بررسی عوامل بیماری زای عفونی در کارگاه های تکثیر و پرورش ماهی تیلاپیای نیل سیاه *Oreochromis niloticus* و قرمز .*Oreochromis* sp در بافق یزد

فرهاد رجبی پور[۱*]، نسرین مشائی[۱]، محمد جعفری[۱]، سید جلیل ذریه زهرا[۲]، محدث قاسمی[۳]

[۱]مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

[۲]موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

[۳]پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی ، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

چکیده

بیماری های آبزیان پرورشی و خسارات ناشی از آن صنعت آبزی پروری را در نقاط مختلف جهان تحت تأثیر قرارداده است. تیلاپیا در مراحل نخست معرفی به صنعت آبزی پروری کشور بوده و درعین مقاوم بودن، گزارش هایی از ابتلاء آن به بیماری های عفونی وجود دارد و لازم است برنامه ریزی اصولی پیشگیری و کنترل آن مورد توجه قرار گیرد. بررسی بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور ولقع در حومه بافق یزد در سال های ۹۲-۱۳۹۱ صورت گرفت. با مشاهده علائم غیرطبیعی ظاهری، حرکتی، تغذیه ای و تلفات غیرمعمول، بررسی های انگلی، باکتریایی، قارچی و ویروسی تخم ها، بچه ماهیان، ماهیان پرواری و مولدین انجام شد ونمونه هایی از آلودگی به عوامل انگلی .*Gyrodactylus* sp و .*Dactylogyrus* sp، باکتری های .*Streoptococcus* sp و .*Edwardsiella* sp ، و قارچ های .*Penicillium* sp و .*Aspergillus* sp مشخص گردید. آلودگی نمونه ها به ویروس های Herpesvirus، EHNV و BIV منفی بود. گرچه عوامل پاتوژن و موارد بیماری در ماهیان تیلاپیای نیل سیاه *Oreochromis niloticus* و هیبرید قرمز .*Oreochromis* sp مورد بررسی به صورت معدود و موردی مشاهده شدند، اما پایش و اعمال دستورالعمل بهداشتی بویژه در زمینه پیشگیری از بروز بیماری ها بسیار اهمیت دارد.

کلمات کلیدی: تیلاپیا، عفونت، باکتری، قارچ، انگل، ویروس.

* نویسنده مسئول: Farhadrajabipour @yahoo.com

مقدمه

ماهیان تیلاپیا پس از کپور ماهیان دومین ماهیان پرورشی جهان بوده و در بسیاری از کشورها تولید می شوند. مهمترین ویژگی‌های آبزی پروری تیلاپیا رشد سریع، مقاومت دربرابر شرایط زیست محیطی و بیماری ها، تولیدمثل سریع و نیاز محدود غذایی است (El-Sayed, 2006). بیماری های انگلی، باکتریایی و قارچی از تیلاپیاها گزارش شده است. کیفیت آب و دما عوامل طبیعی موثر بر ابتلاء به انگل ها هستند(Tang *et al*., 1998). نتایج یک بررسی پنج ساله در مناطق آسیا، اقیانوسیه، آفریقا، آمریکایی لاتین نشان داده است که چهار باکتری *Streptococcus agalactiae*، *S. iniae*، *Flavobacterium columnare*، عوامل شبه ریکتزیا (Rickettsia)، ایریدویروس (Iridovirus) و چند نوع انگل خارجی تریکودینا *Trichodina* و آمیلودینیوم *Amyloodinium* عامل اصلی بیماری تیلاپیاهای پرورشی می باشند (Komar, 2007). در بین آلودگی های انگلی، مونوژنه آ و دیژنه آ و برخی انگل های سخت پوست از آلودگی های مهم تیلاپیا هستند (El-Sayed, 2006).

خسارات ناشی از بیماری های آبزیان پرورشی بویژه در سال های اخیر بر صنعت آبزی پروری نقاط مختلف جهان تأثیر گذاشته است. به عنوان نمونه مشکل بیماری استرپتوکوکوس که در سراسر جهان وجود دارد سالانه حدود ۱۵۰ میلیون دلار آسیب می رساند و مشکلات بهداشتی حادی را بوجود می آورد (Soltani *et al*., 2014). وجود عوامل بیماری زای عفونی در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا و حتی تلفات و خسارت شدید ناشی از آن در مناطقی از جهان گزارش شده است (Zhang et al., 2018; Pantoja et al., 2012; Noor El-Deen *et al*., 2018; El-Sayed, 2006; Ali *et al*., 2011). مطالعات معرفی تیلاپیا به صنعت تکثیر و پرورش مناطق مرکزی ایران (Rajabipour, 2012) و جنبه های مختلف تکثیر و پرورش انجام شده و پژوهش ها ادامه دارد. تیلاپیا در مراحل نخست معرفی به صنعت آبزی پروری کشور قرار دارد و لازم است بررسی بیماری ها و برنامه ریزی مدیریت بهداشتی آن مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش ها

بررسی بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور در حومه بافق یزد از پاییز ۱۳۹۱ تا پایان سال ۱۳۹۲ انجام شد. منبع آب کارگاه های مرکز آب زیرزمینی است که از طریق چاه تأمین می شود. تیلاپیاها در مراحل مختلف از تخم تا نوزادی، پرواری و مولدین در کارگاه های مرکز وجود داشت. بچه ماهیان نورس تا مرحله کمتر از یک گرم در وان های ۳۰۰ لیتری با تراکم ۱۵۰۰ قطعه بر مترمکعب، بچه ماهیان انگشت قد با تراکم ۵۰۰-۳۰۰ قطعه بر مترمکعب در تانک های ۳۰۰۰ لیتری و حوضچه های بتنی و مولدین در وان های پلی اتیلنی با تراکم ۵ قطعه برمترمکعب نگهداری می شدند. ماهیان پرواری در در حوضچه های بتنی با تراکم ۶۰ قطعه برمترمکعب تا وزن حدود ۶۰۰ گرم پرورش می یافتند. تخم ها پس از تخم گیری به انکوباتورها منتقل می شدند. برای ضدعفونی کردن و شستشوی تخم ها، نوزادان و بچه ماهیان از محلول فرمالین و اکریفلاوین استفاده شد (Bhujel, 2014; Little *et al*., 2003; Little, 1989). با مشاهده علائم غیرطبیعی ظاهری، حرکتی، تغذیه ای و تلفات غیرمعمول، از وان های مولدین، انکوباتورها، تراف ها و حوضچه های نگهداری نوزادان و ماهیان پرواری نمونه برداری وحداقل ۱۰ در نمونه از مولدین و ماهیان پرواری بافت های چشم، مغز، کبد و کلیه بررسی شدند.

