



بیماری مزمن سندروم نرمی پوسته در میگوهای سفید غربی پرورشی استان بوشهر

محمد خلیل پذیر^۱، اشکان اژدهاکش پور^۱، حسین احمدی^۲، محمدعلی نظاری^۱، احترام محمدی^۱

dr.pazir@gmail.com

1- پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.

2- اداره کل دامپزشکی استان بوشهر

چکیده:

هدف از انجام این مطالعه شناسایی عوامل ایجاد کننده بیماری نرمی پوسته در میگوهای پرورشی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بود. در این مطالعه نمونه‌گیری از میگوهای پرورشی استان بوشهر با میانگین وزنی 17-14 گرم در روزهای 120-140 پرورش انجام شد. بررسی لام مرطوب تهیه شده از میگوهای مبتلا به سندروم نرمی پوسته حاکی از وجود فولینگ و تجمع فراوان انگل‌های تک یاخته زوتامینیوم بر روی اسکلت خارجی و رشته‌های آبششی بود. همچنین در کشت باکتریایی تهیه شده از میگوهای مبتلا باکتری جنس ویبریو پاراهمولیتیکوس (*Vibrio sp.*) جداسازی شد. یافته‌های بدست آمده از کشت قارچی حاکی از رشد قارچ جنس آسپرژیلوس (*Aspergillus sp.*) بود. با توجه به مشاهدات صورت گرفته شاید بتوان عنوان نمود که از مهمترین دلایل ایجاد بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته در استخرهای پرورشی میگوی افزایش تراکم ذخیره‌سازی میگوها در استخر به بیش از 35 قطعه در هر متر مربع، عدم تهیه به موقع غذا، عدم تغذیه به موقع میگوها، استفاده از غذای بی کیفیت و افزایش مواد دفعی در کف استخر باشد که شرایط را برای رشد عوامل بیماری‌زای فوق مهیا ساخته می‌سازد. از این رو به دلیل ضعیف شدن میگوها مبتلا به این بیماری و افزایش حساسیت آنها به عوامل بیماری‌زا همراه با افزایش خودخوری، کاهش معنی‌داری در بازماندگی میگوهای پرورشی به میزان 60-55 درصد مشاهده شد.

کلمات کلیدی: سندروم نرمی پوسته، میگوی سفید غربی، انگل تک یاخته، ویبریو، آسپرژیلوس

1-مقدمه:

بیماری مزمن سندروم نرمی پوسته یک بیماری غیر عفونی در استخرهای پرورش میگوی سفید غربی بوده که هر ساله موجب زیان اقتصادی فراوانی را به بخش آبی‌پروری وارد می‌نماید. در این بیماری پوسته میگوهای مبتلا به این بیماری برخلاف میگوهای غیر مبتلا که پوست اندازه‌های طبیعی دارند در عرض 1 تا 2 روز بعد از پوست اندازی سخت می‌شود، این در حالی است که در این بیماری پوسته برای مدت چندین هفته نرم باقی خواهد ماند. به همین خاطر، میگوهای مبتلا به دلیل نرم شدن پوسته همواره مستعد خودخوری بوده و علاوه بر ضعیف شدن آنها نسبت به میگوهای غیر مبتلا از مرگ و میر بالایی برخوردار هستند. همچنین این میگوها در زمان برداشت از ارزش اقتصادی کمتری نسبت به میگوهای با پوسته سخت برخوردار هستند که این امر باعث خواهد شد که میگوها برداشت شده جزء میگوهای درجه 2 یا 3 خریداری شوند.

