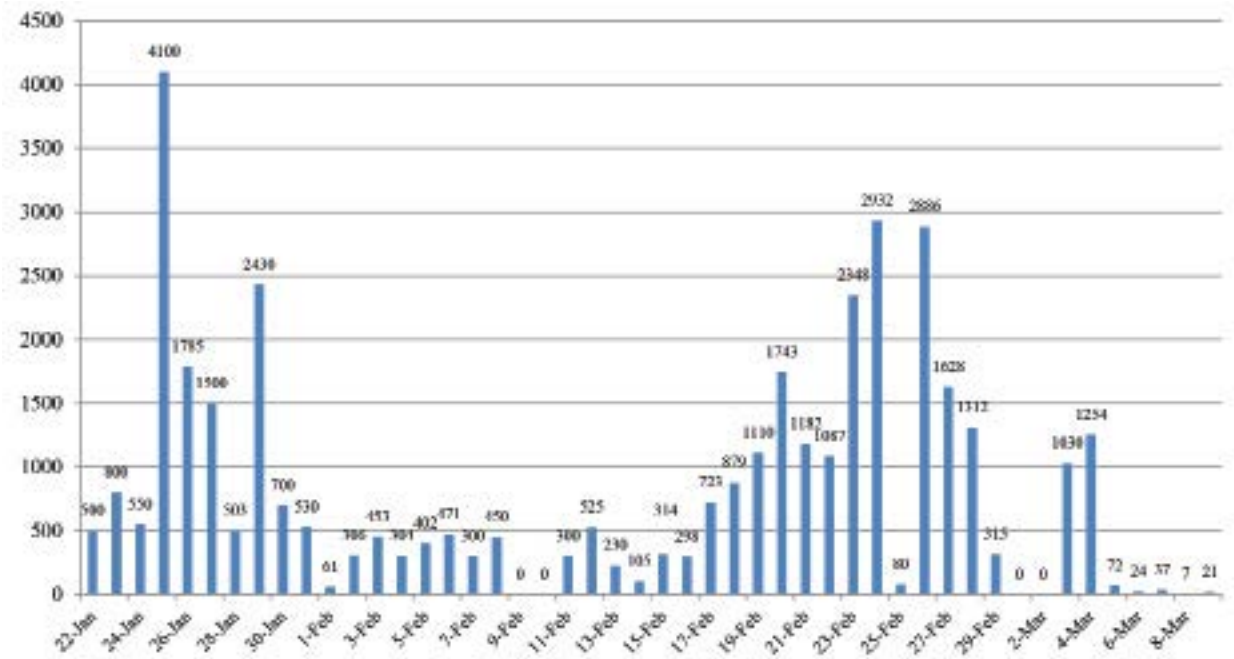
(*Dabbling waterfowls*) مانند اردک‌ها. نقش اساسی این دو گروه از پرندگان در اکوسیستم، تجزیه بیوتوکسین ها می‌باشد، یعنی همان نقش کبد را در انسان در تالاب به عهده‌دارند این دو گروه سموم بیوتوکسین را با فیلتر غذا جذب و با شکستن ساختار آن‌ها را بی‌اثر می‌کنند (Francisco et al, ۲۰۱۶).

در بوتولیسم، گونه‌هایی مثل چنگر که مستقیماً از پلانکتون و یا مواد گیاهی کنار آبی تغذیه می‌کنند، تلفات بالایی دارند (Espelund & Klaveness ۲۰۱۴) و همین اتفاق در میانکاله تکرار شده است. در بوتولیسم، پرندگان ماهی‌خوار نیز دچار تلفات می‌شوند (Espelund & Klaveness ۲۰۱۴)، ازجمله پرندگان ماهی‌خوار در تالاب میانکاله می‌توان به کشیم بزرگ، کاکایی ارمنی (*Larus armenicus*) و مرگوس کاکلی (*Mergus serrator*) اشاره کرد

بروزِ بوتولیسم در یک اکوسیستم آبی می‌تواند با تلفات سنگین و یا بعضاً تلفات پایین داشته باشد که وابسته به شرایط متفاوتی است. بررسی جزئیات ۱۳ رخداد بوتولیسم پرندگان در یک تالاب در اسپانیا، در یک بازه زمانی سی‌ساله، نشان می‌دهد تنها در سه رخداد تلفات بالایی دیده‌شده است و در سایر رخدادها میزان تلفات زیر ۱۰۰۰ قطعه گزارش‌شده‌اند (Vidal et al., ۲۰۱۳).