بررسی عوامل باکتریایی بیماری های مایکوباکتریوسیس (Mycobacteriosis)، استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis)، استافیلوکوکوزیس (Staphylococcosis)، سپتی سمی ناشی از آئروموناس های متحرک (M Aeromonas S)، ویبریوسیس (Vibriosis)، کالمناریس (Columnaris)، ادواردزیلوسیس (Edwardsiellosis) و باکتری های سودوموناس (Pseudomonas) توسط آزمایشگاه تشخیص طبی دانشگاه علوم پزشکی یزد انجام شد. با استفاده از محیط کشت Blood agar و EMB (Eosin Methylene Blue) و TSA (rTryptic Soy Aga)

کشت میکروبی و رنگ آمیزی گرم در آزمایشگاه مرکز صورت گرفت. تشخیص افتراقی باکتری ها با روش های رنگ آمیزی و بیوشیمیایی، رنگ آمیزی افتراقی مایکوباکترها از روش زیل نلسن (Ziehl-Neelsen, Acid fast)، افتراق باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس آزمایش کاتالاز (Catalase)، افتراق باکتری های گرم منفی آزمایش سیتوکروم اکسیداز (Cytochrome oxidase) و برای تفکیک یرسینیا و ادواردزیلا آزمایش بتاگالاکتوزیداز (β-Galactosidase) صورت گرفت (Roche *et al*., 2010; Roberts, 2001).

برای بررسی قارچی از تخم، نوزاد مرحله کیسه زرده و بچه ماهی نورس، پوست و آبشش ماهیان تیلاپیا، آب ورودی و خروجی کارگاه ها و خوراک ماهیان نمونه برداری شد. جهت بررسی قارچی، نمونه ها به آزمایشگاه قارچ شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر (ساری) ارسال شدند. محیط کشت مورد استفاده سابروددکستروز آگار (Sabouraud dextrose agar) بود. نمونه ها پس از آماده سازی، در محیط کشت بصورت تلقیحی کشت داده شدند. جهت کشت نمونه آب و خوراک، ۱۰۰ µL از مایع رویی هریک بصورت خطی در سطح کشت داده شد(Roche et al., 2010; Hageskal, *et al*., 2009).

برای بررسی انگل ها از ماهیان حوضچه های دارای علائم غیرطبیعی ۲۵ نمونه تصادفی جمع آوری گردید. سطح خارجی بدن، آبشش ها، حفره داخلی بدن و احشاء (لوله گوارش، کلیه، کبد، کیسه هوا) بررسی شد (Roche *et al*., 2010).

برای بررسی ویروس ها، نمونه برداری از تخم، مراحل کیسه زرده و انگشت قد و بافت های طحال و کلیه ماهیان پرواری صورت گرفت. نمونه ها به آزمایشگاه ویروس شناسی پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی (بندر انزلی) ارسال شد. آزمون PCR (Polymerase Chain Reaction) برای شناسایی ایریدوویروس (Bohle iridovirus) و هرپس ویروس (Herpesvirus) و ویروس EHNV (Epizootic Haematopoietic Necrosis Virus) (بدلیل موجود بودن کنترل مثبت آن)، به عنوان کنترل مراحل استخراج با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی انجام شد. برای استخراج DNA، کیت تجاری DNeasy Blood & Tissue ساخت شرکت کیاژن طبق دستورالعمل شرکت سازنده بکار رفت (Park *et al*., 2012; Cullen and Owens, 2002). (جداول ۱ و ۲).

جدول ۱: پرایمرهای اختصاصی استفاده شده در واکنش PCR برای پاتوژن های EHNV (Epizootic Haematopoietic Necrosis Virus) و BIV (Bohle iridovirus)

مشخصات / نام جفت پرایمر	سکانس پرایمر('3–'5)	PCR آمپلیکون(bp)	نام پاتوژن	رفرنس
BIVF	5’-GATCCACACGGCCTGACACCG-3’	۲۱۸	BIV	Cullen, 2002
BIVR	5’-GATCCGAAAGACAGCAGCGGTCGA-3’			
EHNF2(1)	5'-ATG ACC GTC GCC CTC ATC AC-3'	۶۲۵	EHNV	OIE,2013
EHNR2	5'-CCA TCG AGC CGT TCA TGA TG-3'			
F2	5'- GAC ACC ACA TCT GCA AGG AG-3'	۲۹۲	Herpesvirus	OIE,2013
R2	5'-GAC ACA TGT TAC AAT GGT CGC-3'			

جدول ۲: نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره ای PCR

ماده / مقدار	غلظت مواد	مقدار برای واکنش 25 میکرولیتری
DNA	۵۰ نانوگرم	۲ میکرولیتر
آنزیم پلیمراز	5U/µ	۰/۵ میکرولیتر
dNTPs	25 میلی مولار	۱ میکرولیتر
Mgcl2	۲۵ میلی مولار	۱ میکرولیتر
بافر PCR	۱۰X	۲/۵ میکرولیتر
پرایمر Forward	۱۰ میکرو مولار	۱/۵ میکرولیتر
پرایمر Reverse	۱۰ میکرومولار	۱/۵ میکرولیتر
آب مقطر	-	تا ۲۵ میکرولیتر

نتایج

از بافت مغز و چشم ۹ درصد تیلاپیاهای مولد سیاه و قرمز یک ساله و ۳ درصد ماهیان پرواری حوضچه های بتنی که در اوایل زمستان ۱۳۹۲ نمونه برداری شده بود، باکتری *Streoptococcus* sp. بدست آمد. در ماهیان مبتلا اختلالات و خونریزی چشمی و پوست، آب آوردگی شکم، کاهش تغذیه و تورم طحال و کلیه مشاهده شد.

