تاثیر بار باکتریایی ویبریو در استخر بر عملکرد میگوی سفید غربی (*litopeneaus vennamie*)

اشکان اژدری*[1]، محمد خلیل پذیر[1]، سمیرا مبارکی[1]، احترام محمدی[1]و محمد علی نظاری[1]
پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.

a_arzhan@yahoo.com

چکیده:

بیماری ویبریوزیس مهم‌ترین معضل بهداشتی در میان بیماری‌های میگوی پرورشی و عوامل عفونی باکتریایی در میگوهای پنائیده[1] می‌باشد بر اساس منابع ارتباط معنی داری بین بار باکتری ویبریو در آب استخر بر عملکرد میگو(درصد بقائ و رشد) و همینطور وقوع بیماری لکه سفید وجود دارد لذا تعداد مجاز باکتری ویبریو در هر ml آب استخر پرورش میگو در زمان ذخیره سازی حداکثر 10^2 CFU/ml توصیه شده است. مرور منابع مختلف نشان داده است بیشتر از این میزان خطرناک بوده و در بروز بیماری لکه سفید موثر بوده است. بررسیهای باکتریهای میگوهای پرورشی کشورحاکی از آن است که مهمترین بیماری باکتری میگو در کشور ایران را ویبریوزیس تشکیل می‌دهد و این بیماری به شدت درکشور در حال رشد است و بایستی اقدامات کنترل و پیشگیری بر علیه این بیماری درکشور صورت پذیرد. با توجه به اهمیت موضوع و پتانسیل بالقوه پژوهشکده میگوی کشور با انجام این بررسی ما می توانیم ارتباط بین بار باکتریایی ویبریو و تعیین نسبت کلونی سبز به زرد بر عملکرد تولید میگو و بروز بیماری لکه سفید در صورت وقوع بیماری را تعیین کنیم. همچنین با تعیین تاثیر لود باکتری ویبریو را بر ایمنی میگو از طریق سنجش هموسیت کل(THC)و پروتئین کل پلاسما(TPP) به عنوان یک کار ترویجی و مکمل مدیریت مزرعه می توانیم موارد بحرانی را پیش بینی نموده و مراتب پیشگیری از بروز عوامل ثانویه انجام گیرد.

کلمات کلیدی: پرورش، بیماری، ویبریوزیس، لکه سفید و ایمنی میگو

مقدمه:

گزارش‌های متعددی از وقوع بیماری باکتریایی ویبریوزیس و بیماری ویروسی لکه سفید در طی سال‌های اخیر وجود دارد و تحقیقات متعددی درخصوص‌جداسازی و شناسایی ویبریوها از میگوهای پرورشی انجام گرفته است. در ایران مطالعاتی برروی جدا سازی و شناسایی باکتریهای جنس ویبریو از میگوهای پرورشی و دریایی درکشور انجام شده است و گونه‌های ویبریو پاراهمولتیکوس، ویبریو هارویی، ویبریوآلجینولتیکوس، ویبریوآنگوئیلاروم را به صورت غالب در میگوها گزارش کرده‌اند (افشارنسب، 1393 ; مجیدی نسب،1377). در حال حاضر شناسایی ویروس در میگو های پرورشی در مزارع پرورشی طی برنامه پایش که سازمان دامپزشکی دارد در سایت های پرورش میگو انجام می گیرد و گزارش مثبت بودن ویروس لکه سفید از سوی دامپزشکی به مزرعه دار اعلام می گردد که معمولا همزمان است با وقوع تلفات اما فرضیه نگارنده بر این است که تلفات در نتیجه عواملی دیگر بوده که این تلفات خود یک استرس ایجاد کرده و بیماریزایی ویروس را باعث می شود زیرا گزارش های فراوانی از سایر کشورها وجود دارد که مزارع با لود پایین ویروس و کنترل بهینه شرایط و رعایت ایمنی زیستی توانسته اند پرورش را به سرانجام برساند. همچنین به نظر می رسد ویروس در طی ماههای گرم سال که درجه حرارت بالای 32 درجه است بیماریزا نمی شود در صورتیکه این رنج دمایی مناسب تکثیر باکتریهای جنس ویبریو بخصوص *ویبریو هاروی* و *ویبریو آلجینولیتیکوس* دو باکتری بیماریزا در پرورش می باشد. همچنین به نظر نگارنده آلودگی های باکتریایی به خصوص ویبریو ها باعث ضعف ایمنی میگو شده که این ضعف ایمنی در مزارعی که به ماه های با درجه حرارت کمتر از 32 درجه سانتیگراد یعنی آبان ماه می رسند مزید بر علت شده که ویروس باعث تلفات شود. معمولا از 30 روزگی در کناره های استخر ها تلفات چند دانه ای مشاهده می شود که در ادامه پرورش این عامل تلفات تجمعی شده و تلفات ناگهانی را باعث می شود و حتی گاها پرورش بدون خطر انجام می شود بدون اینکه مزرعه دار شناختی علمی از آن وضعیت داشته باشد. مرگ و میر تدریجی و حتی مرگ و میر پنهان در زمان های پوست اندازی به دلیل آلودگی ویبریو و ضعیف بودن میگو، کاهش بازماندگی و در نتیجه کاهش تولید و افزایش ضریب تبدیل غذایی را در پی دارد که خسارت اقتصادی پرورش دهنده را باعث می شود و می توان گفت بدتر از تلفات ناگهانی می باشد زیرا در تلفات ناگهانی تکلیف مشخص است اما شرایط تلفات تدریجی (مرگ و میر پنهان) مانند کوه

---

[1]- *Penaeidae shirimp*

یخ است(Sung et al., 2001). بیشتر می توان گفت در حال حاضر تولید در این شرایط بر اساس آزمایش و خطا پیش می رود. بنابراین پایش وضعیت استخر از نظر میزان بار باکتریایی ویبریو، سطح ایمنی میگو ها به منظور پیشگیری از بروز بیماری ضروری است. در حال حاضر در کشورهایی که بیماری EMS بروز داشته است در استخر های با لود ویبریو بیشتر از میزان مشخصی ذخیره سازی انجام نمی دهند و همین طور پست لارو نیز قبل از ذخیره سازی باید کمتر از میزان مشخصی باکتری ویبریو داشته باشد. زیرا بروز EMS در چنینی استخرهایی محرز بوده است.

