

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی

عنوان:

بررسی وضعیت بهداشتی در مزارع اصلی
پرورش ماهی قرمز (*Carassius auratus*)
در استان گیلان

مجری مسئول:

محدث قاسمی

شماره ثبت

۶۰۱۹۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی

عنوان طرح/پروژه: بررسی وضعیت بهداشتی در مزارع اصلی پرورش ماهی قرمز (*Carassius auratus*) در استان گیلان

کد مصوب: ۰۱۴-۷۳-۱۲-۰۳۲-۹۷۰۲۳

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: محدث قاسمی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد): محدث قاسمی

نام و نام خانوادگی مجری: محدث قاسمی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): -

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): محمدرضا مهرایی

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۷/۳/۱

مدت اجرا: ۱ سال و ۱ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۰

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: بررسی وضعیت بهداشتی در مزارع اصلی پرورش

ماهی قرمز (*Carassius auratus*) در استان گیلان

کد مصوب: ۰۱۴-۷۳-۱۲-۰۳۲-۹۷۰۲۳

شماره ثبت (فروست): ۶۰۱۹۲ تاریخ: ۱۴۰۰/۶/۱۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای محدث قاسمی دارای مدرک

تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بهداشت و بیماری‌های آبزیان

می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۰/۶/۷ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در پژوهشکده آبی‌پروری آبهای

داخلی مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده.....		۱
۱-مقدمه.....		۳
۱-۱- ماهی قرمز (<i>Carassius auratus</i>).....		۴
۱-۱-۱- ویژگی‌های پیکرشناختی ماهی قرمز.....		۴
۱-۱-۲- پرورش ماهی قرمز در استان گیلان.....		۴
۲-۱- بیماری‌های انگلی.....		۷
۳-۱- بیماری‌های باکتریایی.....		۹
۴-۱- بیماری‌های ویروسی.....		۱۲
۱-۴-۱- ویرمی بهاره کپور.....		۱۲
۱-۴-۱- پایداری ویروس.....		۱۳
۱-۴-۲- گونه‌های ماهیان میزبان و چرخه تکثیر ویروس در میزبان.....		۱۴
۱-۴-۳- الگوی بیماری و چرخه عفونی.....		۱۵
۱-۴-۴- توزیع جغرافیایی بیماری.....		۱۵
۱-۴-۵- عفونت طبیعی SVCV در ماهیان حساس.....		۱۵
۱-۴-۶- علائم بیماری.....		۱۶
۱-۴-۷- پایش و پیشگیری SVC.....		۱۷
۱-۴-۸- تکثیر SVCV در شرایط آزمایشگاهی.....		۱۸
۱-۴-۹- روش‌های تشخیص SVCV.....		۱۹
۲-۴-۱- بیماری هرپس ویروسی ماهی کوی (Koi herpes viral disease).....		۲۲
۱-۲-۴-۱- عامل بیماری.....		۲۲
۲-۲-۴-۱- گونه‌های حساس.....		۲۲
۳-۲-۴-۱- گونه‌هایی که حساسیت آنها به طور کامل اثبات نشده است.....		۲۳
۴-۲-۴-۱- حساسیت سنین مختلف میزبان به بیماری.....		۲۳
۵-۲-۴-۱- گونه‌هایی که احتمال شناسایی بیماری در آنها وجود دارد.....		۲۳
۶-۲-۴-۱- اندام‌های هدف.....		۲۳
۷-۲-۴-۱- عفونت پایدار با حاملین دائمی.....		۲۳

۲۴ ۸-۲-۴-۱ مخازن بیماری
۲۴ ۹-۲-۴-۱ سایر حاملین احتمالی
۲۴ ۱۰-۲-۴-۱ پایداری عامل بیماری
۲۵ ۱۱-۲-۴-۱ چرخه زندگی
۲۶ ۲-مواد و روش کار
۲۶ ۱-۲-نمونه برداری و بررسی علائم بالینی ماهیان
۲۹ ۲-۲-بررسی انگل های ماهیان
۳۰ ۳-۲-باکتری شناسی
۳۰ ۱-۳-۲ شناسایی باکتریهای ماهی
۳۰ ۲-۳-۲ شناسایی باکتریهای آب
۳۱ ۳-۳-۲ آزمایش تعیین حساسیت و مقاومت به آنتی بیوتیک ها
۳۱ ۳-۲-بررسی ویروس شناسی ماهیان
۳۱ ۱-۳-۲-مواد مصرفی
۳۱ ۱-۱-۳-۲-کشت سلول
۳۱ ۲-۱-۳-۲-آزمایش آنتی بادی درخشان به روش غیرمستقیم (IFAT)
۳۲ ۳-۱-۳-۲-آزمایش واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR و RT-PCR)
۳۲ ۲-۳-۲-لوازم غیرمصرفی
۳۲ ۱-۲-۳-۲-نمونه برداری
۳۲ ۲-۲-۳-۲-کشت سلول
۳۲ ۳-۲-۳-۲-آزمایش آنتی بادی درخشان به روش غیرمستقیم
۳۲ ۴-۲-۳-۲-آزمایش واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR)
۳۳ ۳-۳-۲-روش کار ویروس شناسی
۳۳ ۱-۳-۳-۲-کشت سلول
۳۴ ۲-۳-۳-۲-جداسازی ویروس (Virus Isolation)
۳۵ ۴-۳-۲-آزمایش آنتی بادی درخشان غیر مستقیم (IFAT) بر روی کشت سلولی
۳۶ ۵-۳-۲-آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمرز PCR
۳۶ ۱-۵-۳-۲-استخراج RNA
۳۷ ۲-۵-۳-۲-استخراج DNA