بر اساس مطالعات انجام‌شده اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم به‌طور طبیعی در بیشتر رسوبات تالاب‌ها وجود دارد که می‌توانند برای ده‌ها سال باقی بمانند و در بافت‌های بدن بیشتر موجودات زنده تالاب ازجمله پرندگان سالم یافت می‌شود (Rocke & Friend, ۱۹۹۹). مکانیسم‌هایی که باعث جوانه‌زنی اسپور و رشد باکتری‌ها می‌شوند و منجر به شیوع بوتولیسم می‌شوند، کمتر شناخته‌شده‌اند (Espelund & Klaveness ۲۰۱۴)، اگرچه چندین عامل محیطی مستعد ارائه‌شده است. شیوع بوتولیسم با افت سطح آب، درجه حرارت بالاتر سطح آب در تابستان، پوسیدگی مواد آلی، PH آب بین ۷٫۵ تا ۹٫۰، شوری آب زیر ۵ و میزان اکسیژن محلول پایین مرتبط بوده است (Perez-Fuentetaja et al., ۲۰۰۶؛ Rocke & Samuel ۱۹۹۹).

به نظر می‌رسد همه پرندگان، به‌جز کرکس‌ها (*Coragyps. spp*) مستعد ابتلا به نوروتوکسین بوتولیسم پرندگان هستند (Cohen et al., ۱۹۶۹)، اگرچه ممکن است تفاوت‌های خاص در حساسیت وجود داشته باشد (Bollinger et al., ۲۰۱۱)، اما این تفاوت با رژیم‌های غذایی و الگوهای تغذیه‌ای در مواجهه با سموم نقش دارد. این مطابق با یافته‌های Rocke (۲۰۰۶) است که اردک‌های شیرجه رو نسبت به اردک‌های غواص بیشتر مستعد ابتلا به بوتولیسم C / D هستند، میزان مرگ‌ومیر زیاد در میان چنگرها (*Fulica. spp*) در این تحقیق مشابه به یافته‌های Anza و همکاران است (۲۰۱۶) که با توجه منبع تغذیه چنگرها تصور می‌شود