در فصل بهار ۱۳۹۲ در ۲ درصد مولدین یک ساله تیلاپیای قرمز که با علائم اختلال پوستی بصورت لکه پهن در سطح، ریختگی پولک، رنگ پریدگی، بیرون زدگی چشم، تیرگی عنبیه، تورم شکم، خونریزی پوست و باله ها و آب آوردگی شکم نمونه برداری شده بودند باکتری *Edwardsiella* sp. در بافت مغز وجود داشت. این باکتری در ۴۲ درصد بچه ماهیان نورس با علائم شنای چرخشی، حرکات مارپیچی و تلفات نیز یافت شد.

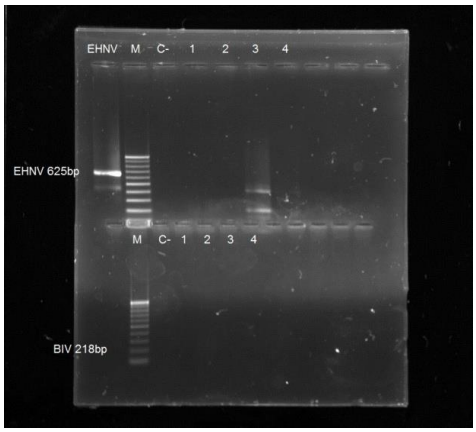
در بررسی اوایل دی ماه ۱۳۹۲ از نظر آلودگی قارچی، در آب خروجی کارگاه ها، خوراک بچه ماهیان، تخم و بچه ماهیان انگشت قد آلودگی به پنیسیلیوم (*Penicillium*) وجود داشت. در بچه ماهیان انگشت قد آلودگی به آسپرژیلوس (*Aspergillus*) نیز مشاهده شد. در بافت پوست وآبشش تیلاپیاهای مولد و پرواری آلودگی قارچی وجود نداشت. مهمترین علائم بچه ماهیان انگشت قد کندی حرکت و بیحالی، کم اشتهایی، تغییر رنگ پوست به تیره، تلفات، تیره شدن بچه ماهیان تیلاپیای سیاه و جداشدن آنها از گله بود. در انکوباتورهای تخم تغییر رنگ به سفید کدر و کاهش شکوفایی مشاهده شد.

در بچه ماهیان نورس و انگشت قد با علائم کندی حرکت و بی حالی، کم اشتهایی، تیره شدن پوست و تلفات در پاییز و زمستان ۱۳۹۱، آلودگی به منوژن ها مشاهده شد. این منوژن ها متعلق به جنس های ژیروداکتیلوس (*Gyrodactylus*) و داکتیلوژیروس (*Dactylogyrus*) بودند. ژیروداکتیلوس از سطح بدن بچه ماهیان تیلاپیای نورس و انگشت قد با اختلالات پوستی بدست آمد. شیوع آلودگی به *Gyrodactylus* sp. در وان های آلوده ۱۰۰٪ و میانگین شدت آلودگی ماهیان آلوده ۲۲±۱۱۲ عدد بود. آلودگی به منوژن *Dactylogyrus* sp. بطور موردی در آبشش دو نمونه بچه ماهیان انگشت قد مشاهده شد. (جدول ۳).

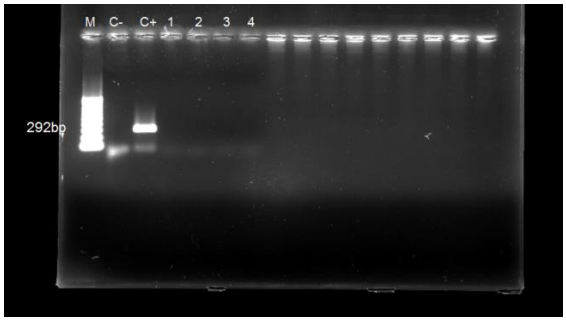
جدول ۳:آلودگی تخم، بچه ماهیان، مولدین و نمونه های پرواری تیلاپیاهای نیل سیاه و هیبرید قرمز به عوامل عفونی

میزبان	علائم	نوع آلودگی	بافت آلوده
تیلاپیای نیل سیاه و هیبرید قرمز مولد و پرواری	خونریزی چشمی و پوستی، آب آوردگی شکم، تورم طحال و کلیه، کاهش تغذیه	باکتری *Streoptococcus* sp.	مغز، چشم
تیلاپیای هیبرید قرمز مولد بچه ماهی نورس	ریختگی پولک، خونریزی پوست و باله ها، لکه های پهن پوستی، رنگ پریدگی، بیرون زدگی چشم، تیرگی عنبیه، تورم شکم شنای چرخشی، حرکات مارپیچی و تلفات در بچه ماهیان نورس	باکتری *Edwardsiella* sp.	مغز
تخم و بچه ماهی انگشت قد	کندی حرکت و بیحالی، کم اشتهایی، تیرگی پوست، جدا شدن از گله، تلفات تغییر رنگ به سفید کدر و کاهش شکوفایی تخم	قارچ *Penicillium* sp.	آبشش
بچه ماهی انگشت قد	کندی حرکت و بیحالی، کم اشتهایی، تیرگی پوست، جدا شدن از گله، تلفات	قارچ *Aspergillus* sp.	آبشش
بچه ماهی نورس و انگشت قد	کندی حرکت، بی حالی، کم اشتهایی، تیرگی پوست، تلفات	انگل منوژن *Gyrodactylus* sp.	آبشش، پوست
بچه ماهی انگشت قد	کندی حرکت، بی حالی، کم اشتهایی، تیرگی پوست، تلفات	انگل منوژن *Dactylogyrus* sp.	آبشش

بررسی نمونه های تخم، بچه ماهیان و بافت های طحال و کلیه ماهیان پرواری با الکتروفورز محصول PCR توسط پرایمرهای اختصاصی EHNV، BIV و Herpesvirus نشان داد نمونه ها به ویروس های مذکور مبتلا نبودند. (شکل های ۱ و ۲).



