View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور

عنوان:

پایش شرایط بهداشتی و بررسی عوامل بیماریزای عفونی در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در بافق

مجری :
فرهاد رجبی پور

شماره ثبت
۴۸۹۰۱

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور

عنوان پروژه : پایش شرایط بهداشتی و بررسی عوامل بیماریزای عفونی در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در بافق
شماره مصوب پروژه : ۹۱۱۰۴-۱۲-۱۲-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : فرهاد رجبی پور
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : فرهاد رجبی پور
نامو نام‌خانوادگی همکاران: سید جلیل ذریه زهرا، سید مصطفی شریف روحانی نسرین مشائی، محمدمحمدی، حبیب سرسنگی، مریم قیاسی، محدث قاسمی، حمید پورمیرزایی ، زهرا معصومی ، منیره فئید
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : ابوالفضل سپهداری
محل اجرا : استان یزد
تاریخ شروع : ۹۱/۶/۱
مدت اجرا : ۱ سال و ۶ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۵
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»

پروژه : پایش شرایط بهداشتی و بررسی عوامل بیماریزای عفونی در کارگاههای تکثیر و پرورش تیلاپیا در بافق

کد مصوب : ۹۱۱۰۴-۱۲-۱۲-۲

شماره ثبت (فروست) : ۴۸۹۰۱ تاریخ : ۹۴/۱۲/۱۲

با مسئولیت اجرایی جناب آقای فرهاد رجبی پور دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت کارشناس در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱-تیلاپیا ۲
۱-۲- نیازهای پرورشی ۴
۱-۳- پیشینه ۷
۲- مواد و روشها ۱۱
۲-۱- باکتریها ۱۲
۲-۲- قارچها ۱۳
۲-۳- انگل ها ۱۴
۲-۴- ویروس ها ۱۴
۳- نتایج ۱۸
۳-۱-آلودگی باکتریایی ۱۸
۳-۲- آلودگی قارچی ۱۹
۳-۳- آلودگی انگلی ۲۱
۳-۴- ویروس ها ۲۲
۳-۵- فاکتورهای آب ۲۳
۴- بحث ۲۴
۴-۱- باکتریها ۲۴
۴-۲- قارچ ها ۳۱
۴-۳- انگل ها ۳۶
۴-۴- ویروس ها ۴۳
۴-۵- شرایط عمده ابتلاء تیلاپیا به بیماری ۴۵
۴-۶- مدیریت بیماری های تیلاپیا ۴۶
منابع ۵۱
پیوست ۵۵
چکیده انگلیسی ۶۹

چکیده

بیماری های آبزیان پرورشی و خسارات ناشی از آن بویژه در سال های اخیر صنعت آبزی پروری را در نقاط مختلف جهان تحت تأثیر قرارداده است. از آنجاکه تیلاپیا در مراحل نخست معرفی به صنعت آبزی پروری کشور بوده و درعین مقاوم بودن گزارشاتی از ابتلاء آن به بیماری های مختلف عفونی وجود دارد، لازم است بررسی بیماری ها و برنامه ریزی اصولی پیشگیری و کنترل آن مورد توجه قرار گیرد.

از مهرماه ۱۳۹۱ تا پایان سال ۱۳۹۲ بررسی و پایش بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور صورت گرفت. با مشاهده علائم غیرطبیعی ظاهری، حرکتی و تغذیه ای و تلفات غیرمعمول در تخم ها، بچه ماهیان، ماهیان پرورشی و مولدین، بررسی های انگلی، باکتریایی، قارچی و ویروسی انجام شد.

دراین بررسی وجود باکتری های *Streoptococcus* و *Edwardsiella*، قارچ های *Penicillium* و *Aspergillus*، منوژن های *Gyrodactylus* و *Dactylogyrus*، مشخص شد. آلودگی نمونه ها به ویروس های Herpesvirus، EHNV و BIV منفی بود.

گرچه عوامل پاتوژن و موارد بیماری در ماهیان تیلاپیای مورد بررسی بصورت معدود و موردی مشاهده شدند، اما پایش و اعمال دستورالعمل بهداشتی مدیریتی بویژه در زمینه پیشگیری از بروز بیماری ها بسیار اهمیت دارد.

کلمات کلیدی : تیلاپیا، تکثیر و پرورش، باکتری، قارچ، انگل، ویروس، ایران.

۱- مقدمه

۱-۱-تیلاپیا

تیلاپیا نام عمومی گروهی از ماهیان خانواده سیچلیده (Cichlidae) با منشأ داخل آفریقا با بیش از ۱۰۰ گونه و زیرگونه است. تیلاپیاها با داشتن یک خط جانبی منقطع که از خصوصیات ماهیان این خانواده است قابل تشخیص می‌باشند. اعضاء این خانواده دارای بدن از دو طرف فشرده و مرتفع با باله پشتی طویل هستند. بخش جلویی باله پشتی بشدت خارمانند شده، خارها در باله شکمی و مخرجی نیز وجود دارد. معمولاً نوارهای عمودی زیادی در دو طرف بدن بچه ماهی ها، انگشت قدها و بعضی بالغین یافت می شود.

در گذشته تیلاپیاهایی که مورد علاقه آبزی پروران هستند عضوی از جنس *Tilapia* شناخته می شدند. در دهه ۷۰ میلادی یک ماهی شناس با بررسی دقیق تر به این نتیجه رسید که این دسته از ماهیان مورد علاقه پرورش دهندگان باید در جنس *Sarotherodon* طبقه بندی شوند و در اوایل دهه ۸۰ میلادی بالاخره به این نتیجه رسیدند که آنها را باید در جنس *Oreochromis* طبقه بندی نمود گرچه نام عمومی تیلاپیا هنوز کاربرد دارد. طبق رده بندی Trewavas (1983) گونه های این خانواده اکنون در سه جنس رده بندی می شوند. گونه تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* یکی از اولین گونه‌های ماهیان پرورشی محسوب می شود (Stickney, 2000).

تیلاپیا از انواع مختلف ارگانیسم های طبیعی شامل پلانکتون ها، بعضی ماکروفیت ها، بی‌مهرگان آبزی، بنتوزها، لارو ماهیان، دیتریت ها و مواد آلی درحال تجزیه تغذیه می کند. تیلاپیاها می‌توانند با کارآیی بالا پلانکتون ها را از آب بگیرند. بیشتر گونه های تیلاپیاها همه چیزخوارند. آنها در مراحل اولیه از زئوپلانکتون ها تغذیه می نمایند اما ممکن است در نهایت از رژیم گیاهخواری یا از آمیزه‌ای از رژیم غذایی گیاهی و حیوانی استفاده کنند (Coward & Bromage, 2000; Blashine-Earn & Earn, 1998).

رفتارهای متمایز جفت‌گیری و تولیدمثلی تیلاپیاها، توجه زیست‌شناسان را به خود جذب کرده است. همه گونه‌های تیلاپیا آشیانه‌ساز هستند. نرها قلمرویی برای خود تعیین و از آن دفاع و در آن آشیانه کم عمقی حفر می نمایند. برعکس حالت چندزوجی جنس *Oreochromis*، در گونه‌های جنس *Tilapia* و *Sarotherodon* زوج هایی تشکیل می‌شود که تا چندین مرحله جفت‌گیری با یکدیگر بوده و ماده‌ها نیز در ساخت آشیانه همکاری می‌کنند. گونه‌های جنس های *Oreochromis* و *Sarotherodon* دهان لانه ای نامیده می‌شوند بدین معنی که پس از خروج تخمک و بارور شدن توسط ماهی نر، تخم ها در دهان ماده انکوبه و تفریخ می‌شوند. گونه‌های جنس *Tilapia* تخمریزهای بستر نامیده می‌شوند زیرا تخم ها در کف بستر و در آشیانه‌ای که توسط نر و ماده حفر می‌گردد گذاشته و تفریخ می‌شوند. والدین از تخم و بچه ماهی نورس مراقبت می‌کنند اما آن را در دهان نگه نمی‌دارند (Coward & Bromage, 2000; Blashine-Earn & Earn, 1998; Trewavas, 1983).

مهمترین ویژگی‌های پرورشی این ماهیان رشد سریع، مقاومت دربرابر طیف وسیع شرایط زیست محیطی مانند دما، نور، سرعت جریان، ذرات معلق، شوری، اکسیژن محلول، pH، مقاومت به بیماری ها و استرس، تحمل بالا

نسبت به کیفیت پایین آب و آمونیاک زیاد، قدرت تولیدمثل زیاد و تولید مثل در دوره زمانی کوتاه در شرایط اسارت، تغذیه از مواد غذایی ارزان، دسترسی آسان به منابع غذایی و امکان استفاده از غذای مصنوعی پس از جذب کیسه زرده است (El-Sayed, 2006; Popma & Masser, 1999). تیلاپیا دربرابر شوری زیاد، درجه حرارت بالا، اکسیژن محلول کم و غلظت زیاد آمونیاک، نسبت به اغلب ماهیان پرورشی قدرت تحمل بیشتر دارد. بعلاوه دربرابر بیماری‌های ویروسی، باکتریایی وانگلی نسبت به دیگر ماهیان پرورشی بویژه در دماهای بهینه رشد مقاومت زیادی دارد. تیلاپیا در مقایسه با گونه‌های پرورشی دیگر در شرایط پرورشی، فاقد بیماری است اگرچه در این زمینه درمورد وارد شدن استرس ها به ماهی استثناء وجود دارد. کاهش دمای آب و شرایط بالای تراکم در سیستم‌های مداربسته عمده‌ترین عوامل استرس برای ماهی تیلاپیا محسوب می‌شوند (Trewavas, 1983; http://www.aquaticcommunity.com/tilapia).

بیماری های تیلاپیا به دلایل زیر مورد توجه قرار می گیرد:

پرورش وسیع تیلاپیا در بسیاری از کشورها که باعث افزایش احتمال ابتلا به بیماری می گردد،

افزایش دادن آگاهی عمومی درباره تأثیر پرورش تیلاپیا در گسترش احتمالی بیماری های انسانی ضروری است،

حساسیت های زیست محیطی درمورد بروز بیماری های عفونی در کارگاه ها وجود دارد،

برنامه های افزایش جهانی صادرات و واردات تیلاپیا باید براساس افزایش استاندارد کیفیت صورت گیرد.

ضرورت سلامت و کنترل بیماری ماهیان پرورشی باتوجه به اهمیت جنبه های زیست محیطی، کنترل آلودگی، سلامتی انسان، کاربرد تکنولوژی های آبزی پروری، مراعات اصول بهداشتی، تشخیص و مداوای بیماری ها، فرموله کردن واقدامات پیشگیری از امراض و تلاش برای افزایش مقاومت آبزیان، بسیار روشن است (Pillay, 1965).

بعلاوه بیماری می تواند بر اقتصاد ماهی تیلاپیای پرورشی تأثیر بگذارد. مثلاً گزارش شده که در آمریکای لاتین وجود آفلاتوکسین در تولید تجاری تیلاپیا می تواند مشکل ساز بوده است. علت این آلودگی استفاده از غذای پلت آلوده به قارچ ها است. ماهی آلوده به آفلاتوکسین تغییرات آشکاری در روند رشد همراه با تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی نشان می دهد. این مشکل باید بلافاصله از طریق تولیدکنندگان خوراک و آبزی پروران پیگیری شود تا محصول نهایی از نظر نبودن آفلاتوکسین ضمانت شده و سپس به فروشگاه عرضه شود (Conory, 2001).

بیماری های آبزیان پرورشی و خسارات ناشی از آن بویژه در سال های اخیر، صنعت آبزی پروری را در نقاط مختلف جهان تحت تأثیر قرارداده و درمواردی موجب توقف کامل فعالیت ها و هدررفتن سرمایه های کلان شده است.

ازآنجاکه تیلاپیا در مراحل نخست معرفی به صنعت آبزی پروری کشور بوده و درعین مقاوم بودن این ماهی گزارشاتی از ابتلاء آن به بیماری های مختلف عفونی وجود دارد، لازم است بررسی بیماری ها و برنامه ریزی اصولی پیشگیری و کنترل آن مورد توجه قرار گیرد.

۲-۱- نیازهای پرورشی

تیلاپیاها عمدتاً در سیستم های تجاری آب شیرین پرورش می یابند اما نسبت به آب لب شور هم مقاوم هستند. تیلاپیای *O. niloticus* گونه غالب پرورشی دنیا محسوب می شود و دارای کمترین قدرت تحمل شوری در بین گونه‌های مهم تجاری است اما تا شوری ۱۵ppt رشد می کند. تیلاپیای آبی گونه *O. aureus* تا شوری ۲۰ppt خوب رشد می کند. بنابراین تیلاپیای موزامبیک و بعضی از تیلاپیاهای موزامبیک مشتق شده از تیلاپیای قرمز برای پرورش در آب شور ترجیح داده می‌شوند اما تیلاپیای نیل از وزن بازاری مطلوب تر و وزن بالاتر برخوردار است. گونه های *O. mossambicus* و *O. spilurus* تا شوری های نزدیک به شوری آب دریا رشد و در شوری بسیار بالا تولیدمثل هم می کنند. بدلیل مقاومت در برابر شوری، گونه های *O. spilurus* و *O. mossambicus* و تیلاپیای قرمز منشأ گرفته از این گونه ها برای آب شور ترجیح داده می شوند. مزیت دیگر مقاومت در برابر شوری آب است و از این نظر گونه *O. niloticus* می تواند گزینه خوبی برای استخرهای ساحلی آب لب شور باشد زیرا در آن مناطق تولیدمثل تیلاپیا مطلوب نیست (Stickney, 2000; Popma & Masser, 1999; Popma & Lovshin, 1995).

شوری بر توانایی تخمریزی تیلاپیا مؤثر است. گونه *O. mossambicus* در آب کاملاً شور دریا تخمریزی می کند اما گونه های *O. aureus* و *O. niloticus* در شوری های ۱۵ppt-۱۰ تولیدمثل می کنند. درمجموع تولید مثل این سه گونه تیلاپیا در آب شیرین و لب شور صورت می گیرد. گونه های *O. niloticus* و *O. aureus* در آب شیرین و لب شور تا ۵ppt تولید بچه ماهی می کنند اما با رسیدن شوری به ۱۰ppt تعداد بچه ماهیان نورس تولید شده کاهش می یابد. عملکرد تولیدمثلی تیلاپیای *O. mossambicus* در شوری های بیش از ۱۰ppt در مقایسه با آب شیرین کاهش می یابد. عملکرد تولیدمثلی هیبریدهای قرمز حاصل از تیلاپیا *O. mossambicus* نیز در آب شور کاهش می یابد. در شرایط مطلوب، هچری تیلاپیا باید با آب شیرین یا آب با شوری کمتر از ۵ppt فعالیت کرده و بچه ماهیان برای رشد بیشتر به شوری بالاتر انتقال یابند (Stickney, 2000; Popma & Masser, 1999; Popma & Lovshin, 1995).

عدم مقاومت تیلاپیا در برابر دمای پایین عامل محدود کننده جدی در تولید تیلاپیا در مناطق معتدل است. حد پایین دمای مرگ آور برای بیشتر گونه ها ۱۱-۱۰°C است اما گونه *O. aureus* که مقاوم ترین گونه در برابر سرما است دمای ۹-۸°C را تحمل می کند و به نظر می رسد که چنانچه با گونه های جنس *Oreochromis* هیبرید شود، مقاومت در برابر سرما از والد گونه *O. aureus* به فرزندان به ارث می رسد.

با کاهش دما تا کمتر از ۱۷°C-۱۶، عموماً تغذیه کاهش می یابد. تلفات ناشی از بیماری ها پس از جابجایی بشدت در دمای کمتر از ۱۸°C-۱۷ درجه روی می دهد. تولیدمثل در دمای کمتر از ۲۰°C مهار می شود، در دمای ۲۴°C-۲۱ کم است و در دماهای بیش از ۲۵°C بسیار افزایش می یابد. در نواحی نیمه گرمسیری و گرمسیری واجد فصل سرد، تعداد بچه ماهی تولید شده در زمانی که متوسط دمای میانگین روزانه آب به کمتر از ۲۴°C برسد کاهش می یابد.

دمای ترجیحی رشد تیلاپیا ۳۱°C-۲۹ است. چنانچه ماهیان تا حد سیری تغذیه شوند، رشد در دمای اپتیمم تا ۳ برابر بیش از دمای ۲۲°C خواهد بود. حداکثر مصرف غذا در دمای ۲۲°C به مقدار ٪۶۰-۵۰ مصرف در ۲۶°C است. ماهی تیلاپیا دما را تا ۴۰°C تحمل می کند اما در دمای بیش از ۳۸°C تلفات استرس آغاز می شود.

بهترین دما برای تولیدمثل دمای بالاتر از ۲۶°C است و تولیدمثل اغلب در دمای کمتر از ۲۰°C صورت نمی‌گیرد (Stickney, 2000; Popma & Masser, 1999; Popma & Lovshin, 1995).

ماهی تیلاپیا در دمای ۱۸°C-۱۶ در غیاب استرس محیطی معمولاً بندرت بیمار می شوند. اما مشکلات ویروسی، باکتریایی و انگلی بویژه پس از استرس ناشی از دمای پایین، جابجایی، تراکم زیاد و کیفیت پایین آب روی می دهد. آلودگی قارچی ساپرولینگا عمدتاً پس از جابجایی در دمای کمتر از ۲۰°C بروز می کند.

کالومناریس حاصل از *Flavobacterium columnare* سبب علائم پوستی شده و در دمای بالا و استرس آمونیاکی رخ می دهد. همین باکتری عامل آلودگی آبششی و تلفات شدید بچه ماهی نورس در دمای پایین می باشد.

لکه سفید ناشی پروتوزوئر انگلی ایکتیوفتیریوس (*Ichthyophthirius multifiliis*) سبب تلفات شدید بچه ماهیان نورس و بچه ماهیان جوان در سیستم بازگردشی متراکم می شود. این بیماری در نواحی گرمسیری که تولید تجاری تیلاپیا صورت می گیرد بدنبال افزایش دمای آب بیش از ۲۴°C-۲۰ روی می دهد که دمای اپتیمم این بیماری است. پروتوزوئرها در شرایط استرس و پایین بودن دما نیز تیلاپیا را آلوده می کنند (Popma & Lovshin, 1995).

سطح پایین اکسیژن محلول معمولاً اولین عامل محدودکننده پرورش متراکم ماهی در استخرها است. عموماً گونه های پرورشی تیلاپیا در برابر کمبود اکسیژن محلول تا سطح ۰/۵mg/lit بازماندگی خوبی دارند. این مقدار بطور قابل توجهی پایین تر از سطح مقاومت دیگر ماهیان پرورشی نسبت به اکسیژن محلول است. ماندگاری این ماهی در شرایط اکسیژن محلول کم در آب تاحدودی ناشی از توانایی استخراج اکسیژن از لایه سطحی آب است در شرایطی که تبادل اکسیژن بین آب و هوا صورت می گیرد. به همین دلیل رشد زیاد گیاهان شناور در شرایطی که اکسیژن پایین باشد، بازماندگی را کاهش می دهد.

برخلاف اینکه تیلاپیاها می توانند در برابر کمبود اکسیژن مقاومت نمایند، استخرها باید جهت حفظ اکسیژن در سطح ۳mg/lit-۲ مدیریت شوند، زیرا اکسیژن کم بمدت طولانی بر متابولیسم و رشد ماهی تأثیر منفی برجای می گذارد (Mjoun & Rosentrater, 2010; Popma & Masser, 1999; Popma & Lovshin, 1995).

تیلاپیا در آبی که نزدیک به خنثی یا کمی قلیایی باشد بهتر رشد می کند. در آب اسیدی رشد کاهش می یابد که احتمالاً ناشی از تولید کمتر غذای طبیعی است. بیشتر گونه های تیلاپیای پرورشی pH را تا ۵ تحمل می کنند. افزایش pH تا ۱۰ در ساعات بعد از ظهر اثری جدی بر تولید تیلاپیا ندارد. محدوده قلیایی مرگ آور ۱۱ و بیشتر است.

بطور معمول تیلاپیا قادر است در pH محدوده ۱۱-۳.۷ زنده بماند، اما بهترین محدوده pH برای تیلاپیا ۹-۷ است (Ross, 2000; Popma & Lovshin, 1995).

سمیت آمونیاک ارتباط نزدیک با pH دارد و در درجه دوم اهمیت است. در این مورد اکسیژن محلول اهمیت بیشتری دارد. در pH بالا درصد بیشتری از آمونیوم کل به شکل غیریونیزه سمی تبدیل می شود. در pH=۷ کمتر از ٪۱ ، در pH=۸ حدود ٪۹-۵، در pH=۹ حدود ٪۵۰-۳۰ و در pH=۱۰ حدود ٪۹۰-۸۰ آمونیوم کل سمی و غیریونیزه است. بنابراین سمیت آمونیوم در استخرهایی که وضعیت بافری ضعیف دارند (آلکالینیتی کمتر از ۳۰ میلیگرم در لیتر CaCO3 باشد) مشکل ساز می باشد که در این شرایط pH در ساعات بعد از ظهر به حدود ۱۰-۹ می رسد.

آمونیوم در دمای بالا سمی تر است. محدوده دمایی وجود شکل غیریونیزه $^{\circ}C$ ۳۲-۲۴ است. اکسیژن محلول کم نیز سمیت آمونیوم را افزایش می دهد اما در استخرهای پرورش ماهی این مورد تاحد زیادی با کاهش سمیت ناشی از افزایش تراکم CO_2 که pH را کاهش می دهد، متعادل می شود.

درصورتی که ماهی بطور ناگهانی به آب حاوی بیش از ۲mg/lit آمونیوم غیریونیزه منتقل شود پس از چند روز مرگ ومیر انبوه تیلاپیا مشاهده می شود. درعین حال با کاهش به سطوح پایین تر از سطح مرگ آور تقریباً نیمی از ماهیان ۴-۳ روز پس از آنکه آمونیوم غیریونیزه به ۳mg/lit برسد زنده می مانند.

قرار گرفتن طولانی تا چند هفته درمعرض تراکم بیش از ۱mg/lit آمونیوم غیریونیزه سبب تلفات بویژه در بچه ماهیان نورس و نمونه های جوان در آب های کم اکسیژن می گردد. اولین مرگ و میر ناشی از قرار گرفتن طولانی در معرض آمونیوم غیریونیزه، از تراکم ۰/۲mg/lit شروع می شود. از تراکم ۰.۰۸mg/lit آمونیوم غیریونیزه، اشتهای ماهی شروع به کاهش می کند (Popma & Masser, 1999; Popma & Lovshin, 1995).

نیتریت برای بسیاری از ماهی ها سمی است زیرا قابلیت حمل اکسیژن توسط هموگلوبین را کاهش می دهد و در اثر این سمیت یون های کلرید کاهش می‌یابند. تیلاپیا نسبت به بسیاری از ماهیان پرورش یافته در آب شیرین تحمل بیشتری نسبت به نیتریت دارد. برای حفاظت در برابر سمیت نیتریتی در سیستم‌های چرخشی آب، باید غلظت‌های کلرید اغلب درحد ۱۰۰-۱۵۰mg/l باقی بماند (Popma & Masser, 1999).