باکتری ویبریو در محیط اختصاصی (TCBS) دو نوع کلونی تشکیل می دهد بعضی زرد و بعضی سبز دیده می شوند . در طول دوره پرورش نسبت کلونی های سبز و زرد به همدیگر نیز مهم است. مشاهده شده است که وقتی بار باکتریایی ویبریو بالا باشد در حالیکه 50درصد آن را کلونی های سبز تشکیل دهد خطر ابتلا به بیماری لکه سفید در مناطق آلوده بسیار بالا می رود در حالیکه اگر غالبیت با کلونی های زرد باشد وقوع لکه سفید حتی مهار می شود. همچنین در منابع اشاره شده است که که باکتری *ویبریو هاروی* با لود 10^6 تا 10^8 CFU/ml فاکتورهای ایمنی میگو مانند THC & TPC را کاهش داده است(Tendenica and Verreth, 2011)

گزارش‌های متعددی از وقوع بیماری باکتریایی ویبریو و بیماری ویروسی لکه سفید در مجتمع های پرورش میگوی کشور طی سال‌های اخیر وجود دارد که حتی وجود بیماری ویبریو در محیط پرورش را می‌توان کمک به تشدید بیماری ویروسی لکه سفید قلمداد کرد (افشار نسب،1393).

جدول 1. دامنه مناسب فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب و بار باکتریایی آب استخر برای ذخیره سازی میگوی سفید غربی(Zhang et al., 2012)

پارامتر	قلیائیت	pH(a.m.)	آمونیاک	اکسیژن محلول در آب(ساعات 6 صبح)	دیاتومه	تعداد باکتری CFU/ml		
						TCBS	TSA	lumi
دامنه	بیشتر از 80 میلی گرم در لیتر	7-8	آمونیاک کمتر از 10/. میلیگرم درلیتر	>4ml/L	≥1500 سلول در سی سی	$\leq 10^2$	$\leq 10^3$	صفر

مواد و روش کار:

نمونه گیری از میگوها برای کشت باکتریایی از همولنف و آبشش انجام خواهد شد. در مرحله پست لاروی از هموژن پست لارو کشت انجام می گیرد. برای نمونه گیری از آب ، از هر استخر حداقل از سه نقطه هر نقطه یک لیتر آب برداشته و پس از مخلوط کردن نمونه ها ، 100 میلی لیتر آب با استفاده از ظروف نمونه گیری استریل در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل خواهد شد. از نمونه مورد نظر 100 میکرولیتر در پلت محیط کشت TSA و 100 میلی لیتر هم در محیط کشت TCBS به روش معمول و استاندارد کشت باکتریایی انجام خواهد شد. بعد از 24 ساعت گرم خانه گذاری تعداد کلونی ها در هر پلت شمرده شده و بار باکتریایی کل محاسبه خواهد شد..

برای ارزیابی ایمنی نمونه همولنف گرفته و بر اساس شمارش تفریقی تعداد هموسیت ها ، پروتئین کل و فعالیت لایزویم و پروفنل اکسیداز سطح ایمنی ارزیابی خواهد شد.

نتیجه گیری:

با انجام این بررسی ما می توانیم ارتباط بین بار باکتریایی ویبریو و تعیین نسبت کلونی سبز به زرد بر عملکرد و بروز بیماری لکه سفید اگر احیانا اتفاق افتاد را تعیین کنیم. همچنین می توانیم تعیین تاثیر لود باکتری ویبریو را بر ایمنی میگو را بسنجیم از طریق سنجش

هموسیت کل(THC) و پروتئین کل پلاسما(TPP) بنابراین به عنوان یک کار ترویجی و مکمل مدیریت مزرعه برای مدیر مزرعه می توانیم موارد بحرانی را به ایشان اعلام نماییم که مراتب پیشگیری از بروز عوامل ثانویه انجام گیرد.

منابع:

1. افشارنسب،م .(1393).پاتوژن های باکتریایی غالب مراکز تکثیر و پرورش میگوی کشور، پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، مجله علمی پژوهشی شیلات ایران. سال یازدهم، شماره2

2. تمجیدی،ب؛ اسماعیلی، ف؛ مزرعاوی، م، جهانشاهی، ع، ا و کر، ن م.(1377)؛ بررسی بیماری های باکتریایی پوسته و ویبریوزیس در میگوهای پرورشی منطقه آبادان. موسسه تحقیقات شیلات ایران.57 ص.

3. Sung, H.-H., Hsu, S.-F., Chen, C.-K., Ting, Y.-Y., & Chao, W.-L. (2001). Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of Vibrio communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Aquaculture, 192*(2), 101-110

4. Tendencia EA, Verreth JAJ. 2011. Temperature fluctuations, low salinity and water microflora are risk factors for WSSV outbreaks in pond culture of Penaeus monodon. In Abstracts of World Aquaculture Society Meeting. Busan, Korea: 2011

5. Zhang, B., Liu, F., Bian, H., Liu, J., Pan, L., & Huang, J. (2012). Isolation, identification, and pathogenicity analysis of a *Vibrio parahaemolyticus* strain from *Litopenaeus vannamei*. *Progress in Fishery Sciences*, 33(2), 56-62.