شکل ۱: الکتروفورز ژل آگاروز ٪۱/۵ مربوط به محصول PCR نمونه های مورد آزمایش با استفاده از پرایمرهای اختصاصی EHNV و BIV. (EHNV : کنترل مثبت EHNV، M : مارکر ۱۰۰bp ساخت شرکت Vivantis، C : کنترل منفی، ستون های ۱ تا ۴ : نمونه ها)



شکل ۲: الکتروفورز ژل آگاروز ٪۱/۵ مربوط به محصول PCR نمونه های مورد آزمایش با استفاده از پرایمر اختصاصی هرپس ویروس (M : مارکر ۱۰۰bp ساخت شرکت Vivantis، C : کنترل منفی، +C : کنترل مثبت، ستون های ۱ تا ۴ : نمونه ها

بحث

در این بررسی باکتری کوکسی جنس استرپتوکوکوس (*Streptococcus*) در تیلاپیاهای مولد یک ساله، و باکتری میله ای شکل ادواردزیلا (*Edwardsiella*) در ماهیان تیلاپیای مولد و بچه ماهیان نورس مشاهده شد. مهمترین باکتری آلوده کننده تیلاپیاهای پرواری گونه

های مختلف استرپتوکوکوس است و گونه *Streptococcus iniae* شایع ترین آنها محسوب می شود (Soltani et al., 2014; Shoemaker *et al*., 2000; Tang and Nelson, 1998). در سال های اخیر آلودگی به *S. iniae* سبب تلفات سنگین تیلاپیاهای پرورشی شده که در بیشتر در سیستم های بازگردش و متراکم رخ می دهد. با کشت متراکم ماهیان که آمادگی ابتلاء به باکتری های استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس را دارند، بیماری ها افزایش می یابند. در مطالعه حاضر استرپتوکوکوس در مولدین و در نمونه های پرواری در شرایط متراکم ۸۰-۶۰ ماهی در مترمکعب وجود داشت اما تلفات حادی مشاهده نشد. استرپتوکوک همه مراحل زندگی ماهیان را تحت تأثیر قرار می دهد اما ماهیان در وزن های g ۱۰۰ تا اندازه های بازاری برای ابتلاء مستعدتر هستند که با نتایج این بررسی تطابق دارد. درجه حرارت کم یا زیاد آب، شوری زیاد، pH بیش از ۸، کاهش اکسیژن، تراکم زیاد نیتریت و تراکم زیاد ماهی سبب آسیب پذیری تیلاپیا در مقابل استرپتوکوکوس می شود. علائم بیماری و تلفات زیاد در نمونه های آلوده به *S. iniae* در استخرهای آب لب شور هند گزارش شده است (El-Sayed, 2006).

ادواردزیلا که در بچه ماهیان تیلاپیا و بالغین مشاهده شد یکی از پاتوژن های مهم ماهیان محیط های طبیعی و پرورشی است و برخی از گونه های آن با پراکنش جغرافیایی بسیار وسیع ماندگاری طولانی در میزبان دارند (Park *et al*., 2012). این باکتری اغلب پاتوژن ماهیان گرمابی بویژه کپورماهیان و گربه ماهی ها است و در برخی گونه های سردابی نیز گزارش شده است و در استخرهای پرورش یافت می شود (Abraham *et al*., 2015). ابتلاء به این باکتری در شرایط نامتعادل محیطی مانند دمای زیاد، کیفیت پایین و مواد آلی زیاد در آب بروز می کند. ادواردزیلا در محیط های طبیعی یافت می شود و مدیریت استرس شدت ابتلاء به آن را کاهش می دهد (Park *et al*., 2012). بیماری زایی *E. tarda* در شرایط استرس بویژه دمای بیش از ۳۰ °C و آب حاوی مواد آلی بالا افزایش می یابد (El-Sayed, 2006).

در نمونه های تخم، بافت آبشش ماهیان تیلاپیای مولد و پرواری و بچه ماهیان انگشت قد آلودگی به پنیسیلیوم وجود داشت. بچه ماهیان انگشت قد به آسپرژیلوس نیز آلوده بودند. ماهی سالم بندرت به بیماری های قارچی مبتلا می شود اما ماهیان تحت استرس شوک دمایی، آسیب مکانیکی یا مبتلا به بیماری های دیگر در معرض ابتلا هستند. عموماً در هچری ها قارچ ها مهمترین معضل هستند که روی تخم و نوزادان رشد می کنند (Czeczuga *et al*., 2014). در پودر ماهی بکار رفته جهت تغذیه بچه ماهیان نورس پنیسیلیوم وجود داشت. بچه ماهیانی که در مرحله تک جنس سازی بوده و در خوراک آنها از پودر ماهی استفاده شد رشد مناسب نداشته و تلفات داشتند. باتوجه به اهمیت بهداشت محصولات غذایی، لازم است اصلاح شرایط مورد توجه قرار گیرد. قارچ ها از تیلاپیاهای وحشی و پرورشی وکودهای آلی که برای باروری استخرها بکار می روند بدست آمده اند (El-Sayed, 2006). پنیسیلیوم از تیلاپیای *Oreochromis sp.* (Czeczuga *et al*., 2014) و نمونه های تازه و نمک زده تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* جدا شده است. تولید اوکراتوکسین (Ochratoxin) از پنیسیلیوم در شرایط نگهداری محصول در مکان های سرد مرطوب روی می دهد. نگهداری خوراک در شرایط مناسب و حفظ بهداشت انبار، ظروف نگهداری و تغذیه در پیشگیری و کنترل قارچ ها ضرورت دارد.