شکل ۳- مجموع تلفات پرندگان وحشی آبزی در طی دوره ۵۰ روزه ی پایش

منبع سموم، بی‌مهرگان موجود در گیاهان و لاشه‌ها هستند، چنگرها نسبت به بوتولیسم نوع C / D بسیار آسیب‌پذیر هستند.
Van Heerden (۱۹۷۲) گزارش کرده است گونه‌های اردک (*Aythya spp*)، چنگر قرمز قلاب‌دار (*Fulica cristata*)، مرغ دریایی سرخاکستری (*Larus cirrocephalus*)، چوب‌پا (*Himantopus himantopus*) و فلامینگو مستعد ابتلا، در شیوع بوتولیسم در دریاچه‌های بیابانی آفریقای جنوبی بوده‌اند. میزان حساسیت پرندگان در گزارش‌های مختلف، متفاوت عنوان‌شده است. به‌عنوان‌مثال در گزارش توسط Blaker (۱۹۶۷) حساسیت از اردک نوک کفگیری (*Spatula smithii*) پایین ذکرشده است، اما در گزارش Brickell (۱۹۸۸) حساسیت خوتکای دماغه (*Anas capensis*) بالا تشخیص داده‌شده است.
تصور می‌شود انتقال سموم به محیط‌های آبی عمدتاً از طریق زئوپلانکتون‌ها یا سایر بی‌مهرگانی که سموم را جذب کرده‌اند صورت می‌گیرد (Rocke & Friend ۱۹۹۹). همچنین ماهی‌ها نیز ممکن است به‌عنوان حامل برای سموم بوتولینوم نوع E عمل کنند، زیرا ماهی‌های مبتلا توسط اردک‌ها مصرف می‌شوند یا لاشه‌های آن‌ها منبع پروتئینی برای رشد باکتری‌ها و درنتیجه تولید سموم است. سم از این طریق پرندگان را از طریق زنجیره مصرف تحت تأثیر قرار می‌دهد. بررسی وجود ماهی‌های مرده در زمان‌های شیوع بوتولیسم می‌تواند به بررسی همه‌گیری کمک نماید (Getchell & Bowser ۲۰۰۶).
چند مسیر بالقوه برای انتقال بوتولیسم پرندگان وجود دارد. چرخه فساد لاشه یک مسیر محتمل است. ماهی‌ها و پرندگان مرده که در سواحل تالاب‌های اقیانوس، دریاچه‌ها و تالاب‌ها به ساحل آورده می‌شوند، می‌توانند منبع رشد کلستریدیوم بوتولینوم شوند و پرندگان ساحلی ممکن است سم را در هنگام تغذیه از میازها و سوسک‌های موجود در لاشه‌های فاسد شده دریافت کنند. مصرف حداقل دو تا چهار میاز سمی می‌تواند پرنده را بکشد و چرخه آلودگی را مدت بیشتری ماندگار کند (Mereb et al.,۱۹۹۹).
مرغابی‌ها و سایر پرندگان به‌عنوان ماده معدنی از میازها تغذیه می‌کنند که مطابق با مشاهدات معمول، پرندگانی که اخیراً مرده‌اند بسیار نزدیک به لاشه‌های قدیمی‌تر و پر از میاز بوده‌اند. گونه‌های دیگر نیز ممکن است نقش مهمی در انتقال بوتولیسم پرندگان داشته باشند. یک فرضیه در مورد نقش صدف‌ها در ایجاد زنجیره آلودگی در حال بررسی است (Getchell and Bowser, ۲۰۰۶).
فرضیه دیگر نقش جلبک‌ها در ایجاد چرخه است. رشد فزاینده جلبک‌هایی خاص نیز به شیوع بوتولیسم پرندگان کمک می‌کند زیرا پوسیدگی بستر بزرگی از جلبک‌های در لجن مانده در مناطق نزدیک ساحل ممکن است به حفره‌هایی با اکسیژن کم و محیط رشدی سرشار از مواد مغذی منجر شود. این‌یک محیط ایده آل برای وضعیت رویشی کلستریدیوم بوتولینوم و تولید سموم حاصل می‌باشد (Russell et al., ۲۰۱۹).

نتیجه‌گیری

تالاب میانکاله در چند سال اخیر همواره با مشکلات اکولوژیک با منشأ انسانی یا طبیعی فراوانی مواجه بوده است. ازاین‌رو، لازم است به‌منظور حفاظت از خدمات اکوسیستمی خلیج گرگان و تالاب میانکاله، مدیریت بهینه منابع و سیاست‌های مناسب محیط زیستی اتخاذ گردد. تدوین راهکارهای کارآمد و سازگار با وضعیت فرهنگی، اقتصادی و اجتماعی منطقه و شرایط زیستی و حفاظتی منطقه و اجرای دقیق آن توسط سازمان‌های مربوطه، در کاهش آثار منفی تعارضات بین انسان و محیط‌زیست و دستیابی به اهداف مدیریتی بسیار مؤثر می‌باشد.
بر اساس بررسی‌های انجام‌شده علت اصلی مرگ‌ومیر پرندگان مهاجر تالاب میانکاله، مسمومیت با سم بوتولین بوده است. قسمت قابل‌توجهی از اکوسیستم میانکاله در جنوب آن دچار تغییر شده است و نتایج آزمایشگاهی تأیید می‌کنند که خواص فیزیکوشیمایی رسوبات و آب این قسمت، مؤید شرایط مساعد و مطلوب بروز بوتولیسم و سایر بیوتوکسین‌ها می‌باشد و ممکن است، در صورت عدم مدیریت، در سال‌های آتی تکرار شده و به همراه سایر عوامل ازجمله عوامل عفونی، باعث تشدید مرگ‌ومیر پرندگان شوند. بر همین اساس به نظر می‌رسد باید موارد ذیل در آینده مدنظر قرار گیرد تا شاهد مشکلات مشابه در این تالاب بین‌المللی نباشیم.
- آموزش عمومی و آگاهی از شرایطی که منجر به بوتولیسم پرندگان می‌شود و به دنبال آن اقدامات سریع اصلاحی توسط سازمانهای محیط زیست و دامپزشکی، توان کاهش همه‌گیری پرندگان را در هرسال بشدت کاهش دهد. آموزش شکارچیان از وجود شیوع بیماری درسایت های معین و آموزش آن‌ها در مورد بوتولیسم توصیه می‌شود.
- اطلاع‌رسانی سریع به دامپزشکی و محیط‌زیست در صورت مشاهده پرندگان بیمار و مرده درمناطقی که بوتولیسم پرندگان دیده‌شده است.
- ارائه یک طرح ملی جهت زهکشی یا غرقاب مناطق تالاب برای تغییر شرایط محیطی برای توقف تولید سم توسط کلستریدیوم بوتولینوم.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از سازمان دامپزشکی کشور، سازمان حفاظت محیط‌زیست، انستیتو پاستور و همه دستگاه‌های اجرایی و مسئولین محترم ملی و استانی که در این روند و نتیجه رساندن رخداد همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