۳-۱- پیشینه

مستنداتی از پرورش تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* در مصر از ۵۰۰۰ سال قبل وجود دارد. در قرن اخیر، تیلاپیا در دهه ۴۰ میلادی برای نخستین بار در حوزه کارائیب معرفی شد و متعاقباً به بیشتر نواحی آمریکای لاتین و ایالات متحده آمریکا راه یافت و در اواخر دهه ۵۰ بعنوان اصلی‌ترین موضوع آبزی‌پروری در دانشگاه آبردن مورد مطالعه قرارگرفت. آزمایش‌های پرورش این آبزی در دهه ۱۹۲۰ میلادی در کشور افریقایی کنیا ثبت شده-است. معرفی تیلاپیا به قسمت‌هایی از آسیا احتمالاً از سال ۱۹۳۰ با وارد کردن *O. mossambicus* به جاوا بعنوان ماهی زینتی آغاز شد. در طی جنگ جهانی دوم، ژاپن تیلاپیا را در جنوب شرقی آسیا بطور وسیع پخش کرد. امروزه تیلاپیا بعنوان گونه‌ای بومی در بیشتر کشورهای آسیایی شناخته می‌شود (Stickney, 2000).

چین بزرگترین کشور تولیدکننده تیلاپیا در جهان است و پس‌از آن مصر، فیلیپین، اندونزی و تایلند قرار دارند. پرورش تیلاپیا در عربستان، فلسطین اشغالی، اردن، سوریه، هند، بنگلادش و ویتنام بشدت درحال توسعه است. تولید تیلاپیا در اغلب کشورهای آفریقایی و آمریکای لاتین نیز رواج دارد (El-Sayed, 2006). تولید جهانی تیلاپیا در سال ۲۰۱۱ به حدود ۴ میلیون تن رسید و درحال حاضر پرورش تیلاپیا در بیش از ۱۳۵ کشور جهان انجام می شود (FAO, 2014).

پرورش تیلاپیا در ایران از گذشته مدنظر متخصصین علوم شیلاتی کشور بوده است (فریدپاک، ۱۳۶۳ و ۱۳۶۵). پیگیری اجراء مطالعات درمورد تیلاپیا که از سال ها قبل در دستورکار مؤسسه تحقیقات شیلات ایران قرار داشت و تدارکات و مطالعات مقدماتی آن در ایستگاه تحقیقات ماهیان آب شور داخلی (بافق) از مراکز تابعه مؤسسه پیگیری می شد، منجر به اخذ مجوزها و ورود این ماهی در اواخر پاییز سال ۱۳۸۷ به ایستگاه گردید. اجراء این مطالعات در قالب طرح «بررسی امکان معرفی تیلاپیا به صنعت تکثیروپرورش آب های داخلی مناطق مرکزی ایران» (رجبی پور، ۱۳۹۱) آغاز گردید و مطالعات تیلاپیا جنبه های مختلف سازگاری و رشد، تکثیر و تولید بچه ماهیان نورس، تولید تک جنس نر، تغذیه، اقتصادی پرورش، ارزیابی اثرات زیست محیطی و فرآوری (بیطرف، ۱۳۹۱؛ رحمتی، ۱۳۹۲؛ سرسنگی، ۱۳۹۱؛ علیزاده، ۱۳۹۱؛ محمدی، ۱۳۹۱؛ مشائی، ۱۳۹۱؛ مرادی، ۱۳۹۲) انجام شده و بررسی ها در زمینه های مختلف ازجمله افزایش تولید درواحد سطح و تکنولوژی های نوین ادامه دارد. این بررسی نخستین مطالعه بیماری های تیلاپیا در داخل کشور محسوب می شود. اهمیت ملاحظات بهداشتی ماهیان تیلاپیا در بسترسازی توسعه این صنعت در کشور مورد توجه متخصصین بهداشت و بیماری های آبزیان قرار دارد (ذریه زهرا و همکاران، ۱۳۹۳).

باتوجه به نتایج موفقیت آمیز مطالعات و ازسوی دیگر برنامه های توسعه آبزی پروری در آب های داخلی و تمایل بخش های خصوصی و متقاضیان فراوان، آینده رو به توسعه ای برای این آبزی شیلاتی پیش بینی می شود. تیلاپیا مهم ترین گونه پرورشی در شرایط کم آبی و تولید در آب های لب شور است و خوشبختانه مطالعات معرفی آن به صنعت آبزی پروری آب های داخلی مناطق مرکزی کشور موفقیت آمیز بوده است. از آنجاکه ابتلا

به عوامل پاتوژن در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا یکی از عوامل مؤثر در روند اصولی توسعه محسوب می شود لازم است برنامه های بررسی وضعیت بهداشت و سلامت اینگونه از ماهیان به موازات دیگر مطالعات صورت گیرد.

تیلاپیاها نسبت به دیگر ماهیان پرورشی مقاومت زیادی در برابر بیماری های ویروسی، باکتریایی و انگلی نسبت به دیگر ماهیان پرورشی معمولی، بویژه در درجه حرارت های بهینه رشد دارند. همچنین در بسیاری از شرایط پرورشی، فاقد بیماری است اگرچه در این زمینه درمورد وارد شدن استرس ها به ماهی استثناء وجود دارد. کاهش دمای آب و شرایط بالای تراکم در سیستم‌های مدار بسته از جمله عمده ترین عوامل استرس برای ماهی تیلاپیا محسوب می شوند (Trewavas, 1983; http://www.aquaticcommunity.com/tilapia).

درعین حال تیلاپیا همچون دیگر آبزیان می تواند درمعرض ابتلاء به بیماری ها قرار گیرد. در این زمینه می توان به گزارشاتی از مشکلات حاصل از عدم کنترل عوامل بیماریزای عفونی در کارگاه های تکثیروپرورش تیلاپیا در مناطقی از جهان، ازجمله برخی از عوامل باکتریایی استرپتوکوک و استافیلوکوک، قارچ ساپرولگنیا، پروتوزوئر تریکودینا و انگل های خارجی منوژنتیک اشاره نمود.

تا ده سال پیش تصور می شد که بیماری در این آبزی پرورشی وجود ندارد. اما امروزه مشخص شده که بیماری هایی در این ماهیان یافت می شود که برخی بسیار جدید و برخی قدیمی هستند و با آثار جدید بروز می کنند (www.americulture.com/Disease.htm) Americulture, 2011.

گونه های مختلف تیلاپیا از دریاچه منزله در مصر جمع آوری و از نظر آلودگی انگلی بررسی شدند. ۵۷/۹ ٪ نمونه ها آلوده بودند. انگل ها شامل پروتوزوئر تریکودینا (*Trichodina*)، مونوژن داکتیلوژیروس (*Dactylogyrus*)، کوپه پود لرنه آ (*Lyrnea*) ارگاسیلوس (*Ergasilus*) و انگل آکانتوسفال بود (Ramazan, 1991). در مصر بیماری قارچی پس از آلودگی باکتریایی مهمترین عامل مشکلات تولید ماهی تیلاپیا و خسارت به ماهیان پرورشی ازجمله تیلاپیا محسوب می شود. در بررسی تیلاپیاهای نیل پرورشی در قفس های شناور با تراکم ذخیره سازی زیاد، آلودگی به قارچ ساپرولگنیا (*Saprolegnia*) مشاهده شد. بیشترین آلودگی بترتیب در پوست، باله ها، چشم ها و دهان بدست آمد اما در کبد و کلیه آلودگی وجود نداشت (Abou- El-Atta, 2008).

در برزیل بویژه در مناطق جنوبی این کشور که پرورش متراکم تیلاپیا انجام می شود انواع *Trichodina* عمومی ترین پروتوزوئر آلوده کننده تیلاپیای نیل پرورشی هستند و اغلب درحد گونه شناسایی نشده اند. این انگل ها از عوامل مهم بروز بیماری در این ماهیان بوده و اغلب میزبان ویژه نیستند. مونوژن ها، متازوآهای انگلی مهمی هستند که تیلاپیای پرورشی را در برزیل آلوده می کنند هرچند گزارشات مبنی بر مرگ ومیر ماهیان تیلاپیا بدلیل آلودگی شدید به این انگل ها کم است. تنوع انگل های تیلاپیای نیل پرورشی بستگی به اختلافات اندازه و سن ماهی، کیفیت آب و مدیریت سیستم پرورش هر مزرعه دارد. فون انگلی ماهیان تیلاپیا در برزیل متشکل از

پروتوزوئرها، کرم های انگلی دی ژنه آ، مونوژنه آ و سخت پوستان است. تریکودیناها فراوان ترین پروتوزئرها هستند (Pantoja et al., 2012).

در تیلاپیای نیل پرورشی بنگلادش *Trichodina* مهمترین عامل انگلی هستند و متناسب با فصل ۲۴.۲-۹۰.۲ درصد شیوع دارند. بیشترین شیوع در تراکم های بالا مشاهده می شود و وابسته به عوامل فیزیکی و شیمیایی آب است. بسیاری از تریکودیناها پراکنش جهانی دارند که ناشی از انتقال ماهی بین قاره ها است. افزایش تریکودیناها با افزایش دما و مواد آلی در محیط پرورش متناسب است.

در بنگلادش مونوژن ها دومین عامل انگلی تیلاپیای پرورشی بوده و شیوع آنها وابسته به عوامل فیزیکی و شیمیایی آب است. در نواحی گرمسیری این انگل ها و میزبان آنها بیواندیکاتور مفیدی برای ارزیابی کیفیت زیست محیطی می باشند. شدت بیماری بستگی به میزان آسیب زایی گونه مونوژن و شرایط تغذیه میزبان دارد (Banu & Khan, 2004).

کرم های انگلی مونوژنه آ و دیژنه آ از آلودگی های مهم تیلاپیا اما معمولاً با آسیب رسانی کم هستند و تأثیر جزئی بر رشد ماهی دارند. انگل های سخت پوست مانند آرگولوس (*Argulus*)، ارگاسیلوس (*Ergasilus*) و لرنه آ (*Lernaea*) نیز باعث تلفات شدید شده اند. این انگل ها بیشتر از آفریقا و فلسطین اشغالی که تیلاپیا بصورت توأم با کپور معمولی کشت می شود گزارش شده اند (Popma & Lovshin, 1995). در منابع آبی شمال آفریقا بویژه مصر که تیلاپیای نیل بطور طبیعی گسترش دارد، حضور قارچ های زئوسپوری گزارش شده است. این قارچ ها از منابع آب باران، استخرها، دلتای نیل و دریاچه ها جمع آوری شده اند. گونه های قارچ های استرامینی پایل (Straminipile) روی آلوین (alevin) های تیلاپیای نیل در منابع آبی لهستان و روی تخم ماهیان دیگر در اروپا و آسیا یافت می شوند. این قارچ ها در برخی از گونه های ماهیان سبب عارضه پوستی و مرگ و میر می شود (Czeczuya etal., 2014).

بیماری های شایع تیلاپیا در تایوان بیماری های انگلی، باکتریایی و قارچی هستند که بیشترین آسیب را مونوژن ها و پروتوزوئرها می رسانند. کیفیت آب و دما عوامل طبیعی موثر بر ابتلاء به انگل ها هستند. باکتری های شایع شامل آئروموناس (*Aeromonas*)، سودوموناس (*Pseudomonas*) و استرپتوکوکوس (*Streptococcus*) هستند. در تایوان انگل های مختلفی تیلاپیای پرورشی را آلوده می کنند اما گزارش نمی شوند (Tang & Nelson, 1998).

کاستاریکا، اکوادور و هندوراس صادرکننده مهم فیله تازه تیلاپیا به آمریکا هستند. عوامل بیماریزای تیلاپیای پرورشی در آمریکای لاتین در ۳ دسته باکتری ها، میکوزها (Mycoses) و انگل ها مطرح می شوند (Conory, 2001).

بررسی های انجام شده نشان می دهد که در بیشتر سیستم های متراکم پرورش ۸-۶ بیماری عفونی مهم وجود دارد که باید قبل از شروع دوره پرورش از آنها پیشگیری نمود. پس از ۵ سال نمونه برداری و بررسی بیماری در مناطق آسیا، اقیانوسیه، آفریقا، آمریکایی لاتین مشخص شده است که چهار باکتری *Streptococcus agalactiae*، *S.*

iniae، *Flavobacterium columnare* و عوامل شبه ریکتزیا که اخیراً به نام *Francisella* نامیده می شود و بعلاوه عوامل ویروس ایریدویروسی، چند نوع انگل خارجی تریکودینا *Trichodina* و آمیلودینیوم (*Amyloodinium*)، قارچ های ساپرولگنیا (*Saprolegnia*) و برانشیومیسس (*Branchiomyces*) و عوامل میکروبی *Edwardsiella tarda* و *Nocardia seriolae* عامل اصلی بیماری تیلاپیاهای پرورشی می باشند (Komar, 2008).

مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب های شور در منطقه ای کویری شهرستان بافق یزد قرار دارد. منبع تأمین آب جهت آبزی پرروی در منطقه آب های لب شور زیرزمینی هستند. بدلیل عدم وجود منابع آب های آزاد در منطقه و عدم ارتباط سفره های زیرزمینی، شرایط کاملاً بسته است. بدلیل هدایت الکتریکی زیاد آب ها (۱۳۰۰۰<EC<۲۲۰۰۰ میکروموس برسانتیمتر) هیچ گونه استفاده بهداشتی، کشاورزی و صنعتی ندارند. سطح آب های زیرزمینی در منطقه بالا و دارای پوشش گیاهی ضعیف است. شوری آب در نزدیکی سطح تقریباً ۲۰ گرم درلیتر و با افزایش عمق کاهش می یابد. شوری آب و بسته بودن منابع آبی از ویژگی های منابع آبی آبزی پروری منطقه هستند که بر بهداشت و ایمنی این فعالیت ها مؤثر می باشند.

در مطالعه حاضر، ضمن پایش روند تکثیر و پرورش تیلاپیا در کارگاه ها و سیستم های مختلف پرورش دردست اجراء مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب های شور، علاوه بر عوامل محیطی مؤثر بر تکثیر و پرورش، علائم غیرطبیعی ظاهری و رفتاری ماهیان، عوامل احتمالی بیماریزای عفونی (ویروسی، قارچی، باکتریایی و آلودگی های انگلی) نیز در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در این مرکز بررسی و ثبت شد.

۲- مواد و روش ها

پروژه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در کشور در کارگاه های پژوهشی مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور صورت می گیرد. از پاییز سال ۱۳۹۱ تا پایان سال ۱۳۹۲ پایش بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا تیلاپیای سیاه *Oreochromis niloticus* و هیبرید قرمز *Oreochromis* sp. در این مرکز صورت گرفت.

فضاهای مورد بررسی شامل موارد زیر هستند:

وان های پلی اتیلنی نگهداری مولدین تیلاپیا : در این وان ها مولدین با تراکم های ۲، ۳.۵ و ۵ قطعه برمترمکعب با میانگین وزن ۴۰۰ گرم نگهداری می شدند. تغذیه مولدین با خوراک پلت حاوی ٪۳۹ پروتئین صورت گرفت.

انکوباتورهای تخم تیلاپیا: تخم تیلاپیا پس از استخراج از دهان مولدین ماده، در انکوباتورهای شیشه ای با تراکم های مختلف ۱۵۰۰-۱۰۰۰ عدد درلیتر ذخیره و به مدت حدود ۸ روز تا تبدیل به کیسه زرده نگهداری می شدند.

حوضچه های پلی اتیلنی نرسینگ بچه ماهیان: بچه ماهیان نورس تا مرحله کمتر از یک گرم در وان های ۳۰۰ لیتری با تراکم ۳۰۰۰-۱۰۰۰ قطعه بر مترمکعب نگهداری می شدند. بچه ماهیان در این مرحله با غذای آغازین قزل آلا (SFT000) حاوی ۵۴ درصد پروتئین تغذیه شدند. با رشد بچه ماهیان، تراکم کاهش یافته و بچه ماهیان انگشت قد در تانک های ۳۰۰۰ لیتری نگهداری می شدند. جهت تغذیه از خوراک آغازین قزل آلا (SFT3) حاوی ٪۵۴ پروتئین و غذای دست ساز که پودر ماهی در ترکیب آن بکار رفته بود استفاده شد.

حوضچه های بتنی: ماهیان انگشت قد با میانگین وزن ۱۰ گرم در حوضچه های بتنی ۳۰ مترمکعبی با تراکم ۴۰۰-۳۰۰ قطعه برمترمکعب جهت اجرا مراحل بعدی پرورش نگهداری می شدند. تغذیه این ماهیان با خوراک پلت حاوی ٪۵۴ پروتئین صورت گرفت.

در حوضچه های بتنی ماهیان پرورشی با تراکم ۸۰-۶۰ قطعه برمترمکعب تا وزن حدود ۶۰۰ گرم نگهداری شدند. تغذیه این ماهیان نیز با استفاده از خوراک قزل آلا حاوی ٪۳۹ پروتئین انجام شد.

(Elsayed, 2006; Bhujel et al., 2001).

فاکتورهای عمده آب شامل دما، pH و اکسیژن توسط مولتی پارامتر Hach، آمونیوم و نیتریت بااستفاده از اسپکتروفتومتر WTW بررسی و ثبت شدند.

با مشاهده علائم غیرطبیعی ظاهری، حرکتی و تغذیه ای و تلفات غیرمعمول در ماهیان پرورشی، مولدین، بچه ماهیان و تخم ها، نمونه برداری و بررسی کلیه نمونه های دارای علائم غیرمعمول و تعدادی از نمونه های فاقد علائم در همان تانک یا انکوباتور صورت گرفت. نمونه ها ازنظر ابتلاء به عوامل انگلی، باکتریایی، قارچی و ویروسی مورد بررسی قرار گرفتند.

از آغاز مطالعات تیلاپیا با مشاهده علائم غیرطبیعی در بچه ماهیان باتوجه به نیاز به اخذ نتایج قطعی تشخیص عوامل بیماری، برای کنترل عوامل بیماریزای احتمالی از محلول های ضدعفونی کننده معمول شامل فرمالین

۲۵۰ppm به مدت ۴۰-۳۵ دقیقه و پرمنگنات پتاسیم با دوز 5ppm به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه (Nguenga, 1988) استفاده شد.

در موارد بروز و پایداری علائم بیماری پس از کاربرد روش های ضدعفونی، نمونه های ماهیان بیمار از حوضچه های پرورش صید و معدوم شدند.

در کنار کنترل روزانه علائم ظاهری و رفتاری ماهیان، تعبیه حوضچه حاوی محلول پرمنگنات پتاسیم در ورودی کارگاه ها، رعایت اصول بهداشتی توسط پرسنل، نظافت روزانه کف، دیواره ها، ظروف و تجهیزات از اصول مورد توجه در کارگاه های مرکز بود.

۱-۲- باکتری ها

جهت بررسی عوامل باکتریایی بیماری های مایکوباکتریوسیس (Mycobacteriosis)، استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis)، استافیلوکوکوزیس (Staphylococcosis)، موتیل ایروموناس سپتیسمیا (motile aeromonas septicemia)، ویبریوسیس (Vibriosis)، کالومناریس (Columnaris)، ادواردزیلوسیس (Edwardsiellosis) و باکتری های سودوموناس (Pseudomonas)، نمونه ها به آزمایشگاه های تشخیص طبی دانشگاه علوم پزشکی یزد و بیمارستان ولیعصر بافق ارسال گردید. درمواردی با مشاهده نمونه های مشکوک به آلودگی باکتریای، با استفاده از محیط کشت Blood agar و «Eosin Methylene Blue» (EMB) و «Tryptic Soy Aga» (TSA) اقدام به کشت میکروبی در آزمایشگاه مرکز تحقیقات آبزیان بافق گردید. به این منظور، پس از قرار گرفتن نمونه بمدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد و رنگ آمیزی گرم (Gram)، نتایج کشت ها بررسی شدند.

برای پایش مزارع مشکوک به بیماری حداقل ۱۰-۵ ماهی از مزرعه باید آزمایش شود. به این منظور باید رنگ آمیزی گرم نمونه بافت مغز، کبد، طحال و کلیه صورت گیرد.

در بررسی ها برای رنگ آمیزی گرم، کیت رنگ آمیزی گرم (شرکت لاب ترون، سریال ۸۷۰۸۹) بکار رفت.

برای تشخیص افتراقی باکتری ها، از روش های رنگ آمیزی و آزمایش های بیوشیمیایی استفاده شد.

مایکوباکترها در رنگ آمیزی گرم، رنگ ضعیفی می گیرند. در روش رنگ آمیزی افتراقی زیل نلسن (Ziehl-Neelsen, Acid fast)، رنگ مایل به قرمز حاکی از باکتری های اسیدفست مانند مایکوباکتریوم، و رنگ آبی سایر موارد را از هم تفکیک می کند. رنگ مورد استفاده محصول شرکت کاردان طب (MSZ-3907) بود.

برای افتراق باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس آزمایش کاتالاز (Catalase) صورت گرفت. ایجاد حباب گاز یا کاتالاز مثبت مربوط به استافیلوکوک و کاتالاز منفی مربوط به استرپتوکوک است.

برای تشخیص افتراقی باکتری های گرم منفی آزمایش سیتوکروم اکسیداز (Cytochrome oxidas) انجام شد. در این روش کلنی های باکتری های اکسیداز مثبت بلافاصله پس از آزمایش به رنگ بنفش درمی آیند. ویبریوناسه (Vibrionaceae)، سودوموناسه (Pseudomonaceae)، فلاوباکترها (Flavobacteriaceae) و ائروموناس (*Aeromonas*)

سیتوکروم اکسیداز مثبت، و ادواردزیلا (Edwardsiella) و یرسینیا (Yersinia) سیتوکروم اکسیداز منفی هستند. تست اکسیداسیون و تخمیر (Oxidation Fermentation OF Glucose Test) برای ادواردزیلا و یرسینیا منفی است.
برای تفکیک یرسینیا و ادواردزیلا تست بتاگالاکتوزیداز (β-Galactosidase) انجام می شود. باکتری های بتاگالاکتوزیداز مثبت محیط را برنگ زرد درمی آورند. یرسینیا بتاگالاکتوزیداز مثبت، و ادواردزیلا بتاگالاکتوزیداز منفی است (Whitman, 2004; Roberts, 2001).

۲-۲- قارچ ها

به منظور بررسی عوامل قارچی ساپرولگنیا (*Saprolegnia*)، برانشیومیسس (*Branchiomyces*) و آسپرژیلوس (*Aspergillus*) از تخم، بچه ماهی کیسه زرده و نورس، بافت های پوست، آبشش ماهیان تیلاپیا نمونه برداری شد. همچنین نمونه آب ورودی و خروجی کارگاه ها و خوراک مورد استفاده در تغذیه ماهیان از نظر آلودگی قارچی بررسی گردید. جهت بررسی عوامل قارچی نمونه ها به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر (ساری) ارسال شدند.

نمونه برداری

نمونه برداری از تخم: برای جداسازی قارچ از تخم، ۱۰-۵ تخم پوشیده از میسلیوم قارچ با استفاده از پنس از داخل هچری برداشت، به ظروف پلاستیکی درپوش دار حاوی آب مقطر استریل و کلرامفنیکل به میزان ۱۰mg/l منتقل و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شدند.
نمونه برداری ازبدن ماهی (پوست و آبشش): بااستفاده از پنس و تیغ اسکالپل قطعاتی با قطر تقریبی ۲cm از پوست و آبشش ماهی جدا و به ظروف پلاستیکی درپوش دار حاوی آب مقطر استریل و کلرامفنیکل به میزان ۱۰mg/l منتقل و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شدند.
نمونه برداری از آب: جهت اینکار از ظرف پلاستیک استریل استفاده گردید به نحوی که در کنار محل ورودی و خروجی آب در ظرف باز شده و ظرف از آب مورد نظر کاملاً لبریز و بلافاصله درب آن بسته شد.
نمونه برداری از خوراک: ۵ گرم از هر بسته که بعنوان نمونه انتخاب شده بود برداشته در بسته های پلاستیکی ریختیم.