عوامل متعددی در بروز این بیماری دخیل هستند. با این وجود بیماری بیشتر در استخرهایی مشاهده می‌شود که کیفیت آب و خاک کف استخر نامناسب بوده و دارای pH بالایی می‌باشند (Batticodas et al., 1986). همچنین Cook و Rabanal (1978) عنوان نمودند که وجود فسفر کم در آب استخر، کم بودن مواد آلی خاک، تراکم بالای ذخیره سازی، عدم تغذیه طولانی مدت میگوها، استفاده از غذای بی کیفیت شامل غذاهای کم کالری و یا غذاهای فاقد مواد افزودنی و ذخیره سازی نامناسب خوراک در انبارها در بروز این بیماری دخیل هستند (Jayabalan et al., 2016)، در مطالعه دیگر عنوان شده که برخی از آفت کش‌ها همانند Aquatin بد دلیل اختلال در سنتز کیتین که یکی از اجزای اصلی بکار رفته در اسکلت خارجی میگوها است مانع از سفت شدن پوسته میگوها



می‌شوند (Dale, 1982). از دیگر عوامل مؤثر در بروز بیماری سندروم نرمی پوسته می‌توان به وجود آلاینده‌هایی از قبیل کادمیوم و سرب که می‌تواند منجر به ناهنجاری‌های موفولوژیک در میگوها شود اشاره نمود، مکانیسم اثر این آلاینده‌ها علاوه بر تأخیر در سخت شدن پوسته میگوها با آسیب به بافت آبشش منجر به اختلال در تنفس و در نهایت مرگ و میر میگوها خواهد شد. همچنین سموم مترشحه از دینوفلاژلاها، جلبک‌های سبز آبی و دیاتومه‌ها نیز علاوه بر ایجاد سندروم نرمی پوسته، به دلیل سموم مترشحه می‌تواند موجب مرگ و میر در میگوها گردند. از دیگر عوامل دخیل در بروز بیماری سندروم نرمی پوسته وجود باکتری‌های تجزیه کننده کیتین همانند ویبریو، سودوموناس و آئروموناس است این باکتری‌های با ترشح آنزیم کیناز مانع از سخت شدن پوسته میگوها می‌شوند. با توجه به مطالب فوق هدف از انجام این مطالعه تعیین عوامل ایجاد کننده بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته در میگوهای سفید غربی پرورشی بود.

2- مواد و روش:

در این مطالعه بمنظور شناسایی عوامل ایجاد کننده بیماری سندروم نرمی پوسته نمونه‌گیری از استخرهای 1/2 هکتاری پرورش میگوی سفید غربی مزارع استان بوشهر با میانگین وزنی 14-17 گرم در روزهای 120-140 پرورش انجام شد. بمنظور نمونه‌گیری از استخرهای پرورش میگوها بر اساس میزان نرمی پوسته خارجی درجه بندی انجام شد (Batticodas *et al.*, 1986):

G1: میگوهای ضعیفی که دارای پوسته بسیار نرم، شل، اغلب چروکیده و با ضایعات تاول مانند؛ بدن نرم، اغلب همراه با زوتامینیوم و سایر ایبیکمنسال‌ها بر روی پوسته و آبشش بودند.

G2: میگوها ضعیفی که دارای پوسته کاغذی، شل و تیره؛ بدن کمی نرم همراه با ضایعات تاول.

G3: میگو فعالی که پوسته آنها به میزان کمی کاغذی تا سخت؛ گاهی اوقات همراه با تاول و بدنی سفت بودند.

G4: میگو فعالی که پوسته آنها بسیار سخت و صاف همراه با باندهای تیره و روشن متمایز و بدنی سفت بودند.