1. A. Perez-Fuentetaja, M. D.ClaPsad, D. Einhouse, P.R. Bowser, R. G. Getchell and W.T. Lee. 2006. Influence of limnological conditions on Clostridium botulinum type E presence in eastern Lake Erie sediments (Great Lakes, USA). *Hydrobiologia* 563(1): 189–200. https://doi.org/10.1007/s10750-005-0011-1
2. Anza, I., D. Vidal, J. Feliu, , E. Crespo and R. Mateoa. 2016. Differences in the vulnerability of waterbird species to botulism outbreaks in Mediterranean wetlands: An assessment of ecological and physiological factors. *Applied and Environmental Microbiology* 48(10): 3092–3099. https://doi.org/10.1128/AEM16-00119
3. Anza, I., H. Skarin, D. Vidal, , A. Lindberg, , V. Båverud and R. Mateo. 2014. The same clade of Clostridium botulinum strains is causing avian botulism in southern and northern Europe. *Anaerobe*

26: 20–23. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.01.002
4. Bagherzadeh Karimi, M. 2014. Wetland Management. Peik-Andishe- Amozgar ltd. Iran 214pp.
5. Blaker, D. 1967. An outbreak of botulinus poisoning among waterbirds. *Ostrich* 38(2):144–147. https://doi.org/10.1080/00306525.1967.11783617
6. Bollinger, T.K., D.D. Evelsizer, K.W. Dufour, , C. Soos, R.G. Clark and G. Wobeser. 2011. Ecology and management of avian botulism on the Canadian Prairies. Prairie Habitat. *Joint Venture Science Committee.* https://www.phjv.ca/wp-content/uploads/2017/10/BotulismReport_FINAL_FullReport_Aug2011.pdf
7. Brickell, N. 1988. Ducks, geese and swans of Africa and its outlying islands, Frandsen Publishers, Fourways.
8. Cohen, G.M., A.L. Pates, D.M. Easton and M.G. Peterson. 1969. Vulture and rooster resistance to botulinus toxin. *American Zoologist* 9: 584. (abstract)
9. Cromie, R.L., R. Lee, R.J. Delahay, J.L.Newth, M.F. O'Brien and H.A. Fairlamb. 2012. Ramsar wetland disease manual: Guidelines for assessment, monitoring and management of animal disease in wetlands, Ramsar Technical Report No. 7, Ramsar Convention Secretariat, Gland.
10. Espelund, M. and D.Klaveness. 2014. Botulism outbreaks in natural environments – an update. *Frontiers in Microbiology* 5: 1–7. https://doi.org/10.3389/fmicb. 2014.00287
11. Getchell, R.G. and P.R. Bowser. 2006. Ecology of type E botulism within dreissenid mussel beds. *Aquatic Invaders* 17(2): 1–8.
12. Grubb, W.B. 1964. Avian botulism in Western Australia. *The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 42(1): 17–26. https://doi.org/10.1038/icb.1964.2
13. Iranian National Standardization Organization. 2013a. Determination of mercury and inorganic mercury compounds- Method by cold-vapour atomic absorption spectrometry or atomic fluorescence spectrometry. *ISIRI* Code No:21659. ICS: 13.040.30
14. Iranian National Standardization Organization. 2013b. Foods of Plant origin— Determination of Pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE— QuEChERS-method. ISIRI Code No:17026. ICS: ICS:67.050
15. Iranian National Standardization Organization. 2016. Collection of settled dust samples using wipe sampling methods for subsequent lead determination-Guidelin. *ISIRI* Code No:21649. ICS: 3.020.99.