رشد آسپرژیلوس و تولید سم آفلاتوکسین (Aflatoxin)، اوکراتوکسین A و پاتولین (Patulin) توسط قارچ ها ازجمله پنیسیلیوم بستگی به آب و میزان دما دارد. پاتولین، اسید پنیسیلیوم و اوکراتوکسین A در شرایط آب با جریان کم و دمای کم تولید می شوند (Jakiã-Dimiã *et al*., 2005). بسیاری از گونه های پنیسلیوم ترکیبات سمی سیترینین (Citrinin) و سیترووریدین (Citroviridin) را تولید می کنند اما گزارشی از تأثیر این سموم بر ماهیان وجود ندارد (Barbosa *et al*., 2013). کنترل و تثبیت شرایط محیطی و جریان مناسب آب برای اجتناب از رشد قارچ ها و تولید سموم مؤثر است. تغییر

فصل و کاهش دما در ابتلاء این ماهیان به قارچ ها مؤثر است. تأثیر آلودگی قارچی آب بر آبزیان در هچری ها مشکلی عمومی است. در منابع آبی غنی از غذا محیط مناسب رشد این قارچ ها بوجود می آید (Czeczuga *et al*., 2014). در این مطالعه قارچ در آب زهکش یافت شد. قارچ آسپرژیلوس برای ماهیان سمی است. اغلب نگهداری نامناسب غذای ماهی باعث رشد این قارچ می شود (El-Sayed, 2006).

انگل های منوژن *Gyrodactylus* sp. و *Dactylogyrus* sp. مشاهده شده در این بررسی شامل منوژن هایی هستند که به عنوان عوامل مهم آلودگی تیلاپیای پرورشی بویژه در بچه ماهیان و نوزادان گزارش شده اند هرچند انواع دیگری از منوژن ها نیز تیلاپیاها را در شرایط پرورشی آلوده می کنند (Lim *et al*., 2016). این انگل ها در بچه ماهیان شیوع داشتند و در مواردی بدنبال شیوع آنها تلفات شدید در وان های L ۳۰۰ حاوی بچه ماهیان یک گرمی دیده می شد. در این تحقیق، در مدت کوتاهی پس از بروز انگل در بچه ماهیان، علائم آلودگی باکتریایی بویژه شنای غیرطبیعی و چرخشی و جدا ماندن از گله، شنا در سطح آب و تلفات بروز می نمود. انگل ها باعث افزایش استرس و کاهش مقاومت در برابر بیماری می شوند.

ژیروداکتیلوس ممکن است سبب تلفات در مدت کوتاه شود. تیلاپیا نسبت به این مونوژن مقاوم نیست و با این آلودگی بشدت تلف می شود. ژیروداکتیلوس در آب های غنی از مواد غذایی یافت شده و می تواند موجب بروز مشکلات در ذخایر ماهیان جوان گردد. آلودگی به این انگل سبب آسیب های پوستی ماهیان می شود. اغلب پیک های آلودگی به داکتیلوژیروس فصلی است و در فصول سرد میزان آلودگی افزایش می یابد. تراکم زیاد و روش های نادرست انتقال ماهی از عوامل مهم ابتلاء تیلاپیا به منوژن ها هستند. مرگ و میر ناشی از منوژن ها براثر تراکم شدید، کاهش کیفیت آب و عدم رعایت اصول بهداشتی پیش می آید.

خسارات شدید ناشی از منوژن ها در ماهیان تیلاپیای نیل پرورشی در مناطق مختلف جهان از جمله کنیا، کامرون و عربستان گزارش شده است (El-Sayed, 2006). منوژن ها میزبان واسط ندارند و تخم یا نوزادان را در آب رها می کنند و انتقال آنها به ماهیان با تماس مستقیم صورت می گیرد. انگل ها اغلب بخشی از محیط طبیعی هستند و عوامل مختلف زیستی، محیطی، تغذیه، تراکم زیاد و سیستم پرورش بر شیوع آنها تأثیر دارد (Komar, 2007). مشخص شده است که نمونه های وارداتی (exotic) تیلاپیاها در مقایسه با نمونه های بومی آلودگی انگلی کمتری دارند (Ross, 2000). آلودگی انگلی تیلاپیا در طی روند معکوس کردن جنسیت بچه ماهی رایج است و در این مطالعه نیز بروز مونوژن ها در طی تک جنس سازی بچه ماهیان روی داد.

بررسی ویروسی تخم، بچه ماهیان و نمونه های بافت بدن تیلاپیای پرواری هیچ گونه آلودگی ویروسی نشان نداد. بدیهی است اعمال مدیریت بهداشتی در کارگاه های تکثیر و پرروش تیلاپیا در مرکز بر عدم بروز آلودگی ویروسی تأثیر مطلوب داشته است. مشکلات ناشی از آلودگی ماهیان قزل آلای پرورشی به عوامل عفونی ویروسی در ایران این صنعت را تحت تأثیر قرارداده است (Soto *et al*., 2016).

ایریدوویروس (Biv, Bohle Iridovirus) در اوایل دهه ۱۹۷۰ در تیلاپیای وحشی دریاچه های شرق آفریقا گزارش شد. این ویروس سبب مرگ کلیه بچه ماهیان *O. mossambicus* طی ۶۰ روز شد. رابدوویروس (Rhabdovirus) عامل ویروسی بیماری های کشنده گونه هایی از تیلاپیا ماهیان است. بیرناویروس (Birnavirus) دراوایل دهه ۱۹۸۰ در تایوان از تیلاپیای موزامبیکی *Oreochromis mossambicus* بدست آمد. آسیب پذیری تیلاپیای موزامبیک نسبت به عامل ویروسی نوداویروس (Nodavirus) نیز بررسی شده است (El-Sayed, 2006).