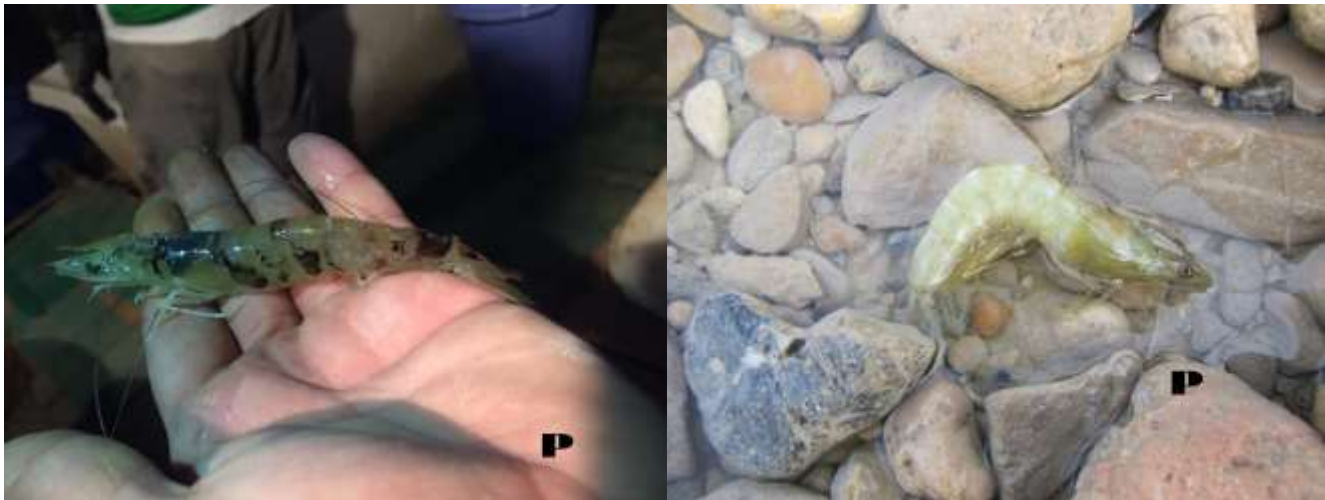
نمونه‌ها بعد از جمع آوری جهت انجام آزمایشات باکتریایی بصورت زنده همراه با آب استخر کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. بمنظور کشت باکتریایی و قارچی به ترتیب از محیط‌های کشت TSA (Trypticase soy agar)، TCBS (Thiosulfate-citrate-)، SDA (Sabouraud dextrose agar) استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که پس از استریل نمودن سطح بدن میگوی مبتلا با جداسازی پوسته نرم و لاملاهای آبششی در زیر هود میکروبی بعد از هموژنیزه نمودن آنها میزان 100 میکرولیتر از محلول هموژنیزه شده بر روی محیط کشت TSA و TCBS کشت داده شد. سپس به مدت 48 ساعت در درجه حرارت 30 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. همچنین کشت قارچی نمونه‌های اخذ شده بدین صورت بود که بعد از استریل نمودن لاملاهای آبششی و سطح بدن در زیر هود میکروبی قطعاتی از بافت آبشش و اسکلت خارجی بصورت نقطه‌ای بر روی محیط کشت قرار داده شدند، شایان ذکر است که نمونه‌های کشت داده شده در درجه حرارت اتاق (22-25 درجه سانتی‌گراد) به مدت یک هفته جهت رشد نگهداری شدند (افشارنسب، 1386). همزمان نیز بعد از جداسازی رشته‌های آبششی و اسکلت خارجی توسط اسکالپل استریل و شستشوی آنها با محلول نمکی 0/85 درصد، پس از رنگ آمیزی با رنگ لوگول جهت مشاهده انگل‌های تک یاخته با بزرگنمایی‌های مختلف توسط میکروسکوپ نوری (CETI; Triton II) مورد بررسی قرار گرفتند (Dewangan *et al.*, 2015).

3- نتایج و بحث:

یکی از اولین شاخص‌های بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته، کاهش ناگهانی مصرف خوراک بود به گونه‌ای که در زمان بلند کردن سینی غذایی میگوهای با روده خالی و فاقد رشته‌های مدفوعی مشاهده شد. مشاهدات بالینی حاکی از آن بود که اسکلت خارجی میگوهای مبتلا برخلاف میگوهای سالم که دارای یک پوسته صاف و سخت بودند، بصورت نازک، چروکیده و تیره بود. همچنین از زمان نرم شدن پوسته میگوهای مبتلا به بیماری سندروم نرمی پوسته 3 تا 5 روز گذشته بود و میگوهای مبتلا به شدت ضعیف و بی حال شده بودند و هیچگونه تغذیه‌ای توسط میگوها صورت نمی‌گرفت. از سوی دیگر بر روی سطح اسکلت خارجی میگوها مبتلا ضایعات تاول ماندنی مشاهده می‌شد که این ضایعات می‌توانست منشاء مکانیکی یا میکروبی داشته باشند (شکل 1). با این وجود نتایج حاصل از کشت باکتریایی نمونه‌های کشت داده شده حاکی از رشد باکتری‌های تجزیه کننده کیتین از قبیل ویبریو (*Vibrio sp.*) بود. در این رابطه عنوان شده که باکتری‌های تجزیه کننده کیتین همانند آئروموناس، سودوموناس و ویبریو جزء فلور میکروبی اسکلت



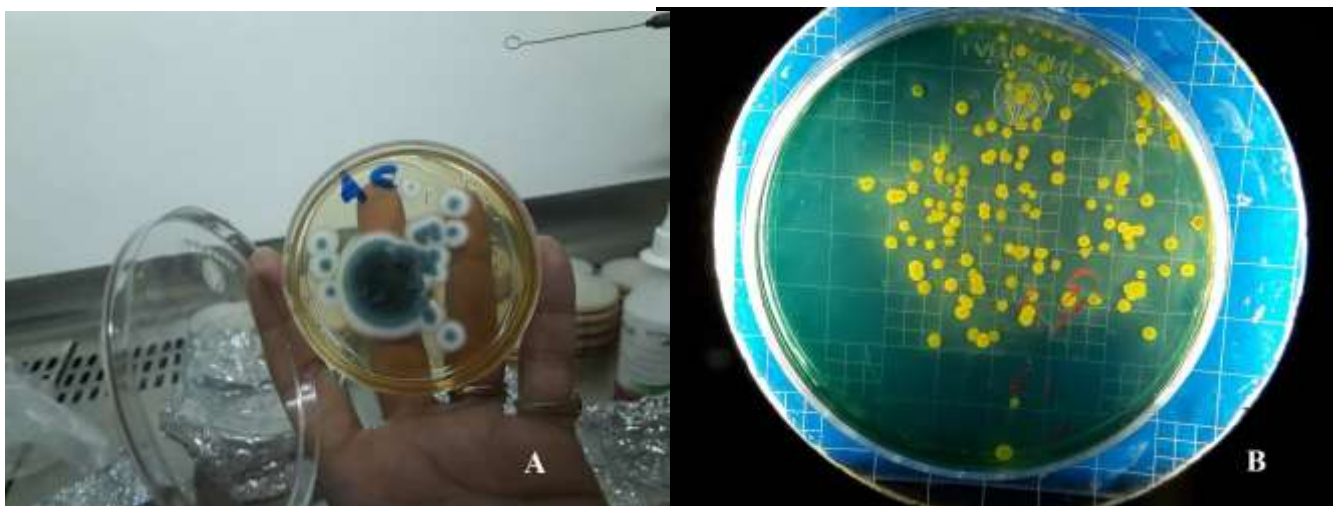
خارجی و بافت‌های زیرین پوسته بوده که معمولاً پس از بروز بیماری سندروم نرمی پوسته بصورت عفونت‌های ثانویه بروز می‌کنند (Delves-Broughton and Poupard, 1976).