آماده سازی

محیط کشت: از محیط سابرو دکستروز آگار استفاده گردید. پس از آماده سازی و استریل شدن میزان ۵۰mg/l کلرافنیکل و ۱۶۰mg/l جنتامایسین به محیط کشت جهت جلوگیری از بروز آلودگی های باکتریایی اضافه گردید.
آماده سازی خوراک: ۱g از نمونه خوراک را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته، به مدت ۵ دقیقه بر روی شیکر کاملا به هم زده و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید.

کشت

کشت پوست و آبشش: نمونه‌ها با استفاده از پنس استریل از ظروف نمونه‌برداری خارج و در داخل پلیت استریل به قطعات در حدود mm^2 ۳-۲ بریده و در داخل محیط کشت بصورت تلقیحی کشت داده شدند.

کشت از نمونه آب: پس از سانتریفوژ در دور ۴۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی تخلیه و از رسوب باقی مانده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بصورت خطی در سطح محیط کشت داده شد.

کشت نمونه خوراک: از نمونه‌های آماده شده خوراک از مایع رویی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بصورت خطی در سطح محیط کشت داده شد.

(Hageskal et al., 2009; Roberts, 2001; Samson, et al., 2001).

۳-۲- انگل ها

به منظور بررسی عوامل انگلی پروتوزوآ و کرم های انگلی، در حوضچه هایی که بچه ماهیان علائم غیرطبیعی نشان می دادند ۲۵ نمونه تصادفی جمع آوری گردید. نمونه ها بیومتری شده و سطح خارجی پوشش بدن و آبشش ها در زیر لوپ ازنظر انگل خارجی بررسی و مونته مرطوب تهیه شد. سپس در هریک از نمونه ها حفره بطنی بدن و احشا (لوله گوارش، کلیه، کبد، کیسه هوا) ازنظر وجود عوامل انگلی بررسی گردید. در نمونه های آلوده به انگل منوژن پس از اندازه گیری طول کل بدن بچه ماهیان بوسیله کولیس، انگل ها در آب لب شور محیط پرورش موقتاً مونته و بررسی شدند. همچنین بخشی از بافت آلوده در زیر لوپ به کمک اسکالپل برداشته و انگل از بافت جداسازی شد وتوسط فرمالین ۱۰٪ تثبیت گردید. شیوع و آلودگی ماهیان به انگل بررسی شد. شناسایی نمونه ها تاحد خانواده بااستفاده از منابع موجود صورت گرفت. برای تفکیک دو جنس ژیروداکتیلوس و داکتیلوژیروس از یکدیگر مهمترین ویژگی هایی که باید مورد توجه قرار گیرد وجود تخم های قابل رؤیت در بدن داکتیلوژیروس و داشتن چهار لکه چشمی است درحالیکه ژیروداکتیلوس فاقد لکه چشمی بوده و زنده زا است.

(Roberts, 2001; Gussev, 1985).

۴-۲- ویروس ها

برای بررسی عوامل ویروسی، نمونه برداری از نمونه های بزرگ تر از سطح خارجی بدن و اندام های داخلی شامل کبد، کلیه و مغز صورت گرفت. جهت بررسی عوامل ویروسی نمونه ها در تانک ازت به پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی (انزلی) ارسال شدند.

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 و آزمون PCR با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی انجام شد.

آزمایش واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR)

مواد و وسایل مورد نیاز: کیت استخراج DNA ساخت شرکت کیاژن، پرایمرهای اختصاصی، پودر آگاروز، فسفات بافر سالین (PBS)، آنزیم پلیمراز، دستگاه ترمال سایکلر، میکروتیوپ ۰/۲ ، ۰/۵ و ۱/۵، dNTP، تانک الکتروفورز افقی، دستگاه ژل داکیومنتیشن، ترموبلاک، سر سمپلر، $MgCl_2$، پرینتر حرارتی، سانتریفیوژ با دور ۱۴۰۰۰ rpm، بافر PCR، محلول TAE، آب مقطر.

استخراج DNA

برای استخراج DNA از کیت تجاری DNeasy Blood & Tissue ساخت شرکت کیاژن طبق دستورالعمل شرکت سازنده به شرح زیر استفاده شد:

۱- در ابتدا هر یک گرم نمونه بافتی در ۵cc محیط کشت (EMEM) «Egle's Minimum Essential Medium » در هاون چینی کاملا هموژن گردیده و ۳۰۰ میکرولیتر از هموژن حاوی DNAکلی بافت و ویروس به ستون استخراج منتقل گردید.

۲- ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K به آن اضافه کرده و سپس ۲۰۰ میکرولیتر بافر AL(بدون اتانول) در داخل میکروتیوب حاوی مواد بالا ریخته شد و بوسیله ورتکس کاملاً مخلوط شده و بعد در دمای $56^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد.

۳- پس از اینکه نمونه ها کاملاً لیز و یکنواخت شد ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰-۹۶ درجه به نمونه اضافه و بوسیله ورتکس مخلوط گردید.

۴- همه مواد موجود در میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری مرحله ۳ را در ستون فیلتردار مخصوص کیت (Mini spin column) که در داخل میکروتیوب ۲ میلی لیتری قرار دارد، انتقال داده و در دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نموده، سپس ستون فیلتر دار را به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل کرده و میکروتیوب قبلی به همراه مواد داخل اش دور انداخته شد.

۵-۵۰۰ میکرولیتر بافر AW1 به ستون فیلتردار اضافه شده و در دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید و دوباره ستون ستون فیلتر دار را به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل کرده و میکروتیوب قبلی به همراه مواد داخل آن دور انداخته شد.

۶- مجدداً ۵۰۰ میکرولیتر بافرAW2 به ستون فیلتردار اضافه شده و در دور ۱۴۰۰۰rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ گردید و دوباره ستون فیلتر دار را به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل کرده و میکروتیوب قبلی به همراه مواد داخل آن دور انداخته شد.

۷- ستون فیلتر دار در یک میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری استریل که در کیت موجود نیست قرار داده شد.۲۰۰ میکرولیتر بافر AE به آن افزوده و ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس با دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد.

۸- مجدداً مرحله ۷ در یک میکروتیوب تمیز انجام شد تا بیش از ۸۵٪ از DNA در این دو مرحله استخراج گردد. DNA استخراج شده تا زمان استفاده در آزمون PCR در فریزر $-۲۰^{\circ}C$ نگهداری شد.

۹- واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) با استفاده از پرایمر اختصاصی.

مراحل PCR یا تکثیر (Amplification) ژن مورد نظر با استفاده از جفت پرایمرها طبق جدول ۱ صورت گرفت.

همه پرایمر ها به وسیله شرکت A/S در دانمارک از طریق شرکت ژن فن آوران ساخته شدند.

بدلیل موجود بودن کنترل مثبت و جفت پرایمر اختصاصی EHNV که یک ایریدوویروس دیگر است به عنوان کنترل مراحل PCR مورد استخراج DNA و PCR قرار گرفت.

الکتروفورز محصول PCR و عکس برداری از ژل آگاروز

محصول نهایی PCR برروی ژل آگاروز ۱/۵٪ محتوی ۵-۱ میکروگرم درمیلی لیتر اتیدیوم بروماید بمدت ۶۰ دقیقه با ولتاژ ۸۵ ولت الکتروفورز شد. تصویر ژل های تهیه شده با دستگاه عکسبرداری ژل ساخت شرکت UVP ثبت گردید.

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

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'			

نوع و مقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره ای PCR در جدول ۲ ذکر شده است.

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	۵U/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 25 میکرولیتر

Office International des Epizooties (OIE), 2012; Cullen & Owens, 2002; Marsh et al., 2002

۳- نتایج

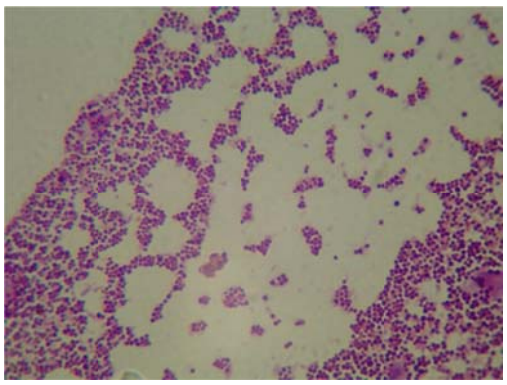
از بررسی و پایش بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب های شور از پاییز ۱۳۹۱ تا پایان سال ۱۳۹۲ نتایج زیر بدست آمد.

۳-۱- باکتری ها

از بافت مغز و چشم نمونه های ماهیان تیلاپیای مولد سیاه و قرمز یک ساله و ماهیان پرورشی حوضچه های بتنی که در اوایل زمستان سال ۹۲ نمونه برداری شده بود، *Streptococcus* sp. بدست آمد. در ماهیان مبتلا به این باکتری مواردی از اختلالات چشمی، خونریزی چشم، خونریزی پوستی، آب آوردگی شکم، کاهش تغذیه و در بررسی احشاء تورم طحال و کلیه مشاهده گردید. در استخرهای خاکی هیچ بچه ماهی و ماهی پرورشی مبتلا به استرپتوکوک مشاهده نشد.

این کوکسی گرم مثبت، اسیدفست منفی، غیرمتحرک، کاتالاز منفی و اکسیداز مثبت است.

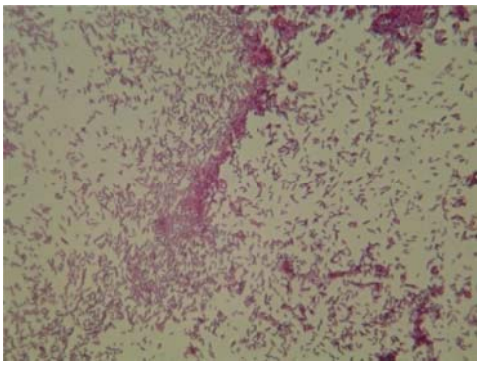
تصویر ۱. خوردگی باله دمی، بیرون زدگی چشم و رکتوم و تورم شکم در ماهی تیلاپیای آلوده به *Streoptococcus*



تصویر ۲. نمای میکروسکوپی کوکسی گرم مثبت *Streoptococcus* (×۱۰۰۰)

در فصل بهار سال ۹۲ در مولدین یک ساله تیلاپیای قرمز که با علائم غیرطبیعی شامل 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، نتایج آزمایشات منجربه تشخیص باکتری میله ای شکل گرم منفی *Edwardsiella* sp. از خانواده Enterobacteriaceae شد. این باکتری همچنین در بچه ماهیان نورس با علائم بروز تلفات و شنای چرخشی، حرکات مارپیچی یافت شد.

نتیجه کشت بر روی محیط کشت EMB باتوجه به واکنش منفی در آزمایش اکسیداسیون و تخمیر و نیز سیتوکروم اکسیداز، کاتالازمثبت *Edwardsiella* sp. بدست آمد.



تصویر ۴. نمای میکروسکوپی باسیل گرم منفی *Edwardsiella* (×۱۰۰۰)

تصویر ۳. بیرون زدگی چشم ماهی تیلاپیای آلوده به *Edwardsiella*

۲-۳- آلودگی قارچی

در تانک های حاوی بچه ماهیان انگشت قد که علائم شامل کندی حرکت و بی حالی، کم اشتهایی، تغییر رنگ پوست به تیره و تلفات جزئی داشتند، بررسی ازنظر ابتلاء به عوامل قارچی صورت گرفت. تیره رنگ شدن بچه

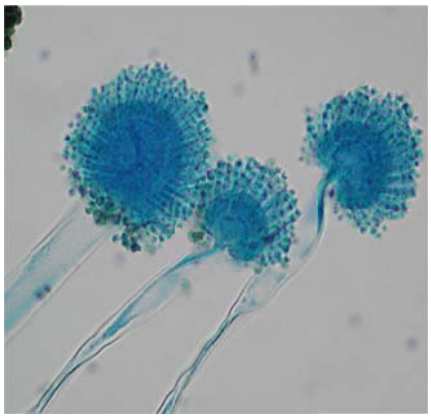
ماهیان تیلاپیای سیاه آلوده و جدا شدن آنها از گله مشهود بود. در انکوباتورهایی که تخم ها برنگ سفید کدر درآمده و شکوفایی آنها بشدت کاهش می یافت، آلودگی قارچی مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی ها نشان داد که از نمونه هایی که در اوایل دی ماه ۹۲ بدلیل علائم غیرطبیعی و احتمال آلودگی قارچی بررسی شدند، آلودگی به قارچ پنیسلیوم (*Penicillium*) در نمونه های تخم، بافت آبشش ماهیان تیلاپیای مولد و پرورشی و بچه ماهیان انگشت قد وجود داشت. پنیسلیوم در آب خروجی کارگاه ها و نمونه خوراک بچه ماهیان نیز گزارش شد. بعلاوه بچه ماهیان انگشت قد به آسپیروژیلوس (*Aspergillus*) آلوده بودند. (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج مربوط به کشت نمونه های قارچی بدست آمده از کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا

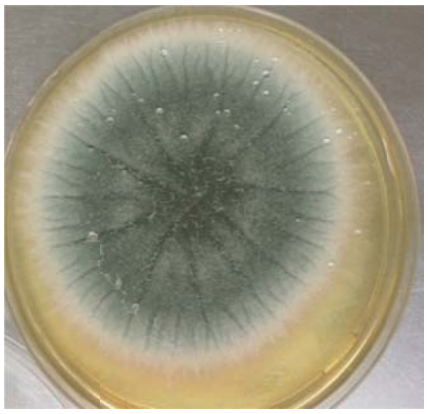
آبشش ماهی مولد	پوست ماهی مولد	آبشش ماهی پرورشی	پوست ماهی پرورشی	آبشش بچه ماهی انگشت قد	پوست بچه ماهی انگشت قد
پنیسلیوم (۱ پرگنه)	منفی	پنیسلیوم (۱ پرگنه)	منفی	آسپرژیلوس (۱ پرگنه) پنیسلیوم (۱ پرگنه)	منفی
بچه ماهی نورس	**تخم**	**آب ورودی**	**آب خروجی**	**پودرماهی**	**غذای مولد**
منفی	پنیسلیوم (۶ پرگنه)	منفی	پنیسلیوم (۱۴ پرگنه)	پنیسلیوم (۱ پرگنه)	منفی

(الف

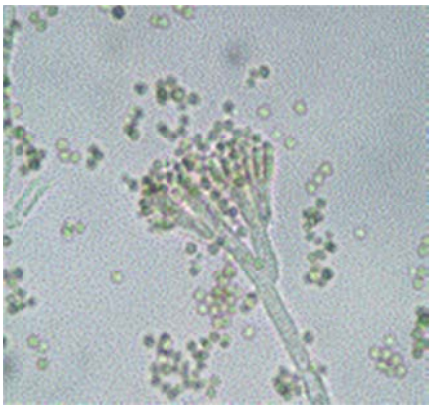


(ب)

تصویر ۵. (الف) نمای ماکروسکوپی قارچ آسپرژیلوس در محیط کشت، (ب) نمای میکروسکوپی آسپرژیلوس، در مطالعه حاضر.



(الف)



(ب)

تصویر ۶. (الف) نمای ماکروسکوپی قارچ پنیسلیوم در محیط کشت، (ب) نمای میکروسکوپی پنیسلیوم، در مطالعه حاضر.

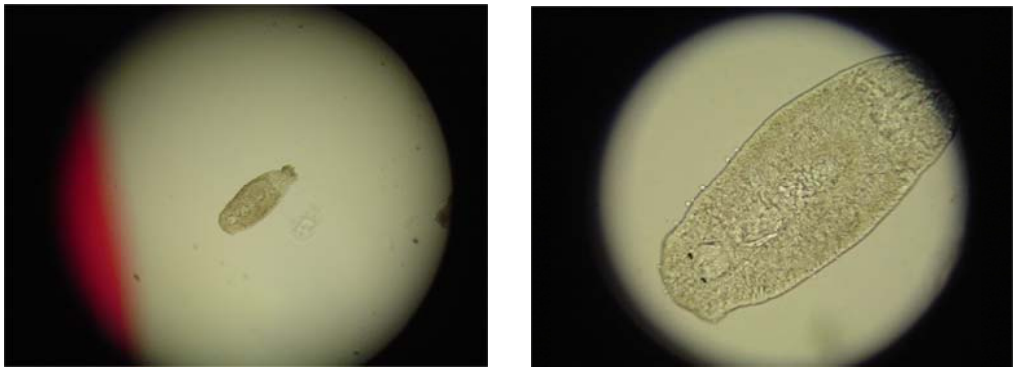
۳-۳- آلودگی انگلی

در وان ها و حوضچه های نگهداری بچه ماهیان تیلاپیای سیاه و قرمز نورس و انگشت قد با مشاهده علائم رفتاری و ظاهری غیرطبیعی و تلفات در زمستان ۱۳۹۱، نمونه ها از نظر ابتلاء به انگل ها بررسی شدند. عمده علائم ماهیان مبتلا شامل کندی حرکت و بی حالی، کم اشتهایی، تغییر رنگ پوست به تیره و در نهایت تلفات بچه ماهیان بود. در گروه های مختلف بچه ماهیان نورس و انگشت قد، نمونه هایی از انگل های منوژن مشاهده گردید. این منوژن ها متعلق به جنس های ژیروداکتیلوس (*Gyrodactylus*) و داکتیلوژیروس (*Dactylogyrus*) بودند.

در فصل پاییز سال ۹۱، انگل ژیروداکتیلوس از سطح بدن بچه ماهیان تیلاپیای نورس و انگشت قد بدست آمد. شیوع آلودگی به ژیروداکتیلوس در وان های آلوده ۱۰۰٪ و میانگین شدت آلودگی ۲۲±۱۱۲ بود. پس از کاربرد محلول پرمنگنات پتاسیم یا فرمالین، آلودگی بسیار کاهش می یافت اما بعد از حدود یک هفته مجدداً افزایش پیدا می کرد.

آلودگی به انگل منوژن داکتیلوژیروس بطور موردی مشاهده شد. این نمونه ها در بافت آبشش دو نمونه از بچه ماهیان انگشت قد مشاهده شدند.

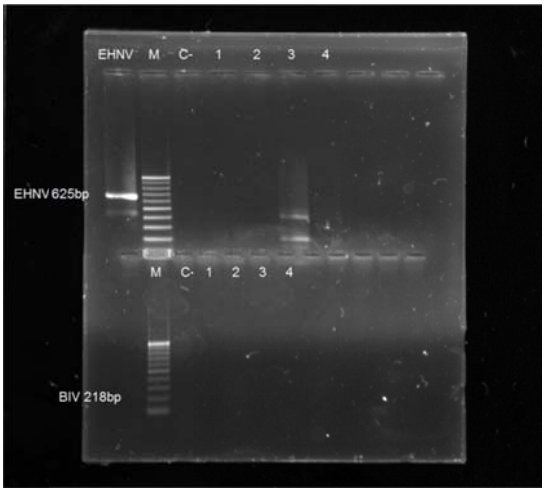
تصویر ۷. انگل منوژن *Gyrodactylus* جداسازی شده از پوست بچه ماهیان تیلاپیا. (الف) نمای عمومی (۱۰۰۰×)، (ب) قلاب های جنین در بدن مادر (۴۰۰۰×)



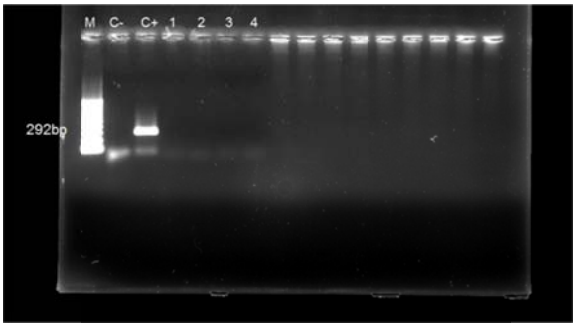
تصویر۸. انگل منوژن *Dactylogyrus* جداسازی شده از آبشش بچه ماهیان تیلاپیا. (الف) نمای عمومی (۱۰۰۰×)، (ب) لکه های چشمی (۴۰۰۰×)

۴-۳- ویروس ها

در تانک های حاوی ماهیان تیلاپیای سیاه و قرمز که علائم شامل کندی حرکت و بیحالی، کم اشتهایی، تغییر رنگ پوست به تیره، ضایعات پوستی، اختلالات چشمی و تلفات داشتند، نمونه های بچه ماهیان و بافت های پوست، کبد، کلیه و مغز از نظر ابتلاء به عوامل ویروسی بررسی شدند. بررسی نمونه ها از نظر آلودگی به ویروس ها توسط الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگاروز ۱/۵٪ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی EHNV، BIV و Herpesvirus نشان داد که تمام نمونه ها از نظر ابتلاء به بیماری های مذکور منفی بودند.



تصویر ۹. 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



تصویر ۱۰. 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

از پاییز سال ۹۳ با تغییر سیستم نگهداری بچه ماهیان اجراء برنامه شستشوی تخم ها و بچه ماهیان و مولدین و نظارت بر رعایت اصول بهداشتی، بیماری های ماهیان تیلاپیا در کارگاه های مرکز کنترل شدند.

۵-۳- فاکتورهای آب

دمای آب کارگاه ها درمحدوده ۲۲.۱ تا ۲۹.۹ درجه سانتیگراد، شوری درمحدوده ۱۰-۸ قسمت درهزار و pH درمحدوده ۷.۹۷-۶.۹ تغییر کرد. تغییرات آمونیوم درمحدوده ۰.۰۸۳-۰.۰۷، نیتریت ۰.۱۳-۰.۰۱ و اکسیژن محلول ۷.۸-۲.۲ میلیگرم بر لیتر بود.

۴- بحث

تیلاپیا در شرایط پرورش تحت تأثیر عوامل باکتریایی، ویروسی و انگل قرار می گیرد. ابتلاء ماهی تیلاپیا به بیماری ها مستقیماً تحت تأثیر عوامل زیست محیطی و زیست شناختی قرار دارد (Komar, 2008).

۴-۱- آلودگی باکتریایی

در بررسی حاضر کوکسی متعلق به جنس استرپتوکوکوس (*Streptococcus*) در تیلاپیاهای مولد یک ساله، و انتروباکتر میله ای شکل جنس ادواردزیلا (*Edwardsiella*) در ماهیان تیلاپیای مولد و بچه ماهیان نورس مشاهده شد.

گونه های استرپتوکوکوس از اواسط دهه ۱۹۵۰ در ماهیان بعنوان آلوده کننده مطرح شدند. در اغلب تیلاپیاها علائم بالینی معمولاً بصورت بیماری چشمی و منینگوسفالیت دیده می شود. عمده گونه های استرپتوکوک جداشده در تیلاپیا *S. iniae* و *S. agalactica* هستند که علائم پاتولوژیک مشابه دارند (Plumb et al., 2011). در مطالعه حاضر نیز مولدین آلوده به این باکتری علائم فوق را بوضوح نشان دادند.

مهمترین باکتری آلوده کننده تیلاپیاهای پرورشی استرپتوکوکوس است و گونه *Streptococcus iniae* شایع ترین آنها محسوب می شود. چنانچه در مطالعه حاضر نیز این باکتری در نمونه های مولدین و پرورشی در شرایط متراکم وجود داشت.

با کشت متراکم ماهیان که آمادگی ابتلاء به باکتری های گرم مثبت استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس را دارند، بیماری ها افزایش می یابند. مشکل بیماری استرپتوکوکوس در سراسر جهان وجود دارد و سالانه حدود ۱۵۰ میلیون دلار آسیب می رساند و مشکلات بهداشتی حادی را بوجود می آورد. تلفات ماهیان تیلاپیای پرورشی بر اثر باکتری *S. iniae* گزارش شده است (Showmaker etal., 2000). شایان ذکر است که در بررسی حاضر تلفات حادی با این باکتری مشاهده نشد و صرفاً در حوضچه های دارای تراکم بالا (۶۰-۸۰ ماهی بر مترمکعب) ۲-۱ نمونه آلوده بودند.