- ۳۹-۲-۳-۵-۳-انتخاب پرایمر.....
- ۳۹-۲-۳-۵-۴-واکنش زنجیره‌ای پلیمرز معکوس (RT-PCR).....
- ۴۰-۲-۳-۵-۵-واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با استفاده از پرایمر اختصاصی KHV.....
- ۴۱-۲-۳-۵-۶-الکتروفورز محصول PCR و عسکبرداری از ژل آگاروز.....
- ۴۲-۲-۴-آنالیز آماری.....
- ۴۳-۳-نتایج.....
- ۴۳-۳-۱-مشاهدات بالینی.....
- ۴۷-۳-۲-انگل های مشاهده شده در ماهیان قرمز پرورشی استان گیلان.....
- ۴۷-۳-۲-۱-مژه داران.....
- ۴۹-۳-۲-۲-شاخه کرم های پهن.....
- ۵۲-۳-۲-۳-شاخه بندپایان (Phylum Arthropod).....
- ۵۲-۳-۲-۳-۱-رده سخت پوستان (Class Crustacea).....
- ۵۲-۳-۲-۴-جلبک ها (Euglenophyceae).....
- ۵۴-۳-۳-آلودگیهای باکتریایی آب استخرهای ماهی قرمز استان گیلان.....
- ۵۴-۳-۳-۱-باکتریهای کل.....
- ۵۵-۳-۳-۲-بررسی باکتری های کلی فرمی.....
- ۵۵-۳-۳-۱-۲-۳-۱-باکتری های کلی فرم مدفوعی آب.....
- ۵۶-۳-۴-آلودگیهای باکتریایی ماهیان قرمز استان گیلان.....
- ۵۶-۳-۴-۱-باکتری های کل ماهی قرمز.....
- ۵۶-۳-۴-۱-۱-باکتری های جنس های مختلف در ماهی قرمز.....
- ۵۸-۳-۵-نتایج آلودگیهای باکتریایی ماهی قرمز در استخرهای مختلف استان گیلان برحسب فصول مختلف.....
- ۶۱-۳-۶-نتایج بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتریهای گرام مثبت و گرام منفی جداسازی شده از ماهیان قرمز استان گیلان.....
- ۶۱-۳-۷-شرایط عمومی آب استخرها.....
- ۶۱-۳-۷-۱-رنگ آب.....
- ۶۲-۳-۷-۲-کدورت آب.....
- ۶۲-۳-۷-۳-منابع آبی.....
- ۶۲-۳-۷-۴-محدوده دمای آب، اکسیژن و pH.....

۶۲	۳-۸- کشت سلولی
۶۶	۳-۹- آزمایش آنتی بادی درخشان به روش غیر مستقیم
۷۰	۳-۱۰- RT-PCR و PCR
۷۲	۴- بحث
۸۰	پیشنهادها
۸۲	منابع
۹۰	چکیده انگلیسی