باید توجه داشت که برای گونه تیلاپیای نیل *O. niloticus* دمای مناسب آب ۳۲-۲۴ درجه سانتیگراد و

شوری مناسب ppt ۱۵-۵ است. دمای ۱۶-۱۰ درجه سانتیگراد باعث استرس، کاهش تغذیه و بروز بیماری می شود. مقدار مناسب غلظت اکسیژن محلول در آب حداقل ۳-۲ میلی گرم بر لیتر (mg/L) و نیتروژن آمونیاکی غیریونیزه کمتر از ppm ۰،۰۵، و محدوده pH مناسب ۹-۷ است (Mashaii, 2018). برقرار نبودن شرایط محیطی بهینه و اپتیمم های آب کارگاه ها، زمینه ساز ابتلاء و بروز بیماری های عفونی در ماهیان تیلاپیای پرورشی است.

نتیجه گیری کلی

در بررسی بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در حومه شهرستان بافق یزد، نمونه هایی از آلودگی های انگلی، باکتریایی، قارچی مشاهده شد اما آلودگی به ویروس ها وجود نداشت. گرچه عوامل پاتوژن و موارد بیماری در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا به صورت معدود و موردی مشاهده شدند، اما پایش و اعمال دستورالعمل بهداشتی مدیریتی بویژه در زمینه پیشگیری از بروز بیماری ها اهمیت زیادی دارد.

توصیه ترویجی

درمجموع به منظور پیشگیری از آلودگی و کنترل شرایط بهداشتی در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا، کاربرد این توصیه های ترویجی مؤثر خواهد بود:

- آموزش بهداشت فردی به کارکنان مرتبط کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا، آشنایی با عوامل استرس زا برای ماهیان، راه های متداول انتقال و شیوع عوامل بیماری زا، عوامل بیماری زای مشترک با انسان و روش های ضدعفونی کردن ضرورت دارد.
- لازم است وضعیت بهداشت و سلامت کارگاه ها و مزارع در فواصل زمانی منظم پایش شوند.
- تانک ها، استخرها، آبراهه ها و دیگر محیط های آبزی پروری باید به نحوی طراحی شود که مواد دفعی و غذای مصرف نشده تجمع نکند. تورها، تجهیزات و دیگر عوامل انتقال دهنده عوامل بیماری‌زا را مرتباً با استفاده از شوینده ها ضدعفونی کنید.
- برای گونه تیلاپیای نیل *O. niloticus* دمای مناسب آب ۳۲-۲۴ درجه سانتیگراد و شوری مناسب ppt ۱۵-۵ است. دمای ۱۶-۱۰ درجه سانتیگراد باعث استرس، کاهش تغذیه و بروز بیماری می شود. مقدار اکسیژن را ۳-۲ میلی گرم بر لیتر (mg/L) و نیتروژن آمونیاکی غیریونیزه را در سطوح پایین و کمتر از ppm ۰،۰۵ حفظ کنید. محدوده pH مناسب ۹-۷ است.
- تهیه خوراک مطلوب و شرایط مناسب نگهدری خوراک از مهمترین عوامل حفظ بهداشت و سلامت ماهیان پرورشی است.
- صید و انتقال تیلاپیا از یک استخر به استخر دیگر، آن را در معرض بیماری قرار می دهد. تا حد ممکن از جابجایی غیر ضروری ماهیان پرهیز کنید.
- نگهداری ماهی بعد از رسیدن به وزن تجاری موجب ابتلا به بیماری می شود و باید زودتر آن را برداشت کنید.
- عمومی ترین راه بروز آلودگی، معرفی ماهی آلوده به محیط است. در تهیه بچه ماهیان غیرآلوده حداکثر دقت را بکار ببرید. بهتر است بچه ماهی از منابع محلی مطمئن تهیه شود. در شرایط ایده آل باید هر منطقه از نظر تولید بچه ماهی خودکفا باشد.
- در موارد غیرضروری از تکثیر و نگهداری انبوه بچه ماهیان اجتناب کنید.
- هرگونه معرفی یا انتقال ماهی جدید به مزرعه و کارگاه را همراه با بررسی انگلی انجام دهید. فرایند قرنطینه را بصورت قرنطینه شدن نمونه ها ۳ هفته قبل از ورود به سیستم جدید اجراءکنید. در صورت عدم امکان قرنطینه ماهیان، برحسب گونه انگل آنها را مدتی در آب شور یا شیرین که متضاد محیط طبیعی زندگی انگل باشد قرار دهید.
- برای ضدعفونی کردن تخم برای هرنوع جابجایی در کارگاه تکثیر از دو محلول استفاده کنید. محلول اول شامل ۱۰cc فرمالین خالص ۳۷ درصد در ۲۰ لیتر آب است و بلافاصله پس از آن بمدت ۳۰ ثانیه با آب خالص شستشو دهید. مدت زمان نگهداری تخم در حمام فرمالین بستگی به مرحله آن دارد. در مراحل ۱ و ۳ تخم به مدت

سه دقیقه، در مرحله ۲ تخم را به مدت دو دقیقه و مرحله ۴ و ۵ تخم را به مدت یک دقیقه در محلول قرار دهید. در ادامه کار از محلول دوم شامل ۲۰۰ لیتر آب با ۱ گرم اکریفلاوین HcL استفاده کنید. تخم ها را به مدت ۳۰-۶۰ ثانیه در این محلول نگه دارید. سپس تخم ها را بلافاصله بمدت ۳۰ ثانیه با آب خالص شستشو دهید.