استرپتوکوک ماهیان همه مراحل زندگی را تحت تأثیر قرار می دهد اما ماهیان در وزن های ۱۰۰ گرم تا اندازه های بازاری برای ابتلاء مستعدتر هستند. در این مطالعه نیز بچه ماهیان آلودگی به استرپتوکوکوس نداشتند درحالیکه در نمونه های پرورشی با تراکم بالا و مولدین یک ساله آلودگی به این باکتری مشاهده شد.

مشخصات کلینکی ابتلاء ماهی به این باکتری شامل سپتی سمی هموراژیک، بیحالی و ضعف، کاهش اشتها، خونریزی در اطراف مخرج، باله و چشم، وجود لکه های خون در اندام های داخلی، عضلات و ناحیه شکم، تورم کلیه ها، طحال و کبد می باشد. نشانه های دیگر عبارتند از شنا و حرکت مارپیچی، حرکت نامنظم، انحناء بدن، مات شدن قرنیه یک یا هردو چشم، بیرون زدگی چشم، بادکردن شکم. استرپتوکوکوس به سیستم عصبی آسیب می رساند. علائم مهم ابتلاء به این باکتری رفتار چرخشی، اختلالات چشمی، بیرون زدگی یا درون

رفتگی چشم خونریزی در چشم است اما همیشه ماهیان مبتلا اختلال چشمی ندارند. خونریزی پوستی بویژه دراطراف دهان و قاعده باله ها، گاهی پیگمانتاسیون قرمز در اطراف مخرج، وجود مایع یا آب آوردگی شکم که همراه با بیرون زدگی مخرج مشاهده می شود. عفونت خونی، تغذیه غیرطبیعی، نبودن غذای خشک در لوله گوارش از علائم این آلودگی است. در ابتدای آلودگی در استخر برخی نمونه ها تغذیه فیلترفید دارند. لوله گوارش خالی همراه با کیسه شنای بزرگ یک علامت مهم نبودن فعالیت گوارشی است. سپتی سمی در آلودگی شدید به سیستم گردش خون رسیده و در اندام های داخلی گسترش می یابد. عامل بیماری در کبد، طحال، کلیه، مغز، قلب، چشم و لوله گوارش وجود دارد. در این مطالعه نیز آلودگی از بافت مغز و چشم بدست آمد.

این آلودگی به آنتی بیوتیک جواب می دهد اما ازآنجاکه دوره قطع آنتی بیوتیک مؤثر طولانی تر از دوره بازگشت آلودگی استرپتوکوک است توسط آنتی بیوتیک کاملاً کنترل نمی شود.

(Americulture,2011,www.americulture.com/Disease.htm; www.thefishsite.com/articles/190/streptococcus-in-tilapia).

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 (Popma & Lovshin, 1995). در مطالعه حاضر نیز در حوضچه های دارای تراکم زیاد ماهیان پرورشی آلودگی مشاهده شد. سیستم بازگردش در زمان اجراء این مطالعه در مرکز فعال نبود و باتوجه به برقراری این سیستم از سال گذشته بدلیل حساسیت های زیست محیطی خروج آب از زهکش ها و کمبود منابع آب، لازم است احتمال بروز آلودگی مورد توجه قرار گیرد.

در این آلودگی خراش های پوستی ماهیان بویژه در دما و شوری های بالا گزارش شده است. در ماهیان بیمار شنای نامتعادل، انحنای بدن، تورم چشم و اندام های داخلی مشاهده می شود (Popma & Lovshin, 1995). در این مطالعه نیز نمونه های آلوده دارای خراش های پوستی و تورم چشم بودند اما بچه ماهیان نورس که شنای نامتعادل و مارپیچی نشان می دادند مبتلا به استرپتوکوک نبودند.

استرپتوکوک ها از آب و گل ولای کف استخر، کود های آلی استفاده شده برای بارورکردن استخر و ماهیان آلوده به این باکتری بدست آمده اند. استرپتوکوکوس از طریق بلعیدن و جراحت های پوست وارد بدن ماهی می شود (Getchell, 1998).

یک نگرانی درمورد استرپتوکوکوس این است که این باکتری می تواند از ماهی به انسان منتقل شود. گزارش شده است که در تورونتوی کانادا افرادی که با ماهی تیلاپیای تازه مزارع پرورش ماهی سر وکار داشته اند به *S. iniae* مبتلاء شده اند. بیماران اغلب ملیت آسیایی داشته اند. این افراد ماهی را تمیز کرده و خورده اند و بعضی از آنها در خلال تمیز کردن ماهی در دستان خود جراحت و زخم داشته اند و در نتیجه این باکتری از طریق جراحت ها وارد بدن آنها شده است. این رخداد خاص نشان می دهد که تیلاپیای مبتلاء به بیماری

استرپتوکوکوس باید با دقت و احتیاط عمل آوری و تمیز شود (Getchell 1998,). خوشبختانه تاکنون هیچ مورد ابتلاء کارکنان کارگاه های مرکز مشاهده نشده است که بی شک حاصل رعایت اصول بهداشتی می باشد.

درجه حرارت کم یا زیاد آب، شوری زیاد، قلیایی بودن آب (pH بیش از ۸)، کاهش اکسیژن محلول، تراکم بالای نیتریت و تراکم بالای ماهی آسیب پذیری تیلاپیا در مقابل استرپتوکوکوس را افزایش می دهد. علائم بیماری و تلفات زیاد در نمونه های آلوده به *S. iniae* در استخرهای آب لب شور هند گزارش شده است (El-sayed, 2006).

مرکز تحقیقات آبزیان بافق دارای دو چاه موتور است. معمولاً کارگاه ها از آب چاه شماره ۲ با شوری ۱۰ppt تغذیه می شوند. درمواردی از بروز اختلال در جریان آب، موقتاً از آب چاه شماره ۱ استفاده شد که شوری آن ۱۴ppt است. این امر می تواند عامل ایجاد استرس در ماهیان باشد. بعلاوه بروز شرایط پیش بینی نشده در کارگاه مانند از کار افتادگی موقت سیستم های گرمایش یا هواساز مرکزی و متعاقباً افت دما وکاهش اکسیژن می تواند سبب استرس شود.

بسیاری از عوامل استرس زا که مرگ ومیر بیماری ناشی از *S. iniae* را موجب می شود، مشخص شده اند. تغییر رفتار تغذیه ای تجمع در سطح برای غذاگیری، کاهش تغذیه و افزایش باقیمانده خوراک در کف تانک ها از علائم قابل مشاهده بروز این استرس ها می باشند.

مشخص شده که برخی از عوامل زیست محیطی بر مرگ ومیر ناشی از استرپتوکوکوس مؤثر هستند. درجه حرارت ۲۰°C در تیلاپیای هیبرید (*O. niloticus*×*O. aureus*) باعث مرگ ومیر شده است. در شرایط آزمایشگاهی در صورتی که کمبود اکسیژن محلول و نتیریت زیاد توأم باشد کمبود اکسیژن محلول نیز همین اثر را نشان داده است. پایین بودن اکسیژن در سیستم بازگردشی باعث تلفات ماهیان تیلاپیای پرورشی بدنبال ابتلاء به استرپتوکوکوس شده است. عامل دیگر، تأثیر تراکم های ذخیره سازی بالا بر بیماری های عفونی است. استراتژی مدیریت و شرایط زیست محیطی در انواع سیستم های پرورشی ماهیان متفاوت است.

در پرورش تیلاپیا در سیستم های بسته و استخر با تراکم ذخیره سازی بالا، شرایط برای بروز بیماری های استرپتوکوکی مستعد بوده و تا ۷۵٪ تلفات در سیستم بسته و ۵۰٪ در استخر رخ داده است.

تراکم زیاد ماهی و دوز عفونت، نرخ مرگ و میر ماهی را تحت تاثیر قرار می دهد. در یک بررسی، تأثیر دوز استرپتوکوک و تراکم تیلاپیا بر مرگ و میر ماهیان پرورشی بررسی شده است. تیلاپیا با وزن ۱۲/۷g در دمای ۲۵±۱°C در آکواریوم با جریان آب ۰.۵ لیتر بردقیقه و دوره نوری ۱۲ ساعت نور، تراکم های ذخیره سازی کم ۵/۶g/lit، متوسط ۱۱/۲g/lit و زیاد ۲۲/۴g/lit مورد مطالعه قرار گرفت. کاهش تراکم ماهیان در محدوده تیمارهای آزمایش بر کاهش اثر آلودگی به استرپتوکوک مؤثر بود و سبب محدود شدن ابتلاء به بیماری در ماهیان پرورشی شد. این درحالی است که تراکم هایی که در سیستم های تجاری بازگردشی بکار می روند بسیار بیش

از ۳۰g/lit بوده و تا ۲۹۰g/lit گزارش می شوند (Showmaker etal., 2000). در این مطالعه عامل بیماری زا در شرایط جریان آب ۴۰ لیتر بر ثانیه و تراکم ۸۰ قطعه بر مترمکعب ماهیان مشاهده شد.

در بررسی تأثیر شوری های ۰ppt، ۱۵ppt و ۳۰ppt بر آلودگی تیلاپیای نیل آسیب دیده توسط استرپتوکوکوس در دمای ۲۵°C و ۳۰°C، مرگ و میر در هیچ یک از موارد بدون ابتلاء به استرپتوکوک دیده نشده اما افزایش آمادگی ابتلاء به استرپتوکوک همراه با افزایش شوری در دمای ۲۵°C و ۳۰°C مشاهده شد. در دمای ۲۵°C تلفات در شوری ۱۵ppt اختلاف معنی داری با شوری صفر نداشت اما در این دما مرگ ومیر تیلاپیاهای آلوده به استریتوکوکوس بطور معنی دار بیش از شوری ۳۰ppt (نسبت به شوری ۰ppt و ۱۵ppt) بود. تلفات ماهیان آلوده در دمای ۳۰°C و شوری ۱۵ppt بطور معنی دار بیش از شوری صفر بود. در دمای ۳۰°C و شوری ۰ppt و ۱۵ppt همه ماهیان بطور معنی دار تلفات بیشتری نسبت به دمای ۲۵°C داشتند. میانگین تلفات روزانه با افزایش دما از ۲۵°C تا ۳۰°C عموماً کاهش یافت، اما اختلافات بیشتر با افزایش شوری از ۰ppt به ۱۵ppt و ۳۰ppt مشاهده شد (Chang & Plumb, 1996). هرچند در این مطالعه شرایط محیطی تا حد امکان در حد ثابت حفظ می شد اما باید توجه داشت که نوسانات موقت عوامل محیطی مانند دما و شوری ناشی از حوادثی مانند قطع برق، خاموش شدن سیستم گرمایش در زمستان یا توقف فعالیت چاه می تواند در ایجاد استرس و ابتلاء ماهیان به بیماری مؤثر باشد.

عوامل بیماری زا محدوده های اپتیمم دمایی مختلف دارند که باعث بیماری می شوند. مثلاً گونه های جنس *Francisella* پس از کاهش دما به کمتر از ۲۸°C و *Streptococcus agalactiae* معمولاً پس از افزایش دما به بیش از ۳۲°C بروز می کنند (Komar, 2008).

میزان اکسیژن محلول و گردش آب بر شیوع عوامل پاتوژن و بویژه استرپتوکوکوس مؤثر است. دمای آب همبستگی مثبت معنی داری با شیوع آن دارد (Chitmanat etal., 2014). در این مطالعه تراکم زیاد ماهیان در تانک های پرورش و کاهش میزان گردش آب می تواند در ابتلاء نمونه ها به استرپتوکوکوس مؤثر بوده باشد.

ابتلاء تیلاپیا به باکتری ها می تواند بدون علامت بیماری باشد. بسیاری از باکتری ها اجزاء طبیعی فلور باکتریایی این ماهی و محیط آب هستند که در آن پرورش داده می شوند. بنابراین می توان آنها را پاتوژن های اختیاری درنظر گرفت که در شرایط استرس موجب بیماری می شوند (Conory, 2001). افزایش دما، کمبود اکسیژن و تراکم بالا به مدت طولانی، ماهی را درمعرض استرس قرار می دهد. بیماری از یک ماهی به ماهی دیگر منتشر و ازطریق همنوع خواری، جراحت پوستی یا محیط به ماهی منتقل می شود. این بیماری شدت یافته و می تواند طی ۳-۲ هفته با افزایش دما سبب مرگ ومیر شود اما در دمای پایین مزمن بوده و تلفات تدریجی و مداوم ایجاد می کند.

برای درمان آلودگی استرپتوکوکی مدیریت استرس اهمیت زیادی دارد. در بررسی حاضر نتایج بهبود مدیریت کارگاه ها بصورت تغییر در سیستم های نگهداری بچه ماهیان و مولدین، توجه به اصول بهداشتی با کاهش بروز استرس ادامه از بروز عفونت جلوگیری نمود.

در موارد آلودگی شدید به کاهش تدریجی یا کامل تغذیه می تواند تلفات را کنترل کند زیرا باکتری در آب وجود دارد و ابتلاء به آن با تغذیه تشدید می شود. باید در مزارع تیلاپیا بین تراکم زیاد ذخیره سازی و نرخ بازماندگی تعادل برقرار شود. با افزایش تلفات کاهش تراکم به کاهش استرس و ابتلاء به بیماری کمک می کند. حفظ مقدار اکسیژن در سطح مطلوب مهم است و می توان با هواده پدل آن را تأمین نمود. در این مطالعه با مشاهده اولین نمونه مشکوک به بیماری در تانک ها تعویض شدید و کاهش یا توقف غذادهی صورت گرفت.

دمای زیاد آب استرس آور است و بیماری را تشدید می کند. چنانچه کاهش دما امکان پذیر باشد روش مناسبی است مثلاً در مزارع کوچک ایجاد سایه و آب پاشی می تواند مؤثر باشد.

در بسیاری از موارد درمان های خوراکی برای رفع بیماری استرپتوکوکی مؤثر نیستند. برخی مزرعه داران معتقدند که آنتی بیوتیک ها تنها در دوره کاربرد مفید هستند (درمان نمی کنند). با افزایش مصرف آنتی بیوتیک تلفات افزایش می یابد و این روش غیرمسئولانه است. برخی مزرعه داران آنتی بیوتیک ها را به طولانی مدت بکار می برند. این روش سبب مقاومت باکتری شده صادرات محصول را نیز با مشکل روبرو می کند. در طی مطالعه حاضر استفاده از آنتی بیوتیک های خوراکی بویژه اریترومایسین که در ابتدای ورود ماهی تیلاپیا به کشور انجام گرفت، متوقف شد.

واکسن مؤثر بر استرپتوکوک وجود دارد. واکسیناسیون تکنیک کلیدی پیشگیری از ابتلاء به این بیماری و کاهش اثرات منفی اقتصادی آن است. (www.thefishsite.com/articles/190/streptococcus-in-tilapia).

در واقع در بیشتر سیستم های پرورش متراکم تیلاپیا عوامل مختلف بیماری زا حضور دارند که سبب تلفات می شوند. دو عامل پاتوژن مهم در تیلاپیا عبارتند از باکتری *Streptococcus iniae* که عامل تلفات شدید در سیستم های متراکم تیلاپیا است، و دیگری *Gyrodactylus* که ترماتود منوژن مشکل ساز در ذخایر تیلاپیای جوان و متراکم در آب های غنی یوتروفیک هستند (Shoemaker et al., 2007). باید توجه داشت که در طی مطالعه حاضر هردو پاتوژن ذکر شده استرپتوکوکوس و ژیروداکتیلوس مشاهده شدند که درعین کنترل شرایط و عدم تکرار علائم ابتلاء ماهیان در کارگاه ها، لازم است احتمال بروز مجدد آنها در صورت فراهم شدن شرایط مورد توجه قرار گیرد.

انگل ها می توانند حامل ویروس ها و باکتری ها باشند. حامل ها احتمال انتقال عوامل بیماری زا را با ایجاد منافذ ورودی یا انتقال سیستم عفونت از یک ماهی به ماهی دیگر، افزایش می دهند. مکانیسم های دیگری نیز وجود دارند که زمینه ابتلاء میزبان به بیماری را افزایش می دهند، مثلاً آلودگی انگلی ناشی از افزایش استرس که در نتیجه کاهش مقاومت میزبان روی می دهد (Shoemaker et al., 2007). در این مطالعه نیز مشاهده شد که نمونه های بچه ماهیان نورس مبتلاء به انگل هرچند با حمام فرمالین ضدعفونی شدند اما با فاصله زمانی چند روز پس از کنترل انگل ها، موج جدید تلفات آغاز می شد درحالیکه در بچه ماهیان نمونه انگل یافت نشد که احتمالاً ناشی از عفونت باکتریایی است.

بخوبی مشخص شده است که انگل ها در افزایش احتمال آلودگی ماهیان به باکتری های بیماری زا نقش دارند. در سیستم بازگردشی تولید تیلاپیا وجود *Trichodina* که احتمالاً ناشی از جراحت اپیدرمی بوده مشاهده شده که منجربه آلودگی با استرپتوکوکوس و ادواردزیلا شده و با آنتی بیوتیک درمان می شود (Shoemaker et al., 2007). در ابتدای ورود ماهی تیلاپیا به مرکز در سال ۱۳۸۷، در بچه ماهیان وارداتی انگل پروتوزوئر تریکودینا مشاهده شد. ماهیان در بدو ورود دچار بیحالی، کم تحرکی و تلفات شدید بودند که می تواند ناشی از استرس حمل و طولانی شدن زمان انتقال از مقصد تا کارگاه های مرکز و متعاقباً بروز عوامل پاتوژن باشد. این نمونه ها از کارگاه مبدأ در شرایط آب شیرین نگهداری و حمل شده بودند. عدم مشاهده انگل تریکودینا در ماهیان تیلاپیایی که طی این سال ها در مرکز نگهداری می شوند می تواند بدلیل منبع لب شور آب چاه مرکز و تغییر شرایط آب باشد. بررسی میکروبی نمونه های تیلاپیای وارداتی در روزهای اول ورود، حاکی از وجود آلودگی های باکتریایی نیز بود.

ادواردزیلا یکی از پاتوژن های مهم ماهیان در محیط های طبیعی و پرورشی است و برخی از گونه های آن پراکنش جغرافیایی بسیار وسیعی دارند و ماندگاری طولانی در میزبان دارند. در سال های اخیر فعالیت هایی برای تولید واکسن مؤثر بر این بیماری صورت گرفته اما هنوز بصورت تجاری درنیامده است (Park et al., 2012).

این باکتری در بسیاری از جانوران ازجمله ماهیان ایجاد بیماری می کند. محیط منبع آلودگی با ادواردزیلا محسوب می شود. این باکتری اغلب پاتوژن ماهی گرمابی است و در برخی گونه های سردابی نیز گزارش شده است و در استخرهای پرورش یافت می شود (Bullock & Herman, 1985). این پاتوژن در بچه ماهیان تیلاپیا و بالغین در این مطالعه نیز مشاهده شد.

ابتلاء به این باکتری در شرایط نامتعادل محیطی مانند دمای زیاد، کیفیت پایین و مواد آلی زیاد در آب بروز می کند. ماهیان مبتلا علائمی شامل شنای چرخشی و مارپیچی و شنا نزدیک سطح آب، کاهش رنگدانه ها، بیرون زدگی چشم، تیرگی چشم، تورم شکم، خونریزی لکه ای پوست و باله ها و جمع شدگی کبد، طحال و کلیه نشان می دهند. علائم ظاهری ماهیان مبتلاء به استرپتوکوک در این مطالعه مشابه موارد ذکر شده فوق بود. بویژه وجود لکه پوستی، خونریزی، بیرون زدگی چشم در بالغین و شنا نزدیک به سطح آب و مارپیچی در بچه ماهیان در مرحله تک جنس سازی بسیار مشهود بود.

ادواردزیلا در محیط های طبیعی یافت می شود و اغلب پیشگیری از آن مشکل است اما مدیریت استرس در محیط پرورش شدت ابتلاء به آن را کاهش می دهد.

گونه مهم این جنس *E. tarda* است که پراکنش جهانی دارد. بسیاری از جانوران ازجمله ماهیان می توانند منبع ذخیره و انتقال این باکتری باشند. نقش پرندگان در این زمینه بسیار اهمیت دارد. این گونه به مدت ۷۲ ساعت در آب و گل کف استخر زنده می ماند (Park et al., 2012) و از خزندگان، دوزیستان، ماهی ها و آبزیان پرورشی

شیرین بدست آمده است. بیماری زایی *E. tarda* در شرایط استرس زا بویژه در درجه حرارت بالای آب بیش از ۳۰°C و آب حاوی مواد آلی بالا (حتی در درجه حرارت پایین آب) افزایش پیدا می کند (El-sayed, 2006).

عمومی ترین بیماری باکتریایی تیلاپیای پرورشی سپستی سمی هموراژیک است که براثر *Aeromonas hydrophila* و در شرایط پرورش متراکم توسط *E. tarda* بوجودمی آید (Popma & Lovshin, 1995). ابتلاء به ائروموناس در این مطالعه مشاهده نشد اما باتوجه به گزارشات حاکی از ابتلاء تیلاپیاهای پرورشی به این باکتری پایش کارگاه ها از این نظر باید صورت گیرد.

در درمان بیماری های باکتریایی یا ویروسی به کمک واکسیناسیون، لازم است میکروارگانیسم در سطح گونه شناسایی شود (Komar, 2007). بدین ترتیب پیشنهاد می شود در مطالعه ای دقیق تر درمورد گونه های باکتری های آلوده کننده تیلاپیا، ضمن شناسایی گونه ها، ساخت واکسن های مربوط در دستورکار قرار گیرد. بویژه آنکه واکسن ها باید ویژه مناطق آلوده ساخته شوند و استفاده از واکسن های ساخت دیگر کشورها تأثیر مناسب نخواهد داشت.

باکتری های بیماریزای دیگری نیز تیلاپیاهای پرورشی گزارش شده اند. باکتری گرم منفی موتیل ایروموناس *Aeromonas* رایج ترین عامل باکتریایی است که تیلاپیای وحشی و پرورشی را دچار بیماری می کند. سودوموناس شامل باکتری های گرم منفی است که ماهی های سیچلید در مناطق متفاوت جغرافیایی را به بیماری دچار می سازند. *Pseudomonas fluorescens* باعث مرگ ومیر مزمن در تیلاپیای پرورشی گونه نیل در ژاپن شده است. ویبریوسیس یک بیماری باکتریایی است که توسط باکتری گرم منفی *Vibrio* ایجاد می شود و می تواند ماهیان آب های شیرین و شور را به بیماری مبتلاء سازد. این باکتری می تواند خطر جدی را برای سلامتی تیلاپیاهای پرورشی ایجاد کند. چندین مورد شیوع بیماری و عفونت *Vibrio* در تیلاپیا گزارش شده و تلفات متفاوتی را در جمعیت تیلاپیاها ایجاد نموده اند. آسیب پذیری تیلاپیا به ویبریوسیس به گونه تیلاپیا، گونه باکتری، شرایط محیط زیستی و سیستم پرورش بستگی دارد.

ابتلا تیلاپیا به استافیلوکوکوس گونه *Staphylococcus epidermidis* گزارش شده است. مایکوباکتریازیس یا سل ماهی یک بیماری باکتریایی مزمن است که توسط باکتری *Mycobacterium* ایجاد می شود. این بیماری می تواند انواع ماهی های آب شیرین و دریایی را مبتلاء سازد. ابتلاء تیلاپیای وحشی و پرورش توسط باکتری مایکوباکتریوم کاملاً تایید شده است. خوشبختانه این عفونت در این مطالعه مشاهده نشد.