شکل 1: میگوی سفید غربی مبتلا به نرمی پوسته و وجود ضایعات تاول مانند سیاه رنگ بر روی اسکلت خارجی

در این مطالعه رشد کلنی‌های قارچ بر روی محیط کشت SDA حاکی از رشد میسیلیوم‌های حاوی کونیدی‌های قارچ آسپرژیلوس

بود. (*Aspergillus* sp)



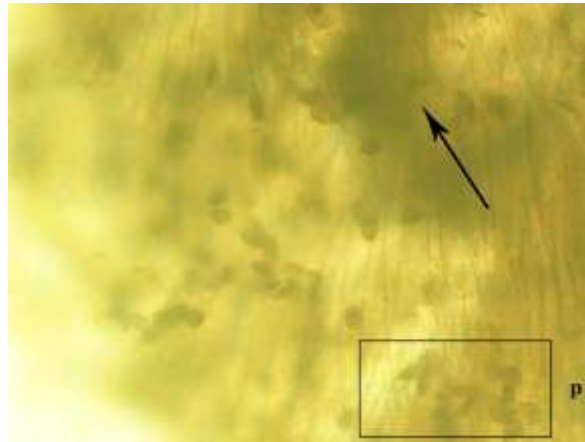
شکل 2: رشد کلنی‌های قارچ بر روی محیط کشت SDA همراه با میسیلیوم‌های حاوی کونیدی قارچ آسپرژیلوس (A)، باکتری ویبریو با

کلنی‌های سبز و زرد جدا سازی شده از میگوهای مبتلا به نرمی پوسته بر روی محیط کشت TCBS (B)

همچنین بررسی لام‌های مرطوب حاکی از مشاهده اپی‌کمنسال‌هایی همچون زوتامینیوم بر روی پوسته و آبشش میگوهای مبتلا به نرمی پوسته بود. عنوان شده که افزایش این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر اختلال در فرآیند تنفس میگوها، موجب ضعف شدن و مستعد شدن میگوها به خودخوری و افزایش مرگ و میر آنها می‌شود (Overstreet, 1973). با توجه به اینکه انگل‌های تک یاخته زوتامینیوم به صورت سطحی بر روی بدن متصل هستند قادر نیستند که به کوتیکول میزبان نفوذ کنند (Couch, 1978). از این رو آسیب‌های مکانیکی و درگیری خفیف ناشی از این انگل‌ها ممکن است موجب پوست اندازی در میگوها شود (Lightner, 1977). در این رابطه مشاهده شد که در طول دوره پرورش به دلیل تجمع مواد غذایی خورده نشده، مواد دفعی و بقایای فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها در کف استخرهای مورد مطالعه علاوه بر کاهش کیفیت آب و خاک کف استخر میزان ذرات فولینگ به شدت افزایش یافته بود که در این حالت به دلیل چسبیدن این ذرات بر روی پوسته و آبشش میگوها اتصال اپی‌کمنسال‌ها و تک یاخته‌هایی همانند زوتامینیوم را تسهیل نموده بود از سوی دیگر به دلیل عدم وجود خروجی مرکزی در این استخرها و عدم خروج ضایعات موجود در استخر میزان آمونیاک کل افزایش یافته بود. از این رو افزایش آمونیاک غیر یونیره علاوه بر تعویق در سخت شدن پوسته میگوها از طریق حلالیت در چربی به دلیل غیرقطبی بودن به راحتی در سرتاسر غشاء آبشش منتشر شده که این حالت با آسیب‌های آبششی و در نهایت با مرگ میگوها همراه است (Randall et al, 1982). با توجه به اینکه غلظت آمونیاک کل، با افزایش میزان pH و درجه حرارت در ارتباط است



(Emerson *et al*, 1975) در این مطالعه مشاهده شد که pH و درجه حرارت استخرهای مورد مطالعه به ترتیب 8/7-8/4 و 34-36 درجه سانتی گراد بود.



شکل 3: چسبیدن بقایای ریز جلبک‌ها بر روی رشته‌های آبششی (کادر مربع مشکی رنگ) همراه با تجمع تک یاخته‌های اپیستیلیس در نمای لام مرطوب رنگ آمیزی شده با رنگ لوگول (بزرگنمایی $\times 4$). نکرور رشته‌های آبششی (نوک پیکان) در نمای لام مرطوب رنگ آمیزی شده با رنگ لوگول (بزرگنمایی $\times 10$).