- برای شستشوی بچه ماهیان نورس و انگشت قد، از محلول فرمالین ppm ۲۰۰۰ بمدت ۳-۱ دقیقه استفاده کنید. در مرحله معرفی بچه ماهیان انگشت قد به حوضچه های پرورش آنها را به مدت ۱۰-۵ دقیقه در محلول فرمالین به میزان CC ۴۰۰ در ۱۰۰ لیتر آب قرار دهید. استفاده از اکسیژن در طی درمان با حمام فرمالین ضروری است.
- بطور کلی دو عامل پاتوژن مهم در تیلاپیا، باکتری *Streptococcus iniae* عامل تلفات شدید در سیستم های متراکم تیلاپیا و دیگری ترماتود منوژن *Gyrodactylus* sp. مشکل ساز در ذخایر تیلاپیای جوان و متراکم در آب های غنی (یوتروفیک)، هستند. پیشگیری و کنترل بیماری ها را با توجه خاص به این دو عامل برنامه ریزی کنید.
- باکتری استرپتوکوک همه مراحل زندگی ماهی را تحت تأثیر قرار می دهد اما ماهیان در وزن های ۱۰۰ گرم تا اندازه های بازاری برای ابتلاء مستعدتر هستند.
- برای اجتناب از آلودگی قارچی باید بهداشت ابنیه و تجهیزات، کیفیت آب و ضدعفونی کردن تخم را با جدیت دنبال کنید. از ورود یا انتقال نمونه های تلف شده و اجزاء لاشه گیاهان به درون زهکش ها جلوگیری کنید. از کودهای آلی استریل که برای باروری استخرها بکار می روند استفاده کنید و دمای آب را در محدوده مطلوب حفظ کنید. نگهداری نامناسب غذا نیز سبب آلودگی قارچی می شود.
- استفاده از پراکسید هیدروژن و آکریفلاوین به میزان ۱ گرم در لیتر بدلیل سازگاری بیشتر با محیط زیست برای مبارزه با آلودگی های قارچی تخم و ماهی مناسب است.
- برای کنترل مژکداران از فرمالین به مقدار ۲۵۰ میلیگرم بر لیتر به مدت ۱ ساعت استفاده کنید. فرمالین را می توان با دقت در استخرهای پرورش بکار برد اما استفاده زیاد از فرمالین می تواند باعث مرگ پلانکتون ها شود. کاربرد مواد شیمیایی مجاز مانند نمک، فرمالین، پروکسیدهیدروژن و پرمنگنات پتاسیم برای کنترل انگل ها مفید است.
- برای درمان منوژن ها از فرمالین بصورت دراز مدت حمام ۲۵ میلیگرم بر لیتر، یا در کوتاه مدت حمام ۲۵۰-۱۵۰ میلیگرم بر لیتر به مدت ۳۰ دقیقه استفاده کنید. برای درمان انگل منوژن جنس داکتیلوژیروس معمولاً درمان های ۴-۳ هفته ای توصیه می شود اما جنس ژیروداکتیلوس با یک تیمار از محلول های ضدعفونی کننده نابود می شود. پرمنگنات پتاسیم بصورت طولانی مدت ۲ میلیگرم بر لیتر و در کوتاه مدت ۱۰ میلیگرم بر لیتر به مدت ۳۰ دقیقه نیز برای ازبین بردن منوژن ها بکار می رود. استفاده از پراکسیدهیدروژن، ترکیبات ارگانوفسفوره و تغییرات شوری راه های دیگر مبارزه با انگل ها هستند.
- بهترین راه اجتناب از بیماری های ویروسی آن است که برای پیشگیری، قرنطینه کردن نوزادان و جلوگیری از وارد شدن ماهی های دارای سابقه بیماری ویروسی به کارگاه های پرورش ماهی اقدام کنید. پس از ابتلاء ماهیان تیلاپیا به بیماری های ویروسی مؤثرترین راه جدا کردن و از بین بردن ماهی بیمار است.

(Rajabipour, 2016; Bhujel., 2014; Conroy *et al*., 2008; Komar, C., 2007).

منابع :

Abraham, T.J., Mallick, P.K., Adikesavalu, H. and Banerjee, S, 2015. Pathology of *Edwardsiella tarda* infection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), fingerlings. *Archives of Polish Fisheries*,23:141-148. https://doi.org/10.1515/aopf-2015-0016

Ali, E.H., Hashem, M. and Al-Salahy, M.B., 2011. Pathogenicity and oxidative stress in Nile tilapia caused by *Aphanomyces laevis* and *Phoma herbarum* isolated from farmed fish. *Diseases of Aquatic Organisms*,94:17-28. https://doi.org/10.3354/dao02290

Barbosa, T.S., Pereyra, C.M., Soleiro, C.A., Dias., E.O., Oliveira, A.A., Keller, K.M., Silva, P.P.O., Cavaglieri, L.R. and Rosa, C.A.R., 2013. Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. *International Aquatic Research*,5:3-4. https://doi.org/10.1186/2008-6970-5-3

Bhujel, R. C. 2014. A Manual for Tilapia Business Management. CABI Pub. 216P.

Conroy, G., Conroy, D., Klesius, P., Shoemaker, C. and Evans, J., 2008. Importantes enfermedades infecciosas y parasitarias en tilapias cultivadas. Intervet—Schering-Plough Animal Health, pp. 171.

Cullen, B.R. and Owens, L., 2002. Experimental challenge and clinical cases of Bohle Iridovirus (BIV) in native Australian anurans. *Disease of Aquatic Organisms*,49:83-92. https://doi.org/103354/dao0490. PMid: 12078986

Czeczuga, B., Semeniuk, A. and Czeczuga-Semeniuk, E., 2014. Straminipiles fungi growing on the alevins of the Nile tilapia in limnologically and trophically different water bodies. *African Journal of Agricultural Research*,9:346-1356. DOI: 10.5897/AJAR2013.6853

El-Sayed, A.M., 2006. *Tilapia culture*. CABI Pub. 277P. https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000

Hageskal, G., Lima N. and Skaar, I., 2009. The study of fungi in drinking water. *Mycological Research*,113:165-172. https://doi.org/10.1016/j.mcers.2008.10.002. PMid: 19010414

Jakiã-Dimiã, D., Jeremiã, S., Nešiã, K. and Radosavljeviã, V., 2005. The influence of mycotoxins in food on fish health status. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, *Matica Srpska Journal for Natural Sciences*,109:73-79. https://doi.org/10.2298/ZMSPN0519073J

Komar, C., 2007. Parasitic Diseases of Tilapia the Fish Site. MSD Animal Health Co. www.thefishsite.com/articles/294/parasitic-diseases-of-tilapia/

Lim, Sh.Y., Ooi, A.L. and Wong, W.L., 2016. Gill monogeneans of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) from the wild and fish farms in Perak, Malaysia: infection dynamics and spatial distribution. *Springer Plus*,5:1-10. https://doi.org/10.1186/s40064-016-3266-2. PMid: 27652182

Little, D. C. 1989. An evaluation of strategies for production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry suitable for hormonal treatment. PhD thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling, UK.