بیماری کالومناریس یا جراحت آبشش توسط *Flexobacter columnaris* در ماهیان سردآبی و گرمآبی رخ می دهد. در تیلاپیاها معمولاً در شرایط پرورش همراه با استرس بویژه درجه حرارت کم یا زیاد و غلظت زیاد آمونیاک روی می دهد (El-sayed, 2006). این عامل بیماریزا نیز در مطالعه حاضر مشاهده نشد.

برای مدیریت بیماری های باکتریایی استراتژی های مهم در ابتدا پیشگیری و سپس درمان با مواد شیمیایی است.

اگرچه درمان بااستفاده از آنتی بیوتیک ها صورت می گیرد اما ابهامات زیادی درمورد کاربرد آنتی بیوتیک ها در غذاهای دریایی وجود دارد که بیشتر درمورد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها و باقی مانده های آنتی بیوتیکی در محصولات است. در واقع استفاده از آنتی بیوتیک ها چنانچه مسئولانه باشد امکان پذیراست. انتخاب آنتی بیوتیک باید براساس حساسیت آنتی بیوتیک و قوانین موجود صورت پذیرد. درمان با آنتی بیوتیک باید طبق نظر متخصص بهداشت ماهی و دامپزشکان باشد تا از نظر دوز و دوره کاربرد اطمینان حاصل شود. بعلاوه منظور کردن دوره های قطع دارو که هنوز امکان دارد باقیمانده آنتی بیوتیک در ماهی یافت شود، بسیار مهم است. برای جلوگیری از توسعه مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها باید آنها را صحیح بکار برد. آنتی بیوتیک های کنار گذاشته شده نسل قدیم نباید بکار روند. آنتی بیوتیک ها باید از منابع قابل اعتماد تهیه شوند تا ازنظر کیفیت مطمئن بوده و تراکم مورد نظر در محصول حاصل آید. مدت استفاده از آنتی بیوتیک ها باید کوتاه باشد. باید توجه کرد که استفاده از آنتی بیوتیک ها راه حلی اورژانسی برای اجتناب از خسارت های اقتصادی ناشی از بیماری ها و استرس محسوب می شود و بجای کاربرد آنها لازم است استراتژی های پیشگیرانه بشدت تقویت گردد (Komar, 2008).

ابتلاء تیلاپیا به باکتری ها می تواند بدون علامت بیماری باشد. بسیاری از باکتری ها اجزاء طبیعی فلور باکتریایی این ماهی و محیط آب هستند که در آن پرورش داده می شوند. بنابراین می توان آنها را پاتوژن های اختیاری درنظر گرفت که در شرایط استرس موجب بیماری می شوند (Conory, 2001).

برای درمان با آنتی بیوتیک ها بهتر است در ابتدا یک تست حساسیت به آنتی بیوتیک براساس باکتری جدا شده انجام شود و سپس تراکم کمینه MIC (Minimum Inhibitor Consenteration) برحسب ppm برای تعیین دوز دارو را بدست آورد. قوانین کاربرد آنتی بیوتیک ها با هدف مضر نبودن برای انسان باید مورد توجه قرار گیرد.

اجتناب از استرپتوکوکوزیس متناسب با عملکرد مدیریت و بهداشت است. حذف و معدوم سازی ماهیان آلوده و استریل شدن قطعات ماهی یا احشاء ماهیان که در خوراک بکار می روند ضرورت دارد. استفاده از مواد ضد میکروب برای کنترل بیماری مقاومت ماهی را تقویت می نماید. مواد ضد میکروب همه باکتری ها را نابود نمی کنند که این عامل سبب می شود در شرایطی که دیگر درمان ضد میکروبی ادامه ندارد بیماری مجدد بروز کند (Conory, 2001).

۲-۴- آلودگی قارچی

در بررسی حاضر نمونه های تخم، بافت آبشش ماهیان تیلاپیای مولد و پرورشی و بچه ماهیان انگشت قد آلودگی به پنیسلیوم وجود داشت. بعلاوه بچه ماهیان انگشت قد به آسپیروژیلوس نیز آلوده بودند. آلودگی به قارچ پنیسلیوم در آب خروجی کارگاه ها و نمونه خوراک بچه ماهیان نیز گزارش شد.

بیماری های قارچی بندرت ماهی سالم را مورد تهاجم قرار می دهند اما ماهیان عفونی شده که تحت استرس شوک دمایی، آسیب مکانیکی یا مبتلا به بیماری های دیگر هستند، به قارچ ها مبتلا می شوند.

در مطالعه حاضر رنگ ماهی تیلاپیای آلوده به قارچ بشدت تیره و نوارهای سطح بدن پررنگ می شوند در این شرایط ماهی آلوده از گله جدا می شود. همچنین در شرایطی که تخم ها ضدعفونی نشده بودند، توده های پنبه ای در اطراف تخم مشاهده و بتدریج تخم متلاشی می شد. بنابر این ملاحظه شد که آلودگی می تواند هم روی تخم و هم ماهی بوجود آید. عموماً در هچری ها قارچ ها مهمترین معضل هستند که روی تخم و نوازادان رشد می کنند. در تخم ها علامت آلودگی وجود لکه های رشته ای و پنبه ای است که موجب مرگ آن می شود. در ماهی آلوده عامل قارچی روی اپیدرم ابتدای سر یا باله ها رشد کرده و سپس به همه بدن گسترش می یابد و گاهی به عضلات و رگ های خونی نفوذ می کند (Czeczuga et al., 2014).

در نمونه پودر ماهی بکار رفته جهت خوراک بچه ماهیان نورس علیرغم وجود مهر تأیید دامپزشکی و فاصله زمانی مناسب تا انقضاء محصول، متأسفانه آلودگی به پنیسلیوم وجود داشت. بچه ماهیانی که در مرحله تک جنس سازی بوده و در خوراک آنها از پودر ماهی استفاده شد رشد مناسب نداشته و بشدت تلفات داشتند.

پنیسلیوم ها قارچ هایی با گسترش جهانی هستند که در نیچ های اکولوژیک مختلف یافت می شوند و مهمترین منبع آنها خاک است. این قارچ ها بیش از ۳۰۰ گونه دارند ().

مایکوتوکسین ها که شامل متابولیت های قارچی متعددی هستند غذای انسان ها و حیوانات را آلوده می کنند. مهمترین ترکیبات سرطان زای مایکوتوکسینی شامل آفلاتوکسین ها (Aflatoxin)، اکراتوکسین(Ochratoxin)، استریگماتوسیستین (Sterigmatocystin)، زیرالنون (Zearalenone) و برخی از سموم حاصل از پنسیلیوم مانند سیترینین (Citrinin)، پاتولین (Patulin)، لوتئوسکرین (Luteoskyrin) و اسید پنیسیلیک (Penicillic acid) است (Mahrous et al., 2006). مهمترین مایکوتوکسین های حاصل از پنیسلیوم ها سموم خطرناکی مانند آفلاتوکسین ها، اکراتوکسین A ، پاتولین و سیترینین هستند (Park et al., 2000). باتوجه به وجود این قارچ در نمونه های بررسی شده در این مطالعه و اهمیت بهداشت محصولات غذایی، لازم است نسبت به رفع و اصلاح شرایط و توجه ویژه شود.

پنیسلیوم از قارچ های محیطی و انباری محسوب می شود. تولید اکراتوکسین توسط پنیسلیوم در شرایط نگهداری محصول در مکان های سرد و نسبتا مرطوب روی می دهد (Encarnacao, 2010). بدین ترتیب به نظر می رسد که پرورش در شرایط استخرهای خاکی در میتواند از تولید اکراتوکسین توسط پنسیلسوم جلوگیری کند.

در خوراک ماهی تیلاپیای نیل پرورشی که از مزارع مختلف در مصر مورد بررسی قرار گرفته پنسیلیوم بدست آمده است. بسیاری از گونه های پنیسلیوم ترکیبات سمی سیترینین و سیترووریدین (Citroviridin) را تولید می کنند اما گزارشی از تأثیر این سموم بر ماهیان وجود ندارد (Barbosa et al., 2013). نگهداری خوراک ماهیان

پرورشی در شرایط مناسب و رعایت بهداشت انبار، ظروف نگهداری خوراک و تغذیه ماهیان می تواند در پیشگیری از رشد و کنترل قارچ ها بسیار مؤثر باشد.

نمونه های مختلف قارچ ها از تیلاپیاهای وحشی و پرورشی و کودهای آلی که برای باروری استخرها بکار می روند بدست آمده است (El-sayed, 2006). در این مطالعه نیز قارچ ها از ماهیان و آب محیط بدست آمدند.

قارچ پنسیلیوم از تیلاپیای جنس *Oreochromis* (Czeczuga et al., 2014) و تیلاپیای نیل تازه و نمک زده جدا شده است (Hassan et al., 2011). این قارچ در نمونه تازه تیلاپیای پرورشی در کارگاه سرپوشیده مرکز نیز مشاهده شد. مطالعات نشان داده که رشد قارچ آسپرژیلوس و تولید سم آفلاتوکسین توسط آن و تولید سموم اکراتوکسین A و پاتولین توسط قارچ پنیسلیوم بستگی به فعالیت آب و میزان دما دارد. البته این دو عامل در رشد همه عوامل قارچی و تولید میکوتوکسین ها مؤثر هستند. پاتولین، اسید پنیسلیوم و اکراتوکسین A در شرایط آب با جریان کم و دمای پایین آب تولید می شوند (Jakiã-Dimiã et al., 2005). بدین ترتیب کنترل و تثبیت شرایط محیطی و جریان مناسب آب برای اجتناب از رشد قارچ ها و تولید سموم مؤثر است.

تغییر فصل که سبب کاهش دما می شود در ابتلاء این ماهیان به قارچ ها مؤثر است. تأثیر آلودگی قارچی آب بر جانوران پرورشی در هچری ها مشکلی عمومی است. بطور خاص مشکل ساپرولگنیا که بیماری قارچی با گسترش وسیع است، مطرح می باشد. ساپرولگینا می تواند سبب تلفات سنگین ماهیان شده و در اکوسیستم های آب شیرین مشکل ساز می شود. این قارچ بر روی ماهیان محیط های طبیعی و پرورشی و نمونه های زنده، تلف شده و تخم ها یافت می شود. آب ورودی که از اعماق زمین تأمین می شد عاری از قارچ بود اما در آب خروجی از کارگاه ها قارچ وجود داشت. باتوجه به غنی بودن آب خروجی از ترکیبات ازته حاصل از متابولیسم، مواد دفعی و باقیمانده غذای ماهیان، و نیز وجود نمونه های تلف شده که کارگران آنها را بدرون زهکش می انداختند، محیط مناسبی برای فعالیت قارچ ها بوجود آمده بود. در مرحله بعد لاشه های مربوط به تلفات جمع آوری شده از حوضچه ها دفن شدند. در منابع آبی غنی از غذا محیط مناسب برای رشد این قارچ ها بوجود می آید. اجزاء لاشه گیاهان محیط مناسبی برای این قارچ ها است (Czeczuga et al., 2014). چنانچه وجود قارچ در آب زهکش در این مطالعه نیز مشاهده شد.

بیماری مهم ساپرولگنیازیس بر اثر قارچ ساپرولگنیا ایجاد می شود. ماهیان آلوده به این قارچ بی حال بوده و تغذیه ندارند و علائم لکه پنبه ای توده ای سفید رنگ در سطح بدن آنها مشاهده می شود (Tang & Nelson, 1998). این بیماری با علائمی شامل آسیب روی باله، دهان و پوست بروز می کند. زخم ها توسط توده های سفید، خاکستری یا سفید پنبه ای که میسلیوم قارچ است پوشیده می شود. این آلودگی بشدت در تخم های فاسد شیوع دارد و می تواند به تخم های زنده منتقل شده سبب مرگ آنها گردد. اختلالات درمی عموماً همزمان با آلودگی باکتریایی روی می دهد (Conory, 2001).

بیماری حاصل از ابتلاء ماهیان به این قارچ بزرگترین عامل خسارت اقتصادی در آبزی پروری پس از بیماری های باکتریایی عنوان شده است.

ساپرولگنیا بر اثر مدیریت ضعیف ازجمله در کیفیت پایین آب و دمای نامناسب بروز می کند. این عوامل عفونت حاصل از قارچ را تشدید می کنند. بیماری موجب خسارت های مزمن پایدار شده و در آزادماهی، آنگوئیلا و گربه ماهی تا ٪۵۰ خسارت زده است. این قارچ در تیلاپیای نیل نیز مشکلاتی بوجودآورده است (Abou- El-Atta, 2008).

عموماً درماتومیکوزیس ناشی از ساپرولگنیا و دیگر قارچ های فیکومیسه آلودگی ثانویه مرتبط با بهداشت یا مدیریت مزرعه محسوب می شوند. صید و انتقال تیلاپیا از یک استخر به استخر دیگر، ماهی را تا ٪۵۰ را بیشتر درمعرض بیماری قرار می دهد (Conory, 2001).

ساپرولگنیاسیس بیماریی است که توسط گونه های جنس ساپرولگنیا *Saprolegnia* و آکلیا *Achlya* ایجاد می شود و علامت آن ردیف های کتان مانند سفید روی بافت های نکروز شده ماهی آلوده بویژه پوست، آبشش ها، باله ها، چشم و دهان ماهی، زخم شدن همراه با خونریزی، جراحت پوست، باله، آبشش و ماهیچه ، بیماری های سیستمیک قارچی، کبد، طحال ، چشمان و کلیه و بالاخره مرگ و میر گسترده می باشد.

قارچ آسپرژیلوس گونه *Aspergillus flavus* آفلاتوکسین هایی را تولید می کند که برای ماهی ها سمی است. نگهداری نامناسب غذای ماهی باعث رشد این قارچ می شود (El-sayed, 2006).

ماهیان قادر به تولید دوباره رنگدانه های کاروتنوئیدی (De Novo pathway) نیستند. بنابراین لازم است این ترکیبات به خوراک آنها اضافه شود. مطالعات اخیر نشان داده که گونه تیلاپیای نیل غنی از این رنگدانه است. مقدار کل کارتنوئیدها در بدن ماهی ۰/۲۱۶ میکروگرم برگرم در عضله و ۹۴۵/. میکروگرم برگرم در کبد – براساس وزن مرطوب– است و شامل کاروتنوئیدهای مهم βکاروتن، لوتئین، زیزانتین، کانتاگزانتین و آستاگزانتین است. در تیلاپیای نیل بخش قابل توجه کاروتنوئید در کبد ذخیره می شود که بر اثر اکسیداسیون به ویتامین A تبدیل می شود. α و β کاروتن در کبد تیلاپیای نیل سبب تبدیل شدن به ویتامین A می شوند. وجود کاروتنوئیدها موجب مقاومت ماهی در برابر عفونت می گردد.

ایمنی جمعیت وابسته به تغذیه است و مشخص شده که کیتین موجود در خوراک ماهی مقاومت بدن ماهی را افزایش می دهد. پوشش کیتینی سخت پوستان غنی از کاروتنوئیدها است. جالب است که روی تخم های گونه ای از سخت پوستان قارچ کمی رشد می کند چراکه کاروتنوئید فراوان دارد درحالی که گونه های فقیر از کاروتنوئید به قارچ های زیادی آلوده می شوند. از نظر برخی محققین، کاروتنوئیدها بعنوان منبع اکسیژن در شرایط کمبود اکسیژن نقش ایفا می کنند. بنابراین سلامت تخم ها و مقاومت دربرابر بیماری های قارچی افزایش می یابد. تیلاپیای نیل پلی فاژ است و در غذای آن جلبک ها بویژه سیانوباکترها همراه با پریفیتون و دیتریت یافت

می شود. این ماهی از زئوپلانکتون ها و دیگر بی مهرگان نیز تغذیه می کند. جلبک ها بویژه سیانوباکترها همانند سخت پوستان غنی از کاروتنوئیدها هستند (Czeczuya etal., 2014).

باتوجه به سرعت رشد، مقاومت زیست محیطی و مقاومت ماهی نسبت به انگل ها و بیماری ها، تیلاپیای نیل نقش مهمی برای سلامت انسان بعنوان منبع پروتئین جانوری، چربی و نیز مواد ضروری همچون کاروتنوئیدها دارد. کاروتنوئیدها بعنوان منبع ویتامین A عملکرد آنتی اکسیدان داشته و نقش حفاظت دربرابر سرطان و افزایش پاسخ ایمنی داشته نقش مؤثری در مورد بیماری های قلبی و عروقی دارند (Czeczuga et al., 2014 & 2005)

بدین ترتیب ضمن تبیین اهمیت پرورش تیلاپیا در منابعی غنی از غذای طبیعی ازجمله استخرهای خاکی، بر ارزش غذایی مناسب ماهی تیلاپیا که گاهی مورد ابهام قرار گرفته، تأکید می شود. بدیهی است ارزش غذایی تیلاپیا تنها محدود به عامل فوق نیست و ادله علمی فراوانی در این زمینه وجود دارد که در حوصله این مطالعه نمی باشد.

منابع آبی یوتروفیک غنی از غذا بیش از منابع اولیگوتروفیک غنی از پلانکتون هستند. زئوسپورهای کموتاکسیک که در آب یافت می شوند بطور خاص به آسپاراژین و گلوتامین حساس هستند. این دو اسیدآمینه به مقدار زیاد در جانوران مخصوصاً ماهیان یافت می شوند. کلیه گونه های قارچ های ساپرولگنیا که روی لارو تیلاپیای نیل رشد می کند قابلیت رشد در حضور این دو اسیدآمینه را دارند. ماهیت لیمنولوژیک آب روی تعداد گونه قارچ تأثیر ندارد اما ترکیب مواد غذایی آب بر آن مؤثر است.

قارچ های پاتوژن ساپرولگنیا از موجودات فرصت طلب هستند. آب غنی از موجودات زنده شرایط مناسب تری برای موجودات آسیب رسان محسوب می شود و شرایط توسعه آنها را بهتر فراهم می کند (Czeczuya etal., 2014).

بررسی های زیادی درمورد انواع قارچ کش ها و اثر آن روی این آبزیان و محیط زیست صورت گرفته است. مالاشیت گرین و فرمالین قارچ کش های خوبی هستند هرچند روی اکوسیستم تأثیر مستقیم دارند. این مواد همچنین سبب سرکوب سیستم ایمنی ماهی بویژه درصورت کاربرد مکرر می شوند. آثار تراتوژنی و جهش زا و باقی ماندن این مواد در بافت ماهی از دیگر آثار آنها است. فرمالین ٪۳۷ روی ساپرولگنیا اثر می کند اما بر محیط زیست و انسان هایی که با آن سروکار دارند اثر می گذارد. به همین دلایل بهتر است ترکیبات دیگری که اثر مضر بر ماهی و تخم و اکوسیستم ندارند بکار رود. پراکسیدهیدروژن ترکیبی است که در آبزی پروری مورد توجه قرار گرفته است و به نظر می رسد متناسب با محیط زیست بوده و روی آلودگی های خارجی ماهی مؤثر است (Abou- El-Atta, 2008).

در کارگاه های تکثیر تیلاپیا در انستیتو تکنولوژی تایلند، از آب نمک ۶ppt جهت شناور سازی ابتدایی تخم های فاسد و آلوده به مدت ۲۰ دقیقه استفاده می شود. منبع آب مورد استفاده در آن مجموعه آب شیرین است و

شوری آب سبب جداسازی تخم ها می شود. در شرایط آب لب شور کارگاه های مرکز، تخم پس از توزین ضدعفونی شده و شناوری تخم های ناسالم در انکوباتور های واجد آب لب شور معمولی صورت می گیرد.
از دیگر قارچ های آلوده کننده تیلاپیاها برانشیومیس ها *Branchiomyces* هستند که عموماً بعنوان عوامل بیماری مدیریت بد شناخته می شوند و در آب با کیفیت ضعیف یا سطوح بالای مواد آلی رشد می کنند. سیستم های بسته آب بازگشتی نسبت به دیگر سیستم های پرورشی در مقابل این عفونت آسیب پذیرتر می باشند. این قارچ ها آبشش ها را از طریق سیاهرگ های ششی یا اپیتلیال مورد حمله قرار می دهند و می توانند باعث تخریب شدید سطوح تنفسی ماهی شوند. گونه های قارچی برانشیومیسس از تیلاپیاهای هیبرید گزارش شده اند (El-sayed, 2006).

به منظور افزایش کارآیی و ارتقاء سطح بهداشت در کارگاه تکثیر، باتوجه به مشاهدات نگارنده از روش های معمول در کارگاه تکثیر تیلاپیا در مؤسسه تکنولوژی آسیا در کشور تایلند، در روش ضدعفونی تخم ها تغییر صورت گرفت. برای ضدعفونی کردن تخم جهت معرفی در کارگاه تکثیر از دو محلول استفاده شد. محلول اول شامل ۱۰cc فرمالین خالص ٪۳۷ در ۲۰ لیتر آب بود که و بلافاصله پس از آن بمدت ۳۰ ثانیه با آب خالص شستشو داده شد. 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 به مدت دو دقیقه و مرحله ۴ و ۵ تخم به مدت یک دقیقه در محلول قرار می گیرد. در ادامه کار از محلول دوم شامل ۲۰۰ لیتر آب با ۱ گرم اکریفلاوین HcL استفاده شد. تخم ها را به مدت ۳۰-۶۰ ثانیه در این محلول نگه داشتیم. سپس تخم ها بلافاصله بمدت ۳۰ ثانیه با آب خالص شستشو داده می شدند.

۳-۴- انگل ها

انگل های منوژن *Gyrodactylus* و *Dactylogyrus* مشاهده شده در این بررسی شامل منوژن هایی هستند که به عنوان عوامل مهم آلودگی تیلاپیای پرورشی بویژه در بچه ماهیان و نرسری ها گزارش شده اند. این انگل ها در بچه ماهیان شیوع داشتند و در مواردی بدنبال شیوع آنها تلفات شدید در وان های ۳۰۰ لیتری حاوی بچه ماهیان ۱ گرمی دیده می شد. خوشبختانه تغییر سیستم نگهداری بچه ماهیان و انتقال به هاپا در کنار اصلاح برنامه شستشو و ضدعفونی که در بخش گذشته ذکر شد بسیار مؤثر بود و درحال حاضر در پایش بهداشتی کارگاه ها هیچ نمونه ای از این انگل ها مشاهده نمی شود.
مونوژن ها انگل های بیرونی یا درونی آبشش، حفره آبششی، پوست، حفره دهانی و گاهی مجرای ادراری و حفره بدن ماهیان دوزیستان، نرم تنان و حتی پستانداران هستند.

علائم ابتلاء به ژیروداکتیلوس شامل هیپرپلازی اپیدرمی همراه با دژنراسیون در برخی مناطق بدن و تولید موکوس زیاد است که سبب رنگ پریدگی پوست، پرخونی و پوسته شدن پوست و پولک می شود Turgut & (Akın, 2003). در این مطالعه نیز بویژه در بچه ماهیان اختلالات پوستی نیز دیده می شد.

ژیروداکتیلوس ممکن است سبب تلفات در مدت کوتاه شود. تیلاپیا نسبت به این مونوژن مقاومت ندارد و با این آلودگی بشدت تلف می شود. همچنین انواع دی ژنه آها و سخت پوستان تیلاپیا را آلوده می کنند. اکثر گونه های آن از درجه بالایی از اختصاصیت میزبان (host specificity) برخوردارند. گونه های این جنس میزبان ویژه هستند. ژیروداکتیلوس در آب های غنی از مواد غذایی یافت می شود و می تواند موجب بروز مشکلات در ذخایر ماهی های جوان شود. این انگل بوسیله هپتور عقبی که قلاب بزرگ و قلابچه های زیادی دارد به آبشش ها، باله ها و پوست ماهی می چسبد. جابجایی انگل از یک نقطه به نقطه دیگر بدن ماهی موجب جراحت اپیتلیوم ماهی می گردد (Shoemaker et al., 2007). ابتلاء بچه ماهیان کارگاه های مرکز به مونوژن در مواردی سبب تلفات شدید می شد.