با این وجود عدم دسترسی به مواد غذایی طبیعی در کف استخر همانند میکرو و ماکرو بنتوزها می‌تواند با سندروم مزمن نرمی پوسته همراه باشد (Jayabalan *et al.*, 2016). لذا نتایج حاصل بررسی استخرهای پرورش میگو حاکی از آن بود که میزان این مواد در استخرهایی که میگوهای آنها مبتلا به نرمی پوسته شده بودند به شدت کاهش یافته بود. از این رو می‌تواند نتیجه گیری کرد که دسترسی به مواد غذایی با کیفیت به طور مستقیم بر کیفیت پوسته تاثیر می‌گذارد. در مطالعه دیگر عنوان شد که بلوم جلبک سینوکوسیستیس سالینا (*Synechosystis salina*) همراه با جلبک‌های تازک دار تتراسالمیس و کلرولا (*Chlorella*, *Tetraselmis*) معمولاً با پدیده سندروم مزمن نرمی پوسته همراه هستند. گفتنی است که میزان جلبک‌های فوق در استخرهای مورد مطالعه به شدت افزایش یافته بود. از آنجا که کلسیم و فسفر موجود در هپاتوپانکراس به عنوان منبع ذخیره‌ای این عناصر در بدن میگوها به حساب می‌آیند (Batticodas *et al*, 1986). افزایش غلظت این دو عنصر در اسکلت خارجی میگوهای که دارای پوسته سخت هستند بیشتر از میگوهای است که به بیماری پوسته نرم مبتلا شده‌اند. این در حالی است که میزان این عناصر در هپاتوپانکراس میگوهای که دارای پوسته نرم هستند نسبت به میگوهای که دارای پوسته سخت هستند به شدت افزایش می‌یابد، لذا در این میگوها از حرکت این عناصر معدنی از هپاتوپانکراس به سمت اسکلت خارجی جلوگیری به عمل می‌آید. گفتنی است که استفاده از کربنات کلسیم (CaCO_3) به عنوان ترکیب غیرآلی معدنی همراه با مقادیر کمتر نمک‌های منیزیم و فسفات می‌تواند موجب مینرال شدن اسکلت خارجی میگوها شود. در مطالعه مشابه عنوان شد که استفاده از صدف‌های دو کفه‌ای فریز شده به میزان 14 درصد در جیره غذایی میگوها همراه با افزایش غذای‌های طبیعی در استخر بویژه بنتوزها و افزایش کیفیت آب و خروج ضایعات جمع شده در کف استخر می‌تواند موجب بهبودی بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته در میگوها شود (Jayabalan *et al.*, 2016). با توجه به مطالب فوق می‌توان اینگونه عنوان نمود که از مهمترین دلایل ایجاد بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته در استخرهای پرورشی میگوی سفید غربی استان بوشهر افزایش تراکم ذخیره‌سازی میگوها در استخر بود به گونه‌ای که در برخی موارد این میزان ذخیره سازی برای استخرهای 1/2 هکتاری که سال‌ها از عمر مفید آنها می‌گذرد بیش از 35 قطعه در متر مربع بود. همچنین در سال زراعی جاری به دلیل مشکلات مربوط به تهیه غذا در مزرعه و عدم تغذیه به موقع آنها و استفاده از غذای بی‌کیفیت بروز بیماری سندروم نرمی پوسته در استخرهای پرورشی به شدت افزایش یافته بود. از سوی دیگر به دلیل عدم وجود خروجی مرکزی در استخرهای پرورشی و تجمع ضایعات ناشی از مواد غذایی خورده نشده بقایای فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها در کف استخر همراه با افزایش آمونیاک و فولینگ شرایط را جهت بروز بیماری سندروم مزمن نرمی پوسته به شدت مستعد ساخته بود. از این رو به دلیل ضعیف شدن میگوها مبتلا به این بیماری و افزایش خودخوری نتایج بدست آمده حاکی از کاهش بازماندگی میگوهای پرورش داده شده به میزان 55-60 درصد و افزایش میگوهای درجه 2 و 3 در زمان برداشت بود.