چکیده

توسعه آبی پروری بدون توجه به اصول امنیت زیستی و مدیریت بهداشتی مزارع و انتقال ماهیان بین مزارع کشور می تواند به گسترش بیماری ها منجر گردد. بویژه ماهیان زینتی و قرمز که در حجم و تعداد اندک قابلیت جابجایی را دارند این مساله را تشدید می کنند. بر اساس آمار، استان گیلان، رتبه اول تولید ماهی قرمز و رتبه دوم پرورش ماهیان زینتی را در کشور به خود اختصاص داده است (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۷ و معاونت آبی پروری شیلات گیلان، ۱۳۹۸) اما گزارش های متعددی از تلفات ماهیان قرمز در دست است و تعدادی از پرورش دهندگان از طریق اداره کل شیلات استان گیلان، متقاضی بررسی وضعیت بهداشتی مزارع خود شده اند. در این پژوهش عوامل انگلی، باکتریایی و ویروسی در ۴ مزرعه بزرگ پرورش ماهی قرمز در استان گیلان که برای همکاری داوطلب شدند مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری بصورت فصلی و انتخابی انجام شد و ماهیان بطور زنده به آزمایشگاه منتقل شدند. عوامل باکتریایی به روش افتراقی و بیوشیمیایی جداسازی و شناسایی شدند و بیماری های ویروسی ویرمی بهاره کپور (SVC) و بیماری هرپس ویروسی ماهی کوی (KHV) که بیماری های مسری لازم الاخطار هستند (OIE, 2019) به روش کشت سلولی، PCR، RT-PCR و آنتی بادی درخشان غیر مستقیم بررسی شدند. به منظور بررسی های ویروس شناسی، نمونه برداری از اندامهای داخلی شامل کلیه و طحال انجام شد و هوموژن بافت های هدف پس از گذراندن از فیلتر ۰/۴۵ میکرون بر روی تیره سلولی EPC تلقیح گردید تا در صورت مشاهده اثرات آسیب سلولی مراحل تایید تشخیص ویرمی بهاره کپور به کمک روشهای آنتی بادی درخشان، RT-PCR انجام شود و تشخیص هرپس ویروس ماهی کوی به روش PCR بافتهای هدف انجام شد. رنگ آب در استخرهای مختلف تفاوت داشته و از کاملاً شفاف تا سبز زیتونی متفاوت بود که نشان از اختلاف مدیریت کلی پرورش از جمله مدیریت کیفیت آب می باشد. حداقل عمق قابل مشاهده با صفحه سکشی یا سکچی یا سشی دیسک (Secchi disk) در مزارع مورد مطالعه ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر بود. استخرهایی که از چاه نیمه عمیق یا عمیق به عنوان منبع آبی استفاده می کردند در مقایسه با آنها که از آب کانال و رودخانه بهره مند بودند تلفات بسیار کمتری داشتند. از ماهیان مورد مطالعه ۱۲ گونه انگل مختلف شناسایی شد. از گروه مژه داران چهار گونه *Chilodonella*، *Ichthyophthirius multifiliis*، *Trichodina* sp. و *Apiosoma* sp.؛ از دیژن ها یک گونه *Diplostomum spathaceum*؛ از سخت پوستان انگل *Lernaea* و از مونوژن ها پنج گونه داکتیلوژیروس *D. anchoratus*، *D. vastator*، *D. intermedius*، *D. formosus*، *D. baueri* و یک گونه ژیروداکتیلوس *G. kobayashi* از این ماهیان شناسایی شد. آلودگی به مونوژن ها در اغلب کارگاههایی که تلفات داشتند بطور معنی داری بیشتر از سایر کارگاهها بود ($p < 0/05$). همچنین شدت آلودگی به *G. kobayashi*، تریکودینا و نیز تراکم جلبک های اوگنوفیسه در دستگاه گوارش ماهیان مزارع واجد تلفات بیشتر بود. آزمایشات باکتری شناسی نشان داد جدایه های جداسازی شده از ماهی قرمز و آب استخر در فصول مختلف سال شامل *Enterobacteriaceae*، *Pseudomonas* sp.، *Aeromonas* sp.، *Sterptococcus* sp.، *Vibrio* sp.

Micobacterium بودند. بیشترین و کمترین درصد فراوانی باکتری در ماهی، بترتیب متعلق به جنس سودوموناس (۳/۷٪) و استریتوکوکوس (۴/۳۳٪) بود.

نتایج آزمایشات کشت سلولی، آنتی بادی درخشان غیر مستقیم و PCR و RT-PCR حاکی از عدم وجود رابدو ویروس کارپو و هرپس ویروس کوی در نمونه‌های مورد آزمایش بود. به این ترتیب که در PCR دستی باند bp ۴۷۰ مربوط به SVCV و باند bp ۲۹۲ مربوط به KHV در هیچیک از نمونه‌ها تایید نشد. با توجه به نتایج تحقیق به نظر می‌رسد که عوامل غیر ویروسی مانند مدیریت آب و تغذیه و بروز بیماری‌های باکتریایی و شیوع برخی انگلها به عنوان علت اولیه تلفات دوره ای و شبانه ماهیان قرمز در برخی مزارع مورد آزمایش است و با مدیریت بهداشتی مزارع قابل کنترل و پیشگیری می‌باشد.

کلمات کلیدی: ویرمی بهاره کپور، هرپس ویروس کوی، ماهی قرمز، وضعیت بهداشتی