داکتیلوژیریدها انگل هایی با پراکندگی جهانی هستند که روی آبشش ماهیان یافت می شوند و یکی از جنس های معروف آنها داکتیلوژیروس است. این انگل ها شباهت زیادی به ژیروداکتیلیدها دارند ولی تخم زنده زا هستند. داکتیلوژیریدها برای تخمگذاری اپتیمم دمایی نیاز دارند که سبب می شود پیک های آلودگی توسط آنها فصلی باشد.

حضور انگل ها سبب تلفات شدید یا دست کم ضعیف شدن ماهی می شود. انگل های مونوژن روی پوست و آبشش تأثیر می گذارند. آنها با تغذیه از موکوس سطح بدن، زخم های خارجی ایجاد کرده و درم را در معرض آلودگی عفونی باکتریایی و قارچی قرار می دهند. هرچند مونوژن ها جزء ترکیب طبیعی محسوب می شوند اما موجوداتی بشدت مهاجم هستند. چرخه زندگی این انگل ها در تراکم بالا سپری می شود. منوژن ها را می توان با حمام فرمالین، پرمنگنات پتاسیم، پراکسید هیدروژن، ترکیبات ارگانوفوسفوره یا با تغییرات شوری کنترل کرد (Conory, 2001). در این تحقیق، در مدت زمان کوتاهی پس از بروز آلودگی انگلی در بچه ماهیان، علائم آلودگی باکتریایی بویژه شنای غیرطبیعی و چرخشی و جدا ماندن از گله و شنا در سطح آب بروز می نمود و تلفات علیرغم استفاده از روش های ضدعفونی ادامه می یافت. عوامل انگلی باعث افزایش پاسخ استرس می شود و این شرایط مقاومت در برابر بیماری را کاهش می دهد.

مرگ و میر ناشی از منوژن ها براثر تراکم شدید، کاهش کیفیت آب و عدم رعایت اصول بهداشتی در کارگاه ها و مزارع تیلاپیا پیش می آید. انتقال منوژن از یک ماهی به ماهی دیگر از طریق تماس مستقیم صورت می گیرد زیرا این انگل ها میزبان حدواسط ندارند. منوژن ها هرمافردیت هستند و تخم یا نوزادان را در آب رها می کنند. نوزاد فوراً به میزبان دیگر می چسبد (Reed et al., 2003).

هرچند بیشتر مطالعات بیماری های تیلاپیا درمورد آلودگی انگلی یا باکتریایی به تنهایی صورت گرفته اما آلودگی های توأم انگلی و باکتریایی بدلیل مستعد بودن ماهی تیلاپیا روی می دهد. در پرورش متراکم تیلاپیا تلفات ناشی از عامل منفرد بیماری کمتر گزارش شده و به احتمال زیاد عوامل چندگانه بیماری شامل انگل، باکتری و یا ترکیبی از آنها عامل تلفات ناشی از بیماری می شوند. در شرایط آزمایشگاهی آلودگی انگلی مونوژن و آلودگی باکتریایی استرپتوکوکوس مطالعه شده است. ابتلاء به ژیروداکتیلوس موجب ورود باکتری های تهاجمی شده که سبب آسیب به اپیتلیوم ماهی می گردد.

آزمایش بررسی اثر آلودگی توأم به ژیروداکتیلوس همراه با استرپتوکوکوس باعث افزایش مرگ ومیر معنی دار بیشتر ماهیان تیلاپیای پرورشی تا ٪۴۲ شد درحالیکه میزان تلفات در آلودگی تنها به باکتری ٪۷ و در آلودگی تنها به ژیروداکتیلوس صفر بود. جالب است که در ژیروداکتیلوس آلوده کننده تیلاپیای نیل استرپتوکوکوس در ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از آلودگی آزمایشی توسط این باکتری مشاهده شد و مشخص شد که ژیروداکتیلوس می تواند استرپتوکوکوس را از یک ماهی به ماهی دیگر منتقل نماید. در واقع در بیشتر سیستم های تولید متراکم تیلاپیا عوامل چندگانه بیماریزا وجود دارند که باعث تلفات ماهیان می شود.

در سیستم پرورش ماهی تیلاپیا، انگل پروتوزوئر *Trichodina* موجب جراحت اپیدرمی شد و آلودگی به باکتری های *Streptococcus* و *Edwardsiella* را بوجود آورد که با آنتی بیوتیک کاملاً قابل برطرف کردن نیست. کنترل انگل باعث کاهش تلفات حاصل از بیماری می گردد (Shoemaker et al., 2007). در این مطالعه نیز انگل تریکودینا در بدو معرفی تیلاپیا به ایران در بچه ماهیان، ظروف و آب بسته های ارسالی مشاهده شد اما با تغییر اکوسیستم از آب شیرین به آب لب شور تاکنون نمونه دیگری مشاهده نشده است.

بهترین راه مبارزه با آلودگی انگلی ماهیان پرورشی جلوگیری از معرفی انگل به سیستم جدید است و آنرا می توان با استفاده از اجراء پروتوکل قرنطینه انجام داد. درصورت عدم امکان قرنطینه، ماهی را برحسب گونه در آب شور یا شیرین که متضاد محیط طبیعی زندگی این انگل باشد قرار می دهیم. این روش برای جلوگیری از معرفی اولین منوژن بسیار مؤثر است و آثار آن را کاهش می دهد اما خطر را کاملاً رفع نمی کند. در شرایط ایده آل ماهی باید ۳ هفته قبل از ورود به سیستم جدید قرنطینه شود و در این شرایط باید نمونه گیری و بررسی انگلی صورت گیرد. در مرکز نیز در درهر مرحله جابجایی نمونه ها از حمام فرمالین استفاده شد.

جنس داکتیلوژیروس به آبشش ماهی می چسبد و به مواد شیمیایی مقاوم است. برای این انگل معمولاً درمان های ۴-۳ هفته ای توصیه می شود. جنس ژیروداکتیلوس روی پوست و باله های ماهیان آب شیرین یافت می شود و با یک تیمار از محلول های ضدعفونی کننده نابود می شود زیرا زنده زا است (Reed et al., 2003).

کاربرد مواد شیمیایی مجاز مانند نمک، فرمالین، پروکسیدهیدروژن و پرمنگنات پتاسیم می تواند مفید باشد اما دوز و مدت کاربرد آنها بسیار مهم است. نمونه های جوان دربرابر مواد شیمیایی نسبتاً حساس تر از بالغین هستند و نسبت به کاربرد تراکم مواد مشابه از مواد شیمیایی واکنش یکسان نشان نمی دهند. برای توازن تراکم اکسیژن

کاهش یافته در اثر کاربرد مواد شیمیایی، لازم است هوادهی و اکسیژن دهی صورت گیرد. در این مورد نوع سیستم هواده اهمیت دارد. کاربرد اکسیژن در طی درمان با حمام فرمالین با توجه به کاهش میزان اکسیژن بسیار ضروری است.

برای استفاده از هر یک از مواد ابتدا باید در مقیاس کوچک ارزیابی صورت گیرد تا نتیجه کاربرد قبل از استفاده در مزرعه مشخص شود. بعلاوه باید بخاطر داشت که کاربرد مواد شیمیایی می تواند آثار نامطلوب داشته باشد. مثلاً آب شور برای کنترل مژکداران مضر مفید است اما پمپاژ آب دریا به مزرعه بدون فیلتر می تواند سبب بروز باکتری ها یا دیگر عوامل ناخواسته بیماری زا شود (Komar, 2007 & 2008).

برای درمان منوژن ها از فرمالین یا پرمنگنات پتاسیم استفاده می شود. دوز مورد استفاده فرمالین بصورت دراز مدت حمام ۲۵mg/l، یا در کوتاه مدت حمام ۱۵۰-۲۵۰mg/l به مدت ۳۰ دقیقه است. ماهیان بیمار دربرابر فرمالین مقاومت ندارند و وارونه می شوند که باید بلافاصله به وان حاوی آب تمیز منتقل شوند. پرمنگنات پتاسیم می تواند باکتری های کالومناریس و قارچ ها که آسیب های پوستی می رسانند را کنترل کند. کاربرد پرمنگنات پتاسیم بصورت طولانی مدت ۲mg/l و در کوتاه مدت ۱۰mg/l به مدت ۳۰ دقیقه است.

چرخه زندگی داکتیلوژیروس در ۷۵-۷۲ درجه فارنهایت (۲۴-۲۲°C) کامل می شود اما در دمای ۳۶-۳۴ درجه فارنهایت (۲-۱°C) تکمیل چرخه زندگی ۶-۵ ماه طول می کشد (Reed et al., 2003).

از پاییز سال۹۳ با الهام از سیستم تکثیر و نرسینگ مؤسسه تکنولوژی آسیا (Asian Institue of Technology, AAT) تغییراتی در سیستم نگهداری بچه ماهیان و مولدین داده شد (Bhujel, 2014; Little et al., 2003). بچه ماهیان نورس به حوضچه های ۵۰۰ لیتری مجهز به هاپا با تراکم ۶۰۰۰-۵۰۰۰ قطعه در مترمربع و مولدین به حوضچه های بتنی ۳۰ مترمکعبی مجهز به هاپا منتقل شدند.

شستشوی تخم ها و بچه ماهیان نورس و انگشت قد با محلول فرمالین ۲۰۰۰ppm بمدت ۳-۱ دقیقه صورت گرفت. بچه ماهیان انگشت قد در پایان مرحله نرسری و معرفی به حوضچه های پرورش، ۱۰-۵ دقیقه در محلول فرمالین به میزان ۴۰۰CC در ۱۰۰ لیتر آب، قرار گرفتند (Bhujel, 2014; Little et al., 2003; Little, 1989).

شناسایی انگل در سطح جنس برای استفاده از روش های درمانی کافی است. بنابراین تنها عناصر مورد نیاز برای تشخیص مؤثر انگل در مزرعه یک میکروسکوپ نوری جهت اندازه گیری و شکل شناسی آن و دانش پایه ای مربوط به شناخت انگل هاست. پایش انگل ها بخش مهمی از مدیریت سلامت است و باید بطور مرتب صورت گیرد تا بتوان دربرابر آن واکنش مناسب اتخاذ کرد. حضور یک یا تعدادی انگل در یک ماهی علامت نگران کننده نیست اما تعداد انبوه انگل در ماهی نیاز به درمان جدی جمعیت دارد و باید در برابر آن واکنش سریع نشان داد.

باید توجه داشت که در اغلب موارد انگل ها بخشی از محیط طبیعی هستند و عوامل مختلفی شیوع آنها را تحت تأثیر قرار می دهند که شامل موارد زیر است:

عوامل زیست شناختی: ارتباط سن با ابتلاء به بیماری های انگلی همانند دیگر ماهیان برای تیلاپیا هم مطرح است و کوچک ترها نسبت به انگل آسیب پذیرترند. تیلاپیاهای تازه هچ شده و جوان بشدت به پروتوزوئر حساس هستند. باید توجه ویژه ای برای پایش انگل درتیلاپیای پرورشی صورت گیرد تا به حداکثر اطمینان برای بازماندگی بیشتر برسیم.

استرس: نتیجه فعالیت های آبزی پروری مانند تغییر کیفیت آب و افزایش تراکم می تواند سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار دهد و ماهی را دربرابر انگل مستعد کند. در ماهی ضعیف تعداد انگل بیشتر است. آلودگی به انگل ممکن است منجربه آلودگی به باکتری یا ویروس شود که می تواند مستقیماً بدلیل آسیب دیدگی پوست یا بطور غیرمستقیم بدنبال تغییرات فیزیولوژیک و سرکوب سیستم ایمنی روی دهد. در این مطالعه برای کاهش استرس و جداسازی ماهی از فضولات که اغلب در ته وان ها و حوضچه ها متراکم تر هستند از هاپا استفاده شد. تورهایی که به این منظور طراحی و ساخته شد دو نوع هستند. تورهای دارای ۲۰ سوراخ در هر اینچ در حوضچه های ۵۰۰ لیتری و تورهای دارای ۲۰ سوراخ در هر اینچ در حوضچه های ۴۰۰۰ لیتری بکار رفتند.

تغذیه: اگر تغذیه مناسب نباشد سیستم ایمنی ضعیف می شود و مقاومت ماهی کاهش می یابد. تغذیه بویژه در مراحل اولیه زندگی ماهی اثر مستقیمی بر مقاومت ماهی دارد. در این مطالعه در مرحله تک جنس سازی بچه ماهیان، باتوجه به کارآمد نبودن و آلودگی پودر ماهی که در خوراک آنها بکار می رفت، از خوراک آغازین قزل آلا (SFT000) استفاده شد.

تراکم زیاد: تراکم سبب بروز استرس شده و شیوع انگل را تسهیل می کند و موجب انتقال انگل از ماهی به ماهی دیگر می شود زیرا تراکم زیاد ماهیان امکان پیدا کردن میزبان را افزایش می دهد.

عوامل محیطی: انگل ها نیز به شرایط اکولوژیک وابسته هستند بطوری که برخی در آب شیرین و برخی در آب شور یافت می شوند. از این رو شوری آب برای ابتلاء به آلودگی مهم است. مثلاً در کارگاه تکثیر تیلاپیا حفظ شوری در محدوده ۵ppt-۱۰ موجب نابودی تریکودینا می شود. آب شور درمان خوبی برای پروتوزوئرها است اما باید توجه داشت که پمپ کردن آب دریا گاهی باعث ورود باکتری ها یا پاتوژن های ناخواسته می شود. مواد آلی زیاد، آمونیوم بالا، اکسیژن کم و باکتری زیاد می تواند شرایط استرس را برای ماهی افزایش دهد که متعاقباً ابتلاء به بیماری انگلی زیاد می شود. در این مطالعه جهت ثبات شرایط محیط و سطح شوری از آب یکی از چاه های مرکز استفاده شد. با کاربرد سیستم گرمایش مرکزی از بروز شوک دمایی تا حد امکان جلوگیری شد. هوادهی درحد اشباع با استفاده از ایربلوئر مرکزی تأمین می گردید.

یادآور می شود که بچه ماهیان تیلاپیایی که در آغاز مطالعات تیلاپیا از اندونزی به مرکز تحقیقات بافق وارد شدند، آلودگی به پروتوزوئر تریکودینا داشتند درحالیکه این آلودگی به هیچ وجه در مراحل بعد مشاهده نشد. تغییر محیط زندگی ماهیان وارداتی از آب شیرین به آب لب شور مرکز را می توان عامل کنترل این انگل ها محسوب کرد.

سیستم پرورش: هر سیستم پرورش ویژگی های خاص خود را دارد. مثلاً پرورش در تانک یا قفس بدلیل تراکم زیاد موجب افزایش شیوع انگل ها بویژه منوژن ها می گردد. استخرهای خاکی محیط پیچیده تری هستند و گیاهان در آن رشد می کنند و سبب می شوند که نوع انگل ها در محیط متفاوت باشد. گل کف استخر محیط خوبی برای انگل های تخم گذار و بی مهرگان میزبان واسط است. در استخرهای بزرگتر کنترل جمعیت انگل مشکل تر است زیرا گونه های صیاد که می توانند بخشی از چرخه زندگی انگل را کامل کنند بیشتر هستند. در سیستم های بازگردشی بدلیل وجود مواد رسوبی و چرخه آرام آب تراکم انگل ها روی می دهد. لازم است بررسی و پایش هفتگی انجام شود تا ورود احتمالی یا شیوع انگل ها مشخص شود. در پرورش غیرمتراکم، کنترل حلزون ها و پرندگان در محیط بویژه برای جلوگیری از ابتلاء ماهیان پرورشی به دی ژنه آ بسیار اهمیت دارد (Komar, 2007 & 2008).

آلودگی انگلی تیلاپیا وضوحاً درطی روند معکوس کردن جنسیت بچه ماهیان پدید می آید (Conory, 2001). در این مطالعه نیز بخش عمده آلودگی و تلفات ناشی از آلودگی به مونوژن ها در فاز تک جنس سازی بچه ماهیان روی داد.

در برخی شرایط ممکن است انگل ها بخشی از محیط طبیعی ماهی بوده و اجتناب ناپذیر باشند. طبیعت انگل ها بسته به سیستم پرورش متفاوت است. بنابراین مهم است که روش های پرورش به نحوی انتخاب شود که زیست شناسی انگل را تحت تأثیر قرار داده و فشار بروز انگل را کاهش دهد. مثلاً معمولاً در هچری تیلاپیا شوری بین ppt۱۰– ۵ نگه داشته می شود تا جمعیت مژکداران مضر مانند *Trichodina* کنترل شود.

پس از هر دوره پرورش باید سیستم های نگهداری ماهی تمیز و ضدعفونی شوند تا عوامل بیماری از یک دوره به دوره دیگر منتقل نگردد. باید توجه داشت که همانطور که ماهیان در معرض استرس بیشتر به انگل ها مبتلا می شوند، باید بصورت یک قانون طلایی به پرورش دهندگان یاد آور شد که لازم است سطح استرس تا حد امکان کاهش یابد. بویژه استرس های انتقال و جابجایی، تغییرات فصلی و کیفیت آب بسیار اهمیت دارند. آموزش به پرورش دهندگان برای کنترل موارد شیوع انگل ها ضرورت دارد.

در سیستم های پرورش غیرمتراکم در استخرخاکی، کنترل زیست شناختی حلزون ها و پرندگان مهمترین استراتژی برای نابودسازی چرخه ترماتودهای دیژن است تا از حضور آنها در استخر جلوگیری شود.

نکته قابل توجه این که علائم بیماری در ماهیان تیلاپیای پرورشی استخرهای خاکی مرکز مشاهده نشده است. منبع زیرزمینی آب لب شور منطقه خودبخود محیط مناسبی را برای فعالیت های تکثیر و پرورش فراهم نموده که احتمال آلودگی در آن کم است. درمورد عدم بروز انگل ها در ماهیان پرورشی استخرهای خاکی مرکز، باید توجه داشت که حلزون ها که اغلب برای تکمیل چرخه زندگی انگل های دیژنه آ لازم هستند، در اکوسیستم استخرهای مرکز مشاهده نمی شوند و لب شور بودن آب در این مورد مؤثر است. ازسوی دیگر باتوجه به شرایط اقلیمی کویری منطقه و بالا رفتن دمای هوا در اغلب ماه های فصل گرم، پرندگان مهاجر که در اوایل و اواخر

فصل گرم به صید ماهیان پرروشی استخرها روی می آورند، در بخش عمده دوره پرورش از منطقه خارج می شوند.

فرمالین که برای کنترل مژکداران بکار می رود را می توان با دقت در استخرها بکار برد. استفاده از فرمالین می تواند سبب مرگ پلانکتون ها شود. معرفی یا انتقال ماهی جدید به مزرعه باید همراه با بررسی انگلی انجام شود. تجهیزات پرورش نیز باید بین مزارع مجزا باشد تا انتشار افقی انگل کاهش یابد.

برای کاربرد تراکم های بالا در قفس می توان از روکش روی قفس استفاده کرد اما در مقیاس بزرگتر کاربرد ندارد. در استخرها باید دوز کم مواد شیمیایی به مدت طولانی بصورت محلول بکار رود (Komar, 2007 & 2008).

در روش پرورش تیلاپیا در قفس، بااستفاده از حرکت قفس به قسمت عمقی تر آب می توان از آلودگی آنها جلوگیری کرد (Conory, 2001).

گزارشاتی درمورد آلودگی تیلاپیا به انگل های مختلف وجود دارد.

از پروتوزوئرها، گونه *Ichthyophthirius multifiliis* یک پروتوزئر مژکدار است که در اپیدرم پوست و آبشش ماهی زندگی می کند. بهترین شرایط برای رشد این انگل دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد و ذخیره سازی با تراکم های بالا است. آلودگی تیلاپیا به این انگل بصورت شایع ازآمریکا و آسیا گزارش شده است. آلودگی در مرحله لاروی ماهی بیشتر از مراحل انگشت قد ودوران بلوغ است.

چندین مژکدار دیگر شامل *Trichodina*، *Epistylis*، *Tricodinella*، *Ichthyobodo*، *Apiosoma* و *Ambiphrya* در تیلاپیاهای وحشی و پرورشی مشاهده شده اند. بویژه زمانی که پرورش در تراکم های بالا صورت پذیرد. مهمترین مژکدار انگل تیلاپیای نیل *Trichodina* است که به پوست و آبشش ماهی ها حمله می کند. علائم خاص این بیماری شامل تخریب پوست و آبشش مشکلات تنفسی، کاهش اشتها و ریزش پولک ها است. تعدادی پروتوزئر تاژکدار نیز تیلاپیاها را در شرایط پرورشی و محیط های طبیعی آلوده می کنند. گونه *Ichthyobodo necator* مهمترین پروتوزآی تاژکدار انگلی تیلاپیا است. گونه *Cryptobia branchialis* تاژکدار دیگری است که باعث تلفات تیلاپیا در آب های شیرین و لب شور می شود.

هاگداران میگزوسپوریدان (Myxosporidian) رده ای از پروتوزآها هستند که می توانند باعث بیماری های جدی در ماهیان پرورشی شوند. آنها معمولاً بصورت کیست های مملو از اسپور در بافت های بسیاری از تیلاپیاهای وحشی دیده می شوند. اثرات پاتولوژیک این انگل در پرورش متراکم استخرهای خاکی افزایش می یابد چراکه شرایط محیط برای تکمیل سیکل زندگی فراهم است. در استخرهای گلی آزاد شدن اسپورها و سرایت و تکمیل شرایط عفونی براحتی صورت می گیرد. مهمترین میکزوسپوریدین بیماریزا در مزارع پرورشی تیلاپیا *Myxobolus* sp. است.

از ترماتودهای منوژن علاوه بر ژیروداکتیلوس و داکتیلوژیروس، جنس *Cleidodiscus* نیز انگل تیلاپیا است. در مطالعه حاضر این منوژن مشاهده نشد.

ترماتودهای انگلی دیژنتیک عامل مشکلات بزرگی در پرورش تیلاپیا بویژه ماهیان جوان و انگشت قد هستند. چرخه زندگی این انگل ها به میزبان های واسط مانند حلزون و ماهی بستگی دارد. بنابراین در سیستم های بسته از آن جهت که یکی همه میزبانان حضور ندارند مشکلی بوجود نخواهد آمد اما در سیستم های باز احتمال بیماری در ماهیان وجود دارد (Shoemaker et al, 2000).

تعدادی از ترماتودهای دیژنتیک بطور وسیعی تیلاپیاهای پرورشی و وحشی را آلوده می کنند که مهم ترین آنها *Clinostomum*، *Diplostimum* یا فلوک چشمی، متاسرکاریاهای جنس *Neascus* عامل بیماری لکه سیاه که در تیلاپیای نیل گزارش شده است می باشند. ترماتود دیژنتیک *Haplorechis* sp. وسیعاً ماهیان آب شیرین از جمله تیلاپیا را در کشورهای مصر، کنیا، فلسطین اشغالی، فیلیپین، چین و ژاپن آلوده کرده است.

اطلاعات محدودی از اثرات انگلی نماتودها، ستودها و آکانتوسفال های بر ماهی تیلاپیا وجود دارد. با این وجود این انگل ها در تیلاپیای وحشی و پرورش گزارش شده اند. خوشبختانه در این مطالعه هیچ نمونه انگلی غیر از مونوژن ها مشاهده نشد.