Mashaii, N. 2018. The relationship between biotic and abiotic factors and the growth of cultured tilapia in earthpond and indoor systems. Final report of the project. Iranian Fisheries Research Organization, Brackish Water Fisheries Research Station. (In Farsi).

Noor El-Deen, A., Osman, H.M., Zaki, M.S. and AlyAbo-State, H., 2018. Mass Mortality in Cultured Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* in Kafr El-Sheikh Province, Egypt Due to Saprolegniosis with Emphasis on Treatment Trials. *Journal of Biological*

Publishers, Amsterdam. https://doi.org/10.1007/978-94-011-

Shoemaker, C.A., Evans, J.J. and Klesius, P.H., 2000. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture,*188:229-235. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00346-X

Soltani, M., Rouholahi, Sh., Zargar, A., Abdi, K., Mohamadian, S. and Ghajarim A., 2014. Study of the distribution of infectious pancreatic necrosis (IPN) in rainbow trout farms of Iran using RT-PCR. *Iranian Veterinary Journal,*10:29-39.

Soto, E., Zayas, M., Tobar, J., Illanes, O., Yount, S., Francis, S. and Dennis, M.M., 2016. Laboratory-controlled Challenges of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with Streptococcus agalactiae: Comparisons between Immersion, Oral, Intracoelomic and Intramuscular Routes of Infection. *Journal of Comparative Pathology,*155:339-345. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.09.003.

Tang, K.F.J. and Nelson, S.G., 1998. Identification, control, and prevention of diseases on fish farms in Guam. Department of Veterinary Science University of Arizona University of Guam Marine Laboratory. Technical Report No. 104. N. Bib ID 3512810.

Zhang, Z., Lan, J., Li, Y., Hu, M., Yu, A., Zhang, J. and Wei, S., 2018. The pathogenic and antimicrobial characteristics of an emerging *Streptococcus agalactiae* serotype IX in Tilapia. *Microbial Pathogenesis,*122:39-45. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.053. PMid: 29859291

Sciences,18:39-45. https://doi.org/10.3923/jbs.2018.39.45

Pantoja, W., Neves, L., Dias, M., Marinho, R., Montagner, D. and Tavares-Dias, M., 2012. Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in Brazil. *Revista mvz Córdoba,*17:2812-9. https://doi.org/10.21897/rmvz.248

Park, S.B., Aoki T. and Jung, T.S., 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research,4:*43-67. https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-67

Rajabipour, F., 2012. An investigation on feasibility of introduction of tilapia to aquaculture industry of inland brackish waters at desert areas of Iran. Final report of the project. Iranian Fisheries Research Organization, Brackish Water Fisheries Research Station. (In Farsi).

Rajabipour, F., 2016. Pathogen monitoring in indoor systems of tilapia aquaculture in Bafq, Iran. Final report of the project. Iranian Fisheries Research Organization, Brackish Water Fisheries Research Station. (In Farsi).

Roberts, R.Y., 2001. Fish pathology. pp. 380-412. Third edition. Sunders, London, UK. ISBN: 978-1-444-33282-7.

Roche, D.G., Edgar, B.L., Franco, F.M. and Torchin, M.E., 2010. Higher parasite richness, abundance and impact in native versus introduced cichlid fishes. *International Journal for Parasitology,*40:1525–1530. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.05.007

Ross, L., 2000. Environmental physiology and energetics. pp. 89-128, In: Beveridge MCM, McAndrew, B.J. (ed.). Tilapias: Biology and Exploitation. Fish and Fisheries Series, 25, Kluwer Academic

A survey of infectious pathogens agents of the black Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* and red tilapia *Oreochromis* sp. in aquaculture systems, Bafq, Yazd

Rajabipour F.[1*]; Mashaii N. [1]; Jafari M. [1]; Zorrieh Zahra S J.[2];Ghasemi M[3]

[1]National Research center of Saline Water Aquatics, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO)

[2]Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO).Tehran,Iran

[3]Inland Waters Aquaculture Research center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e Anzali, Iran

Abstract

Aquaculture diseases and its damages have affected the aquaculture industry around the world. Tilapia is newly introduced to the aquaculture industry of Iran. While tilapia is a tolerant fish, there are reports of infectious diseases, and it is essential to plan for their prevention and control. Health surveys of tilapia breeding indoor systems were carried out at the National Research Center of Saline Water Aquatics (Bafq, Yazd) in 2012-2014. Parasitic, bacterial, fungal and viral studies of eggs, fries, brooders and cultured fish were performed by observing abnormal movement, nutrition and symptoms of the fish as well as unusual mortality. Infection with parasitic agents *Gyrodactylus* sp. and *Dactylogyrus* sp., bacterial agents *Streoptococcus* sp. and *Edwardsiella* sp. and fungi of *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp. determined. The samples were negative for Herpesvirus, EHNV and BIV viruses. Although pathogens and disease factors have been rarely observed in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and red hybrid tilapia, monitoring and enforcement of health guidelines is particularly important in preventing disease.

Keywords: Tilapia, infection, bacteria, fungi, parasite, virus

*Corresponding author: : Farhadrajabipour @yahoo.com