1- افشارنسب، م. 1386. روش‌های تشخیص بیماری‌های میگو. وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات شیلات ایران. 175 صفحه.

2- Baticados, M.C.L., Coloso, R.M. and Duremdez, R.C., 1986. Studies on the chronic soft-shell syndrome in the tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, from brackishwater ponds. *Aquaculture*, 56(3-4), pp.271-285.

3- Cook, H.L. and Rabanal, H.R., 1978. Manual on pond culture of penaeid shrimp. *ASEAN National Coordinating Agency of the Philippines and FAO/UNDP, Manila. South China Sea Fisheries Development and Coordinating Programme, Manila.*

4- Cooke, A.S. and Pollard, E., 1973. Shell and operculum formation by immature Roman snails *Helix pomatia* L. when treated with pp'-DDT. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 3(3), pp.230-236.

5- Dale, D., 1982. Chitin synthesis inhibitors safe and novel insecticides. In *Poster presented during the international conference and world food supplies, CHEMRAWN* (Vol. 11).

6- Delves-Broughton, J.A. and Poupard, C.W., 1976. Disease problems of prawns in recirculation systems in the UK. *Aquaculture*, 7(3), pp.201-217.

7- Dewangan, N.K., Gopalakrishnan, A., Kannan, D., Shettu, N. and Singh, R.R., 2015. Black gill disease of Pacific white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by *Aspergillus flavus*. *Journal of Coastal Life Medicine* 3, 761-765.

8- Emerson, K., Russo, R.C., Lund, R.E. and Thurston, R.V., 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 32(12), pp.2379-2383.

9- Jayabalan, N., Seema, B., Renukaprasad, G.L. and Ravi, K., 2016. Studies on induced soft-shell syndrome in *Penaeus indicus* and *P. monodon*. *Environment and Ecology*, 34(3A), pp.1197-1200.

10- Lightner, D.V., 1977. Brown spot (shell) disease of shrimps. In: C.J. Sindermann (Editor), *Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*, Elsevier Scientific Publishing Company, New York, pp. 27-30.

11- Overstreet, R.M., 1973. Parasites of some penaeid shrimps with emphasis on reared hosts. *Aquaculture*, 2, pp.105-140.

12- Randall, D.J., Perry, S.F. and Heming, T.A., 1982. Gas transfer and acid/base regulation in salmonids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 73(1), pp.93-103.

Chronic soft-shell syndrome in *Litopenaeus vannamei* from Bushehr province

Mohammad Khalil Pazir¹, Ashkan Ajdari¹, Hossin Ahmadi², Mohammad Ali Nazari¹, Ehteram

Mohammadi¹,

dr.pazir@gmail.com

1- Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bushehr, Iran.

2- Veterinary Office of Bushehr Province

Abstract:

The aim of this study was to identify the causes of chronic soft shell syndrome in *Litopenaeus vannamei* shrimp farms. In this study, sampling was carried out at 120-140 day culture from shrimp with an average weight of 14-17 g. The survey of wet mouth of infected shrimp indicating increased fouling and zootaminium protozoa parasite on the external skeleton and gill. Also, bacterial culture of the gills of the affected shrimp showed the isolation of *Vibrio* sp. On the other hand, the findings from fungal culture indicated the growth of *Aspergillus* sp. It can be said that the most important reasons for the development of chronic soft shell syndrome of shrimp is high density of shrimp in the pool to more than 35 pieces m², failure to feed shrimp, use of low-quality food and increased exhaust at the pond which provides the conditions for the growth of the above pathogenic agents. Therefore, due to Weakness of infected shrimp and increase susceptibility to pathogens along with cannibalism, there was a significant reduction in survival of shrimp rearing by 60-55%.

Key words: chronic soft shell syndrome, *Litopenaeus vannamei*, zootaminium, *Vibrio*, *Aspergillus*