از سخت پوستان انگلی متداول تیلاپیاهای پرورشی و وحشی می توان از گروه کوپه پودها به *Ergasilus*، *Lernaea*، *Caligus* و *Lamperoglena*، از برانکیوراها به *Argulus* و *Dolops* و از ایزوپودها به *Alitropus typus* اشاره نمود. بسیاری از این انگل ها می توانند صدمات مهمی را به تیلاپیا وارد سازند.

کوپه پودهای انگلی عوامل بیماریزای بسیار جدی در پرورش ماهی تیلاپیا محسوب می شوند. گونه *Lernaea* sp. از جمله انگل هایی است که در نیجریه، فلسطین اشغالی، مالاوی، برزیل و اندونزی خسارت های مهمی را به پرورش تیلاپیا وارد کرده است (El-sayed, 2006).

۴-۴- ویروس ها

بررسی ویروسی بچه ماهیان و نمونه های بافت بدن تیلاپیای کارگاه های تکثیر و پرورش مرکز تحقیقات ملی آبزیان آبهای شور واقع در بافق یزد، 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 مستقیم داشته است.

علیرغم آسیب هایی که بیماری های ویروسی بویژه در ماهی های بیمار وارد می کنند، اطلاعات موجود پیرامون تاثیرات آنها در ماهی های تیلاپیا محدود است. محدویت عفونت ویروسی در تیلاپیا ممکن است به این حقیقت مربوط شود که تیلاپیا در محیط آب گرم پرورش داده می شود که برای تکثیر ویروسی مناسب نیست (M.K.Soliman ، اسکندریه، ۲۰۰۵ ، یافته های منتشر نشده).

ایریدوویروس (Biv, Bohle Iridovirus) که باعث بیماری های لنفوسیتی می شود در اوایل دهه ۱۹۷۰ در تیلاپیای وحشی دریاچه های شرق آفریقا گزارش شد. این ویروس باعث تلفات صددرصدی بچه ماهیان*O. mossambicus* در مدت ۶۰ روز شد. ماهی های بیمار دارای الگوی شنای چرخشی یا سریع می باشند. این حالت تا حد زیادی آنها را در مقابل همنوع خواری آسیب پذیر می سازد. شیوع بیماری های ویروسی شامل عامل شبه ایریدوویروس نیز در تیلاپیای گونه نیل پرورشی در کانادا گزارش شده است. علائم ماهیان بیمار شامل تیره شدن رنگ پوست، بیحالی، شنا کردن آهسته یا استراحت کردن در کف، بیرون زدگی چشم ها از حدقه، رنگ زرد روشن آبشش ها و اعضاء احشایی، التهاب پوست اطراف آرواره، آب آوردن شدید شکم و خونریزی در کبد و در نهایت مرگ می باشد.

رابدوویروس (Rhabdovirus) عامل ویروسی ماهیان سیچلید است که از سیچلیدهای*Cichlasoma cyanogutatum*، *C. nigrofaciatum* و *Tilapia zillii* بدست آمده است. این ویروس سبب بیماری های مهلک و کشنده ای می شود.

عامل ویروسی نوداویروس (Nodavirus) جدا شده از ماهی خاردار اروپایی *Dicentrarchus labrax* که بطور طبیعی مبتلاء شده می تواند به تیلاپیای موازمبیک پرورشی منتقل شود.

بیرناویروس (Birnavirus) در اوایل دهه ۱۹۸۰ در تایوان از تیلاپیای موزامبیکی *O. mossambicus* بدست آمد. این ویروس گسترش پیدا کرده و می توانست باعث تأثیرات ثانویه مانند افزایش آسیب پذیری ماهی ها به دیگر عوامل بیماری زا شود. بعلاوه لاروهای تیلاپیای آبی رنگ، تیلاپیای گونه نیل و تیلاپیای گالیلی تا حد زیادی به بیماری ویروسی سرگیجه (چرخش) نامشخص آسیب پذیر بوده اند. نشانه های بیماری شامل سرگیجه چرخش می باشد که بعد از تیره رنگ شدن پوست وکم اشتهایی ماهی بوجود می آید (El-Sayed, 2006). در بچه ماهیان *O. aureus* عفونت ویروسی انسفالیت با سندرم چرخشی موجب مرگ ومیر شده است (Shlapobersky et al., 2010).

لنفوسیس تیس نوعی بیماری ویروسی است که در ماهیان تیلاپیا مشاهده می شود. در فلسطین اشغالی این بیماری که علامت آن چرخش ماهیان است سبب تلفات سنگین بچه ماهیان تیلاپیای پرورش یافته در آزمایشگاه شده است. این بچه ماهیان کمتر از یک ماه سن داشتند و متعلق به گونه های *O. aureus*، *O. niloticus*، *Srotherodon galileus* و هیبریدهای قرمز تیلاپیا بودند. علایم ماهیان مبتلا پوست تیره، بی اشتهایی و رفتار چرخشی قبل از مرگ و میر است. علائم ابتدا در ماهیان ۸-۴ روزه بروز کرد و مرگ ومیر متعاقباً در بچه ماهیان ۸-۶ روزه مشاهده شد. موج دیگر بیماری در ماهیان ۱۸-۱۴ روزه روی داد. اجزاء هشت وجهی شبه ایریدوویروس از شبکه اندوپلاسمیک سلول های مغز ماهیان آلوده بدست آمدند. در آفریقا بررسی های ویروس شناسی دقیقی صورت نگرفته اما لنفوسیس تیس آلودگی ویروسی تأیید شده ای است که از ماهیان سیچلید دریاچه های شرق افریقا بدست آمده و برآمدگی های عفونی درمی (pustules) ماکروسکوپیک در ماهیان بوجود می آورد. این بیماری در تیلاپیای *T. amphimelas* از کنیا نیز گزارش شده است (Abowei et al., 2011, Popma and Lovshin, 1995).

درمان مؤثری برای بیماری ویروسی تیلاپیا بجز جدا کردن و از بین بردن ماهی بیمار وجود ندارد. بهترین درمان پیشگیری، قرنطینه کردن نوزادان و جلوگیری از وارد شدن ماهی های دارای سابقه بیماری ویروسی به کارگاه های پرورش ماهی می باشد (Shoemaker et al., 2000).

۵-۴- شرایط عمده ابتلاء تیلاپیا به بیماری

بیماریهای مهمی تیلاپیا را تحت تأثیر قرار می دهند که برخی جدید و برخی شامل موارد قدیمی هستند و به مشکلات جدی می انجامند. بیماری های تیلاپیا عمدتاً به تراکم محیط های پرورشی مربوط می شوند. هرساله تیلاپیا با تراکم بالاتر تولید می شود. در سیستم بازگردش تیلاپیا خوب رشد می کند اما در این سیستم ها عوامل بیماری زا مشکلاتی را نیز بوجود می آورند (Conory, 2001).

پرورش متراکم در استخرها و سیستم های بسته با استفاده از سیستم آب بازگشتی که با کاهش کیفیت آب توأم است، موجب استرس در ماهیان پرورشی شده و احتمال بروز و شدت بیماری در تیلاپیا را افزایش می دهد (Stoto, 2010).

بمنظور عملکرد بهتر مدیریت و کیفیت بهتر ذخیره در هچری ها، جدا کردن تانک های بازگردش از یکدیگر مناسب است زیرا بدلیل کنترل بیماری های انگلی موجب ایمنی بیشتر می شود. دستجات بچه ماهی نورس یا انگشت قد باید از یکدیگر جدا شوند تا کنترل شیوع بیماری امکان یابد. در مورد تولید مقادیر زیاد بچه ماهی نورس تیلاپیا، نیاز به توجه بیشتر به مولدین، غذای با کیفیت و برنامه کنترل بیماری ها وجود دارد (Delong et al., 2009). صید و انتقال تیلاپیا از یک استخر به استخر دیگر، ماهی را تا ۵۰٪ را بیشتر در معرض بیماری قرار می دهد (Conory, 2001)

در روش تولید تیلاپیا در قفس موقعیت قرارگیری قفس ها، وضعیت هوا، کیفیت، مقدار و جریان آب، دانش و تجربه، کیفیت و اندازه بچه ماهی، تلفات و وضعیت بازار همگی می توانند بر سیستم مؤثر باشند (Chitmanat etal., 2014).

تغییرات فصلی و آب و هوایی نقش مهمی در ابتلاء ماهیان تیلاپیای پرورشی به بیماری ها و توسعه آلودگی در آب شیرین بویژه در اواخر پاییز و زمستان که دما پایین است دارد (Chitmanat et al., 2014, Abou- El-Atta, 2008).

شیوع و شدت بروز بستگی به عوامل زیست محیطی مانند موقعیت جغرافیایی، سیستم پرورش، تراکم، شوری، دمای آب و همچنین عوامل زیستی مانند سن، ژنتیک، تغذیه و استرس دارد. دمای $^{\circ}C$ ۱۶-۱۰ باعث استرس تیلاپیا شده و در این شرایط تغذیه کم و بروز بیماری مطرح می شود (Komar, 2008).

آلودگی در گونه های مختلف تیلاپیا در شرایط مشابه، متفاوت است. در بررسی آلودگی تیلاپیا به انگل های پروتوزوئر و کرم های انگلی در مصر نشان داده شده که بیشترین آلودگی در تیلاپیای گونه *Tilapia zilli* و

کمترین آلودگی در *Oreochromis nilotica* دیده شد. ماده ها بشدت آلوده تر از نرها بودند. ماهیان بزرگ جثه بیش از کوچکترها آلوده بودند.

در گونه های مختلف از نظر آلودگی تأثیر فصلی مشخصی مشاهده شده است. آلودگی انگلی شدید ماهیان در زمستان مشاهده شده که درصد آن بیش از فصل های دیگر بوده و کمترین آلودگی در تابستان گزارش شده است. نوع غذا عامل اصلی ابتلاء ماهیان به کرم های انگلی است (Ramazan, 1991).

۶-۴- مدیریت بیماری های تیلاپیا

برای جلوگیری از بیماری های ماهیان تیلاپیای پرورشی، پیشگیری از بیماری بر درمان ترجیح دارد. پیشگیری از بیماری شامل مجموعه ای از آبزی پروری خوب و مدیریت استخرها است. جنبه های کلیدی مدیریت بهداشت آبزیان شامل کاهش احتمال قرارگیری ماهی در معرض پاتوژن ها و کاهش عوامل استرس زا است که ماهی را از نظر آلودگی به عوامل بیماری زا مستعد می کند.

محققین راه های ساده ای جهت حفظ بهداشت و سلامت ماهی در سیستم پرورش بیان کرده اند. واحدهای آبزی پروری یعنی تانک ها، استخرها، آبراهه ها و دیگر محیط های آبزی پروری باید تمیز باشند تا مواد دفعی و غذای مصرف نشده تجمع نکند. باید توجه شود که ماهیان تلف شده و بی حال خارج شوند. اگر ماهی بر اثر بیماری مرده باشد عوامل بیماری زا را منتشر می کند.

تجمع جلبکی یا قارچی در این سیستم ها نباید روی دهد. مقدار اکسیژن باید نزدیک سطح اشباع و نیتروژن محلول بویژه آمونیوم در سطوح پایین حفظ شود. آلوده نبودن تورها، کفش ها و دیگر عوامل انتقال دهنده پاتوژن ها باید مرتباً بررسی شوند. در کشت متراکم مثلاً در پرورش تیلاپیا در سیستم بازگردش می توان با فیلتر کردن آب پاتوژن ها را کاهش داد. استفاده از نور UV و ازون هم مناسب است.

تغذیه ماهی نیز برای افرایش مقاومت اهمیت دارد. بویژه کیفیت غذا در سیستم تانک و آبراهه مهم است چراکه ماهی در این سیستم ها به غذای طبیعی دسترسی ندارد. همچنین جنبه های کیفی خوراک مهم است و نگهداری طولانی مدت ممکن است منجربه فساد گردد. بیشتر خوراک های تجاری ماهی شامل چربی های چندغیراشباعی هستند که از روغن ماهی گرفته شده و با اکسیژن هوا واکنش نشان داده که در این شرایط انواع ترکیبات سمی را بوجود می آورد. این موارد می تواند موجب بیماری ماهیان شود.

کپک هایی که روی غذای ذخیره شده رشد می کنند مواد سمی تولید می کنند. آبزی پروران باید از خوراک های باکیفیت استفاده کنند، غذا را بیش از ۹۰ روز نگهداری ننمایند و در ذخیره سازی خوراک به منظور پیشگیری از کاهش کیفیت غذا دقت داشته باشند.

چنانچه آبزی پروران منبع محلی برای تولید بچه ماهی در اختیار داشته باشند احتمال بیماری ماهی کاهش می یابد. محققین بیماری هایی در گونه های مختلف تیلاپیا گزارش کرده اند که ناشی از انتقال پاتوژن ها بین مناطق مختلف بوده است. در شرایط ایده آل باید هر کشور از نظر تولید بچه ماهی خودکفا باشد.

درصورتی که کیفیت آب و غذا و شرایط حمل و نقل کنترل شده باشد، باید بچه ماهیان نورس سالم که در معرض کوچکترین استرس قرار نداشته اند در اختیار آبزی پروران محلی قرار گیرد. هرچند تولید بچه ماهی در مقیاس بالا نیاز به مدیریت خوب دارد (Tang & Nelson, 1998).

درمورد باکتری ها استراتژی های عملکردی موجب کاهش استرس ماهی شده و منجر به پرورش مطلوب می شود و کاربرد واکسن ها درمان های فعال آنتی بیوتیک هستند. درمورد انگل ها کنترل عوامل زیست محیطی، پیشگیری از عوامل بیماری و یا مواد شیمیایی می توانند عوامل بیماری زا را از بین ببرند.

اغلب بین دست اندرکاران صنعت تیلاپیا، برای وجود عوامل بیماریزا و ورود بیماری به مزارع نگرانی وجود دارد. در این مورد حضور عوامل بیماری زا عامل ضروری برای توسعه بیماری است اما به تنهایی برای بروز بیماری کافی نیست. توسعه بیماری در شرایطی روی می دهد که ترکیبی از عوامل محیطی غیرمعمول وجود داشته باشد و میزان استرس جمعیت در حال پرورش به نقطه ای برسد که برای ایمنی ماهی مضر است. مثلاً ممکن است درجه حرارت همراه با تغییرات فصلی زیاد یا کم شود و این امر به ماهی استرس وارد می کند.

بمنظور پیشگیری از بیماری، شناسایی عوامل بیماری و عوامل همه گیر شناسی توسعه بیماری اهمیت دارد. همچنین مهم است که آستانه تعادل بین تراکم مزرعه و سلامت را بدانیم. برای شناسایی کامل عواملی بیماری زا باید نمونه گیری از ماهی و بررسی همه گیری در چند مزرعه بمدت ۲-۱ سال صورت گیرد. پایش یکنواخت می تواند شاخص سلامت جمعیت را نشان دهد.

درمورد ماهیانی که در قفس یا استخر پرورش می یابند، زمانی که تلفات به سطح هشدار دهنده برسد باید از نظر بیماری نمونه برداری صورت گیرد. سطح هشدار دهنده تلفات براساس درصد مرگ و میر روزانه بیان می شود. متناسب با سطح قابل پذیرش تلفات در پایان دوره تولید، هرمزرعه باید درمورد درصد روزانه تلفات تصمیم گیری نماید که در یک واحد مشخص، نشانگر زمان ضرورت بررسی درزمینه بیماری ها است. مزرعه دار باید براساس پایش و سیستم هشدار در مراحل اولیه بیماری را شناسایی و بسرعت اقدام نماید. برای کاهش اثرات بیماری می توان استراتژی های پرورشی یا کشاورزی دیگر بکار برد.

در استراتژی پیشگیرانه بیماری، هدف کاهش استرس در مزارع به منظور اجراء یک برنامه پرورش خوب، استفاده از تقویت کننده سیستم ایمنی ماهی و استفاده از واکسن های تجاری دردسترس است. در پرورش متراکم دیگر جانوران پرورشی مأکول مشخص شده که کاربرد وسیع آنها پیش از آنکه جانوران در معرض بیماری قرار گیرند، می تواند بیماری های مخرب را کنترل نماید. هر واکنش مربوط به پاتوژنی خاص است و مثلاً واکسیناسیون در برابر *S. iniae* فقط روی همین گونه اثر می کند. عکس این موضوع نیز صادق است.

درمجموع تنها با ترکیب کشاورزی با مدیریت مناسب بیماری می توان صنعت تیلاپیا را به بیش از ۹۰٪ بازماندگی رساند که هم اکنون در صنعت تولید سالمون اتفاق افتاده است (Komar, 2008).

کنترل بیماری های تیلاپیای پرورشی مستلزم تجدید نظر در روش های متراکم کشت این ماهی است. پرورش این ماهی بتدریج به سمت سیستم های متراکم با آب بازگردشی می رود. هرچند تیلاپیا در این سیستم ها بخوبی پرورش می یابد اما به همان نسبت عوامل بیماری زا هم افزایش می یابند. اگر عامل بیماری زا وارد سیستم بازگردش شود تقریباً غیرقابل ریشه کنی است. ریشه کن شدن عامل بیماری زا نیاز به حذف جمعیت پرورشی، استریل و ضدعفونی کردن و تجدید جمعیت کردن دارد و در این شرایط قطعاً پرورش دهنده خسارت می بیند. حتی با استریل کردن سیستم هم نابودی عوامل بیماری زا ۱۰۰٪ انجام نمی شود.

برای پیشگیری از بیماری لازم است بدانیم که عامل بیماریزا چگونه بروز می کند و چگونه بر مقاومت تیلاپیا به این بیماری غلبه می کند. عمومی ترین راه آلودگی معرفی ماهی آلوده به محیط است. بیشتر پرورش دهندگان تجاری از یک یا چند بیماری آسیب دیده اند زیرا کارگاه های فاقد بیماری کمیاب هستند.

عوامل بیماری زا عموماً همراه با بچه ماهیان از کارگاه تکثیر منتقل می شود. زمانی که عامل بیماری زا بروز می کند، نرخ آن بسرعت افزایش خواهد یافت. در سیستم بازگردش محیط مطلوبی برای افزایش و چند برابر شدن پاتوژن ها وجود دارد زیرا حرارت، مواد غذایی، آب غنی و مکان های مناسب برای بروز آنها بوفور دردسترس می باشد. در سیستم های سرپوشیده آلودگی به استرپتوکوک شدید می شود.

در برخی از مزارع آلودگی از آب آلوده ای که از مکان های دیگر آمده وارد می شود. کانال هایی انتقال آب بین مزارع انواع عوامل بیماری زا را دارند. عوامل بیماریزا از طریق کفش، تور و دست آلوده نیز انتقال می یابند. پرورش دهنده باید در مزرعه خود یادآوری کند که راه های انتقال عوامل بیماری عمدتاً ماهی، آب، دست و کفش پرسنل است. مهمترین راه دوری از آلودگی تهیه ماهی غیرآلوده است. در مرحله بعد پرورش دهنده باید به تهیه خوراک مطلوب، دوری از شلوغی و ازدحام جمعیت، محدودکردن بازدیدها، حفظ بهداشت شخصی پرسنل، شستشوی دست ها، ضدعفونی کردن ظروف و کفش ها، آلوده نبودن وسایل حمل و نقل توجه داشته باشد.

واکسن های تزریقی اخیراً توسعه یافته و نتایج اولیه آن امیدوارکننده است. البته اینکه ماهیان واکسینه شده در مناطق آلوده همانند ماهیان غیرواکسینه در محیط های غیرآلوده عمل کنند تأیید نشده است. واکسن برای هر نژاد و هر منطقه متفاوت است. قیمت هر واکسن تیلاپیا ۶۰٪ قیمت هر بچه ماهی است. واکسن زدن تا قبل از بچه ماهی ۲۰ گرمی امکان پذیر نیست. با این وجود ماهی ها در معرض آلودگی هستند. هر ماهی بطور مجزا باید گرفته و واکسینه شود.

قیمت بچه ماهی های واکسینه نشده در شرایط وجود آلودگی به استرپتوکوک، گران تر است. مرگ ومیر تا ۷۵٪ در مزارع دیده شده است. استرپتوکوک روی رشد ماهی اثر کرده نرخ رشد را بطور معنی دار کاهش می

دهد. نگهداری ماهی بعد از رسیدن به وزن تجاری مناسب نیست و باید زودتر برداشت شود. درصورت عدم برداشت بیماری بروز خواهد کرد. ماهیان آلوده در صید زنده و زنده فروشی بشدت تلف می شوند. شکل ظاهری ماهی آلوده و غیرآلوده در هنگام عرضه در بازار متفاوت است. ماهیان آلوده که در تانک ها عرضه می شوند یک یا هردو چشم را ندارند. بدن آنها پوشیده از لکه قارچی است و در سراسر بدن خونریزی دارند. این ماهیان زود می میرند و متقاضی ندارند. پرورش دهنده باید ماهی را از مرحله بچه ماهی نورس نابالغ در سریع ترین زمان پرورش دهد. استرپتوکوکوس ممکن است توانایی تجاری مزرعه دار را تحت تأثیر قرار دهد. این عامل بیماری زا خطری جدی محسوب می شود.

.Americulture, 2011 (www.americulture.com/Disease.htm)

در کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا در مرکز تحقیقات بافق طی بررسی حاضر عوامل بیماریزای باکتریایی، قارچی و انگلی مشاهده شدند که عامل تلفات تخم و بچه ماهیان بوده و علائم بیماری را در بچه ماهیان و مولدین ایجاد کردند. در این کارگاه ها باتوجه به این که مطالعه حاضر به موازات پروژه های تحقیقاتی آبزی پروری مرکز صورت می گرفت، تلاش بر آن بود که شرایط محیطی و فاکتورهای آب در محدوده ثابت حفظ شوند و استرس های محیطی تاحد امکان کنترل می شدند.

اما به نظر می رسد مهمترین عامل بیماریزا در این کارگاه ها استرس های مربوط به جابجایی ماهیان و تراکم زیاد باشد.

مولدین با اهداف تکثیر و زیست سنجی جهت مطالعه در پروژه های مختلف مکرراً از حوضچه های نگهداری پلی اتیلنی صید و دستکاری و جابجا می شدند و در طی این روند بشدت تحت استرس قرار می گرفتند. خوشبختانه این شرایط با اجراء سیستم هاپا برای مولدین اصلاح شد.

نگهداری بچه ماهیان درفصل های پاییز و زمستان با تراکم زیاد بدلیل کمبود فضای کافی و نیاز به تأمین بچه ماهی برای ابتدای فصل پرورش که اواخر زمستان و بهار است موجب ایجاد شرایط نامطلوب می شود. با تغییر سیستم نگهداری بچه ماهیان و انتقال آنها به هاپای نرسینگ عوامل بیماریزا کنترل شدند.

اجتناب از تراکم زیاد بچه ماهیان، کاهش و کنترل تغذیه بچه ماهیان در فصل سرد که باید برای ارائه بچه ماهی به تعداد زیاد و در ابتدای فصل پرورش متناسب با میزان تقاضا آماده باشند، انتقال آنها به حوضچه های بزرگتر به موازات افزایش وزن یا اجتناب از تغذیه زیاد در شرایط نگهداری متراکم، همراه با پایش دائم در کنترل آلودگی و تلفات ناشی از آن بسیار مؤثر بود.