16. Jaafari, S., Y. Sakieh, S. Dejkam, S. Alavianpetrudi, M. Yaghubzadeh, A. Danehkar. 2013. Developing of management strategies for conservation of Miankalehwetland by using SWOT analysis. *Wetland Ecobiology*. 5 (2) :5-18. URL: http://jweb.iauahvaz.ac.ir/article-1-53-fa.html
17. Martinovich, D., M..E. Carter, D. A. Woodhouse and I. P.McCausland. 1972. An outbreak of botulism in wild waterfowl in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 20(5): 61–65. https://doi.org/10.1080/00480169.1972.34012
18. Mereb G., F. Rosetti, E. Castelli, R. Ganuza, L. Ottavioni, D. Cavallero, A.Calderon. 1999. Description of a botulism type C outbreak among waterbirds in the province of La pamp, Argentina. *Anaerobe*. 5: 191-193.
19. OIE (World organization for animal health). 2012. Standard Operating Procedures for Official recognition of disease status and for the endorsement of official control programmes of Member Countries for FMD. https://www.oie.int/scientific-expertise/collaborating-centres/sops/
20. Ramollo, P., 2016. Jewel of the Northern Cape is fading due to pollution. *The Water Wheel:* 36–38.
21. Rocke, T. E. & M. D. Samuel. 1999. Water and sediment characteristics associated with avian botulism outbreaks in wetlands', *Journal of Wildlife Management* 63(4), 1249–1260. https://doi.org/10.2307/3802842
22. Rocke, T. E. and M. Friend. 1999. Avian botulism. in M. Friend & J.D. Franson (eds.), Field manual of wildlife disease: General Procedures and diseases of birds. pp. 271–281. USGS National Wildlife Health Center. Washington, DC.
23. Rocke, T. E. and T. K. Bollinger. 2007. Avian botulism. in N.J. Thomas, D.B. Hunter & C.T. Atkinson (eds.), Infectious diseases of wild birds. pp. 377–416. Blackwell Publishing. Ames. IA.
24. Rocke, T.E., 2006, 'The global importance of avian botulism', in G.C. Boere, C.A. Galbraith & D.A. Stroud (eds.), Waterbirds around the world, pp. 422–426, The Stationery Office, Edinburgh.
25. Russell, I., R. Randall, D. Zimmerman and D. Govender. 2019. Outbreak of avian botulism and its effect on waterbirds in the Wilderness Lakes, South Africa. Koedoe. 61. https://doi.org/10.4102/koedoe.v61i1.1553
26. Smith, G.R. 1976. Botulism in waterfowl. *Wildfowl* 27, 129-138.
27. Uzal, F. A., J. Glenn Songer, J. F. Prescott and M. R. Popoff. 2016. Clostridial Diseases of Animals, John Wiley & Sons.
28. Van Heerden, J. 1972. Botulisme breek uit in Welkom. Bokmakierie 24(3): 60–61.
29. Vidal, D., I. Anza, M. A. Taggart, E. Pérez-Ramírez, E. Crespo, U. Hofle and R. Mateo. 2013. Environmental Factors Influencing the prevalence of a Clostridium botulinum Type C/D Mosaic Strain in Nonpermanent Mediterranean Wetlands. *Appl Environ Microbi-*

ology 79(14): 4264–4271. httPs://doi.org/10.1128/AEM.01191-13
30. Włodarczyk, R., P. Minias, E. Kukier, T.Grenda, , K. Śmietanka, and T. Janiszewski. 2014.The first case of a major avian type C botulism outbreak in Poland. *Avian Diseases* 58(3): 488–490. https://doi.org/10.1637/10669-091913-Case.1
31. Wobeser, G.A. 1997. Diseases of wild waterfowl, Plenum Press, New York.
32. Woudstra, C., H. Skarin, , F. Anniballi, , L. Fenicia, , L.Bano and I. Drigo. 2012.Neurotoxin gene profiling of Clostridium botulinum types C and D native to different countries within Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 78(9): 3120–3127. https://doi.org/10.1128/AEM.07568-11