مناطق مرکزی کشور که نمونه آن منطقه بافق است که مرکز و کارگاه های آبزی پروری تیلاپیا در آن قرار دارند، دارای فصل سرد و گرم کاملاً متمایز، تابستان های بسیار گرم، زمستان های بسیار سرد و تغییر ناگهانی فصل هستند. ماهی تیلاپیا گرمابی است و آغاز فصل مناسب پرورش آن از اواخر زمستان است. بدین ترتیب

فرآیندهای تکثیر، تولید و ذخیره سازی بچه ماهی باید طی پاییز و زمستان صورت گیرد. بدین منظور، برنامه ریزی تأمین فضاهای مناسب و کافی، تأمین سوخت جهت حفظ دمای مناسب آب کارگاه ها در فصل سرد و کنترل کیفیت آب از اصول مهم برنامه تولید بچه ماهی و مبنای کنترل بهداشتی کارگاه ها محسوب می شود.
بطور کلی حفظ تراکم مناسب تخم در انکوباتورها و تراف ها، رعایت اصول بهداشتی و شستشوی دقیق تجهزات مربوط به تکثیر و نگهداری بچه ماهیان همراه با پایش شرایط بهداشتی کارگاه ها در کنترل و رفع مشکلات بهداشتی بسیار مؤثر بوده است.

منابع

- بیطرف، احمد. (۱۳۹۱). گزارش‌نهایی‌پروژه، بررسی روش های تولیدتک جنس نرتیلاپیای سیاه در شرایط آب لب‌شور بافق. مرکزتحقیقات ماهیان آب‌شور داخلی‌بافق، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- ذریه زهرا، سید جلیل؛ مهرابی، محمدرضا؛ رجبی پور، فرهاد؛ مشائی، نسرین. (۱۳۹۳). ملاحظات بهداشتی بسترساز توسعه تیلاپیا در کشور. نخستین همایش ملی تیلاپیا، بافق یزد، ۱۹-۱۸ آذر ۱۳۹۸.
- رجبی پور، فرهاد. (۱۳۹۱). گزارش نهایی پروژه، بررسی امکان معرفی تیلاپیا به صنعت تکثیر و پرورش آب های داخلی مناطق کویری ایران. ایستگاه تحقیقات ماهیان آب‌شور داخلی بافق، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۹۶ ص.
- رحمتی، مراحم. (۱۳۹۲). گزارش نهایی پروژه، بررسی اقتصادی پرورش ماهیان تیلاپیا در ایران. مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۵۷ص.
- سرسنگی، حبیب. (۱۳۹۱). گزارش نهایی پروژه، مطالعه وضعیت سازگاری، رشد و بازماندگی تیلاپیا *(Oreochromis* sp.*)* در شرایط پرورشی آب لب‌شور بافق. مرکزتحقیقات ماهیان آب‌شور داخلی‌بافق، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۴۶ ص.
- علیزاده، مرتضی. (۱۳۹۱). گزارش نهایی پروژه، ارزیابی زیست محیطی (EIA) پرورش ماهی تیلاپیا در بافق یزد، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۱۳۰ص.
- فریدپاک، فرهاد. (۱۳۶۳).پرورش ماهی تیلاپیا نیلوتیکا. واحد آموزش شیلات وآبزیان، سازمان شیلات ایران.
- فریدپاک، فرهاد. (۱۳۶۵).بیولوژی وپرورش ماهی تیلاپیا. واحدآموزش شیلات وآبزیان، سازمان شیلات ایران.
- محمدی، محمد. (۱۳۹۱). گزارش‌نهایی‌پروژه، تعیین مناسب ترین جیره غذایی برای پرورش تیلاپیای سیاه (*Oreochromis niloticus*) در آب لب شور بافق. مرکزتحقیقات ماهیان آب‌شور داخلی‌بافق، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۵۸ ص.
- مرادی، یزدان. (۱۳۹۲). گزارش‌نهایی‌پروژه، بررسی اثر انجماد سریع و کند روی کیفیت گوشت ماهی تیلاپیا. مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان. مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۱۶۷ ص.
- مشائی، نسرین. (۱۳۹۱). گزارش‌نهایی‌پروژه، تعیین بیوتکنیک تکثیر و تولید بچه ماهیان نورس تیلاپیای پرورشی درشرایط آب لب‌شور بافق.مرکزتحقیقات ماهیان آب‌شورداخلی‌بافق، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.۵۷ص.
- Abou- El-Atta, M. E. (2008). Saprolegniosis in freshwater cultured tilapia Nilotica *(orechromis niloticus)* and trial for control by using bafry D50/500. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 12-14 Oct. 2008, Cairo, Egypt.
- Abowei, J. F. N., Briyai, O. F. and Bassey, S. E. (2011). A Review of Some Viral, Neoplastic, Environmental and Nutritional Diseases of African Fish. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(5), 227-235.

- Banu, A. N. H. and Khan, M. H. (2004). Water quality, stocking and parasites of freshwater fish in four selected areas of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Scienc*e, 7,436-440.
- Barbosa, T. S., Pereyra, C. M., Soleiro, C. A., Dias., E. O., Oliveira, A. A., KellerK, K. M., Silva, P. PO., Cavaglieri, L. R. Rosa, C. AR. (2013). Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. *International Aquatic Research*, 5(3).
- Bhujel, R.C., Yakupitiyage, A., Little, D. C. and Turner, W. A. (2001). Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa-in-pond system. *Aquaculture*, 194, 303-314.
- Bhujel, R. C. (2014). A Manual for Tilapia Business Management. CABI Pub. 216P.
- Blashine-Earn, S. and Earn, D. J. D. (1998). On the evolutionary pathway of parental care in mouth-brooding cichlid Fish. Proceedings of the Royal Society of London, 265, 2217-2222.
- Bullock, G. L. and Herman, R. L. (1985). *Edwardsiella* infections of fishes. *U.S. Fish and Wildlife Service.* Fish Disease Leaflet 71, United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Division of Fishery Research, Washington.
- Chang, P. H. and Plumb, J. A. (1996). Effects of Salinity on *Streptococcus* Infection of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquacultur*e, 6(1), 39-45.
- Chitmanat, C., Lebel, P., Whangchai, N., Promya, J. and Lebel, L. (2014) Tilapia diseases and management in river-based cage culture in northern Thailand. World Aquaculture 2014, Adelaide, South Australia, June 7-11.
- Conroy, G. (2001). Diseases Found in Tilapia Culture in Latin America. *Global Aquaculture Alliance,* 52-55.
- Coward, K. and Bromage, N. R. (2000). Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 1-25.
- 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.
- 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(18), 1346-1356.
- Czeczuga, B., Czeczuga-Semeniu, E. K., Kłyszejko B. and Szumiec J. (2005). Carotenoid content in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) cultured In Poland. The Polish Journal of Aviation Medicine and Psychology, 4(1) 25-32.
- DeLong, D. P., Losordo, T. M. and Rakocy, J. E. (2009). Tank Culture of Tilapia. SRAC Publication No. 282.
- El-Sayed, A. M. (2006). *Tilapia culture*. CABI Pub. 277P.
- Encarnacao, P. (2010). Mycotoxin in aquaculture. ASAIM Southeast Asia Aquaculture Conference, August 2-5, 2010, Manila Philippine.
- F.A.O. (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture Opportunities and challenges. Rome, 2014.
- Getchell, R. (1998). *S. iniae* causes tilapia infection. Fish farming news 6, 16.
- Gussev, A. V. (1985). Parasitic metazoan. Class monogenea. In: Bauer, ON (Ed.), Key to the parasites of freshwater fishes of the USSR. (1st Edn.), Vol, 2. Nauka, Leningrad. p425 (In Russian).
- Hageskal, G., Lima, N. and Skaar, I. (2009). The study of fungi in drinking water, *Mycological Research*, 113,165-172.
- Hassan, A. A., Hassan, M. A., El-Shafei, H. M, El-Ahl, R. M. H. S. and Abd-El-Dayem, R. H. (2011). Detection of Aflatoxigenic Moulds Isolated From Fish and their Products and its Public Health Significance. Nature and Science, 9(9), 106-114.
- Jakiã-Dimiã, D., Jeremiã, S., Nešiã, K., Radosavljeviã, V. (2005). The influence of mycotoxins in food on fish health status. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke / Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad, 109, 73-79.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C. and Stalpers, J. A. (2008). Dictionary of the Fungi. 10th Edition. Wallingford: CAB International. 640 P.
- Komar, C. (2007). Parasitic Diseases Of Tilapia The Fish Site. MSD Animal Health Co. www.thefishsite.com/articles/294/parasitic-diseases-of-tilapia/
- Komar, C. (2008). Disease Management in Tilapia. *Global Aquaculture Advocate*, 77-79.
- 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.
- Little, D. C., Bhujel, R. C. and Pham, T. A. (2003). Advanced nursing of mixed-sex and mono-sex tilapia (Oreochromis niloticus) fry, and its impact on. subsequent growth in fertilized ponds. *Aquaculture*, 221, 265-276.

- Mahrous, K. F., Khalil, W. K. B., Mahmoud, M. A. (2006). Assessment of toxicity and clastogenicity of sterigmatocystin in Egyptian Nile tilapia. *African Journal of Biotechnology*, 5 (12), 1180-1189.
- Marsh, I. B., Whittington, R. J., O'Rourke B., Hyatt A. D. and Chisholm, O. (2002). Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. *Molecullar and Cellular Probes*, 16, 137-151.
- Mjoun, K. and Rosentrater, K. A. (2010). Tilapia: Environmental Biology and Nutritional Requirements . South Dacota Cooperative Extension Service, FS963-02 7P.
- Nguenga, D. (1988). A note on infestation of *Oreochromis niloticus* with *Trichodina* sp. and *Dactylogyru*s sp., 117-119. In: R. S. V. Pullin, T. Bhukaswan and J. L.K. Tonguthai.
- Office International des Epizooties (OIE) (2012). Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Epizootic Haematopoietic Necrosis, Chapter 2.3.1. pp. 256-276.
- Office International des Epizooties (OIE) (2012). Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Koi herpesvirus Disease, Chapter 2.3.6. pp. 328-344.
- 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(1), 2812-9.
- Park, S. B., Aoki, T. and Jung, T. S. (2012). Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*, 43-67.
- Park, D. L., Ayala, C. E., Guzman-Perez, S. E., Lopez-Garcia, R. and Trujillo, S. (2000). Microbial Toxins in Foods: Algal, Fungal, and Bacterial. CRC Press, 43P.
- Pillay, T.V.R.(1990). Aquaculture: principles and practices. Oxford, Fishing News Books, 575P.
- Plumb, J. A. (1997). Infectious diseases of tilapia. In: *Tilapia aquaculture in the Americas* (ed by B.A. Costa-Pierce & J.E. Rakocy), 212-228, World Aquaculture Society, Bataon Rouge, Louisiana.
- Popma, T. and Masser, M. (1999.) Tilapia Life History and Biology, 2. SRAC Pub. No. 283.
- Pruginin, Y. (1967). Report to the Government of Uganda on the experimental fish culture project in Uganda. 1965-66. 19 p. Report: FI-UNDP/TA 2446.
- Popma, T. J. and Lovshin L. L. (1995). Worldwide Prospects for Commercial Production of Tilapia. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Department of Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University, Alabama 36849, 42P.
- Ramadan, H. H. (1991). Effect of Host Species, Sex, Length, Diet and Different Seasons on the Parasitic Infection of Tilapia Fish in Lake Manzalah. *Journal of King Abdulaziz University, Marine Science,* 2, 81-91.
- Reed, P., Francis-Floyd, R. and Klinger, R. E. (2003). Monogenean Parasites of Fish. Extention Institue Food and Agricultural Science, FA-28, University of Florida.
- Roberts, R. J. (2000). Fish Pathology. 3rd ed. 472 pp. W. B. Saunders, Edinburgh.
- Ross, L. (2000). Environmental physiology and energetics. In: Beveridge MCM, McAndrew, B. J. (ed.). *Tilapias: Biology and Exploitation*. Fish and Fisheries Series, 25, Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, pp. 89-128.
- Roberts, R. Y. (2001). Fish pathology, thirdedition, Sunders, London, UK, 380-412P.
- Samson, R., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. and Filtenborg, O. (2001). Introduction to food and airborne fungi, Ponsen&Looyen, Wageningen, Netherlands, 389pp.
- Shlapobersky**,** M**.**, Sinyakov**,** M**.** S**.**, Katzenellenbogen**,** M**.**, Sarid**,** R**.,** Don**,** J., and Avtalion, R. R. (2010)**.** Viral encephalitis of tilapia larvae: primary characterization of a novel herpes-like virus. *Virology*, 399(2), 239-47.
- 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 (3-4), 229-235.
- Shoemaker, C. A., Xu, D. H., Klesius, P. H. and Evans, J. J. (2007). Concurrent infections (parasitism and bacterial diesease) in tilapia. *Aquatic Animal Health Research Laboratory. USDA-Agricultural Research Service.*
- Stickney, R. R. (2000). Encyclopedia of aquaculture. Wiley & Sons Pub., 1063.
- Soto E. (2010). *In vivo* and *in vitro* pathogenesis of *francisella asiatica* in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). The Interdepartmental Program in Veterinary Medical Sciences through the Department of Pathobiological Sciences. Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- 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.
- Trewavas, E. (1983). Tilapiine Fishes of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakil*a. British Museum (Natural History) Publ. No. 898. 593P.

- Turgut**,** E. and Akın, S. (2003). A Review on Gyrodactylidae and dactylogyridae (Monogeneans) and Their Importance in Aquaculture. *Journal of Agricultural Faculty* of *Gaziosmanpasa*, Gaziosıuanpasa University, Ziraat Fakültesi Dergisi, Tokat, Turkey, 2, 43-48.
- Whitman, K. A. (2004): Finfish and Shellfish Bacteriology Manual; Techniques and Procedures. ISBN 0-8138-1952-0 – Iowa State Press. 258P.

پیوست

دستورالعمل مدیریت بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا

ضرورت سلامت و کنترل بیماری ماهیان پرورشی باتوجه به اهمیت جنبه های زیست محیطی، کنترل آلودگی، سلامتی انسان، کاربرد تکنولوژی های آبزی پروری، مراعات اصول بهداشتی، تشخیص و مداوای بیماری ها، فرموله کردن واقدامات پیشگیری از امراض و تلاش برای افزایش مقاومت آبزیان، بسیار روشن است.

بیماری های آبزیان پرورشی و خسارات ناشی از آن بویژه در سال های اخیر، صنعت آبزی پروری را در نقاط مختلف جهان تحت تأثیر قرار داده و درمواردی موجب توقف کامل فعالیت ها و هدررفتن سرمایه های کلان شده است. بعلاوه بیماری می تواند بر اقتصاد ماهی تیلاپیای پرورشی و فروش و صادرات آن تأثیر بگذارد.

ازآنجاکه تیلاپیا در مراحل نخست معرفی به صنعت آبزی پروری کشور بوده و درعین مقاوم بودن گزارشاتی از ابتلاء آن به بیماری های مختلف عفونی در نقاط مختلف جهان گزارش شده، لازم است بررسی بیماری ها و برنامه ریزی اصولی پیشگیری و کنترل آن مورد توجه قرارگیرد. باتوجه به احتمال ابتلاء این ماهیان به انواع بیماری های عفونی و احتمال انتقال برخی از پاتوژن ها به محیط و پرسنل کارگا ه‌ها، کنترل بیماری ها از نظر شیوع در منطقه فعالیت به منظور حفظ سلامت محیط، موجودات زنده و انسان ها نیز اهمیت زیادی دارد.

بیماری های مهمی تیلاپیا را تحت تأثیر قرار می دهند که ممکن است به مشکلات جدی منجر شود. برای مدیریت بهداشتی ماهیان تیلاپیای پرورشی پیشگیری از بیماری بر درمان ترجیح دارد. پیشگیری شامل مجموعه ای از آبزی پروری خوب و مدیریت کارگاه ها است. جنبه های کلیدی مدیریت بهداشت آبزیان شامل کاهش احتمال قرارگیری در معرض پاتوژن ها و کاهش عوامل استرس زا است که ماهی را از نظر آلودگی به عوامل بیماری زا مستعد می کنند.

تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* مهمترین گونه تیلاپیای پرورشی جهان است که در کشور ما مطالعات بهداشتی آن به موازات جنبه های تکثیر و پرورش در مرکزتحقیقات ملی آبزیان آبهای شور انجام شده است.

مهمترین راهکارهای پیشگیری و کنترل بیماری های ماهیان تیلاپیا در کارگاه های تکثیر و پرورش موارد ذیل هستند:

- مدیریت کارآمد اساس پیشگیری از بیماری ها و کنترل بهداشتی کارگاه های تکثیر و پرورش تیلاپیا است. با ترکیب آبزی پروری با مدیریت مناسب بیماری می توان صنعت تیلاپیا را به بیش از ۹۰٪ بازماندگی رساند.
- عمومی ترین راه بروز آلودگی معرفی ماهی آلوده به محیط است. بنابراین لازم است در تهیه ماهیان غیرآلوده حداکثر دقت بکار رود و در هرگونه جابجایی احتمال وجود آلودگی مورد توجه قرار گیرد.
- ماهیان وارداتی باید برای سنجش های مختلف احراز صلاحیت و اخذ مجوز سلامت به مدت مناسب برای ارزیابی وضعیت سلامت در شرایط قرنطینه نگهداری شوند.
- آموزش لازم به پرسنل مرتبط جهت استفاده از لباس و کفش مشخص و استریل و رعایت بهداشت فردی ضرورت دارد.

- در سایت های تکثیر و پرورش، از ترددهای غیرضروری ممانعت شده و حتی الامکان پرسنل مشخص آموزش دیده امکان تردد به مکان های مزبور را داشته باشند.
- برای حفظ شرایط قرنطینه، کلیه محیط های تکثیر و پرورش باید به شکل مناسب استریلیزه شود.
- آلوده نبودن تورها، تجهیزات و دیگر عوامل انتقال دهنده پاتوژن ها باید مرتباً بررسی شوند. پرورش دهنده باید در مزارع خود یادآوری کند که ماهی، آب، دست و کفش پرسنل راه های عمده انتقال عوامل بیماری زا هستند. بنابراین حفظ بهداشت شخصی پرسنل، شستشوی دست ها، ضدعفونی کردن ظروف و کفش ها و آلوده نبودن وسایل حمل و نقل از موارد مهم است.
- در مرحله بعد پرورش دهنده باید به تهیه خوراک مطلوب و اجتناب از تراکم زیاد ماهیان توجه داشته باشد.
- لازم است نظارت بر وضعیت بهداشت و سلامت کارگاه ها و مزارع در فواصل زمانی منظم توسط کارشناسان دامپزشکی اعمال گردد.
- بمنظور پیشگیری از بیماری، شناسایی عوامل بیماری و عوامل همه گیر شناسی توسعه بیماری اهمیت دارد. همچنین مهم است که آستانه تعادل بین تراکم ماهیان در مزرعه و سلامت را بدانیم.
- برای شناسایی کامل عوامل بیماری زا باید نمونه گیری از ماهی و بررسی همه گیری در چند مزرعه بمدت ۲-۱ سال صورت گیرد. پایش یکنواخت می تواند شاخص سلامت جمعیت را نشان دهد.
- باید توجه داشت که اگر عامل بیماری زا وارد سیستم بازگردش شود تقریباً غیرقابل ریشه کنی است. ریشه کن شدن عامل بیماری زا مستلزم حذف جمعیت پرورشی، ضدعفونی کردن و تجدید جمعیت دارد و در این شرایط قطعاً پرورش دهنده خسارت می بیند. با استریل کردن سیستم نابودی عوامل بیماری زا ٪۱۰۰ انجام نمی شود.
- حضور عوامل بیماری زا عامل ضروری برای توسعه بیماری است اما به تنهایی برای بروز بیماری کافی نیست. توسعه بیماری در شرایطی روی می دهد که ترکیبی از عوامل محیطی غیرمعمول وجود داشته باشد و میزان استرس جمعیت درحال پرورش به نقطه ای برسد که برای ایمنی ماهی مضر است. مثلاً ممکن است درجه حرارت همراه با تغییرات فصلی زیاد یا کم شود و این امر به ماهی استرس وارد می کند. بنابراین می توان گفت استرس به هر نحو کلید بروز بیماری است و باید از بروز آن درحد امکان جلوگیری کرد.
- شیوع و شدت بیماری بستگی به عوامل محیط زیستی مانند شرایط اقلیمی، سیستم پرورش، تراکم، شرایط آب، و عوامل زیستی مانند سن، ژنتیک، تغذیه و استرس دارد. برای گونه تیلاپیای نیل *O. niloticus* دمای مناسب آب ۳۲-۲۴°C و شوری مناسب ۱۵ppt-۵ است. دمای ۱۶-۱۰°C باعث استرس شده و در این شرایط کاهش تغذیه و بروز بیماری مطرح می شود. مقدار اکسیژن باید نزدیک سطح اشباع ۳mg/lit-۲ و نیتروژن محلول بویژه آمونیوم غیریونیزه در سطوح پایین و کمتر از ۰.۰۵ppm حفظ شود. محدوده pH مناسب برای تیلاپیا ۹-۷ است.

- تغییرات فصلی و آب و هوایی نقش مهمی در ابتلاء ماهیان تیلاپیای پرورشی به بیماری ها و توسعه آلودگی در ماهیان آب شیرین بویژه در اواخر پاییز و زمستان که دما پایین است دارد. بنابراین باید تدابیر لازم برای تثبیت و کنترل شرایط محیطی قبل از تغییر فصل اندیشیده شود.
- تغییرات فصلی تأثیر مشخصی بر بروز آلودگی در گونه های مختلف تیلاپیا دارند. آلودگی انگلی شدید در زمستان مشاهده می شود و کمترین آلودگی در تابستان گزارش شده است.
- واحدهای آبزی پروری یعنی تانک ها، استخرها، آبراهه ها و دیگر محیط های آبزی پروری باید تمیز باشند و به نحوی طراحی شده باشند که مواد دفعی و غذای مصرف نشده تجمع نکند.
- بمنظور عملکرد بهتر مدیریت و کیفیت بهتر ذخیره در کارگاه تکثیر، جدا کردن تانک های بازگردش از یکدیگر بطوریکه هر مجموعه واجد سیستم بازگردش مخصوص خود باشد مناسب است زیرا بدلیل کنترل بیماری ها بویژه آلودگی های انگلی موجب ایمنی بیشتر می شود.
- دستجات بچه ماهی نورس یا انگشت قد باید از یکدیگر جدا شوند تا کنترل شیوع بیماری امکان پذیر شود.
- در مورد تولید مقادیر زیاد بچه ماهی تیلاپیا، نیاز به توجه بیشتر به مولدین، غذای با کیفیت و برنامه کنترل بیماری ها وجود دارد. سطح بیماری های تیلاپیا عمدتاً به تراکم محیط های پرورشی مربوط می شود. ازاین رو اگرچه علاقه بهره بردار به افزایش تراکم با هدف تولید در واحد بیشتر است اما این امر ریسک ابتلا را به همان اندازه افزایش می دهد.
- عوامل بیماری زا عموماً همراه با بچه ماهیان از کارگاه تکثیر منتقل می شوند. درصورتی که عامل بیماری زا بروز کند نرخ آن بسرعت افزایش خواهد یافت. کنترل بهداشتی بچه ماهیان قبل از انتقال به مزرعه یا کارگاه هدف اهمیت زیادی دارد.
- آبزی پروران بهتر است از منبع محلی برای بچه ماهی استفاده نمایند زیرا احتمال بروز بیماری ماهی کاهش می یابد. محققین بیماری هایی در گونه های مختلف تیلاپیا گزارش کرده اند که ناشی از انتقال پاتوژن ها بین مناطق مختلف بوده است. در شرایط ایده آل باید هر کشور و حتی هر استان و هر منطقه از نظر تولید بچه ماهی خودکفا باشد.
- کیفیت آب و غذا و شرایط حمل ونقل باید کنترل شده باشد. باید بچه ماهیان نورس سالم که درمعرض استرس قرار نداشته اند در اختیار آبزی پروران محلی قرار گیرد. تولید بچه ماهی در مقیاس زیاد نیازمند مدیریت قوی است.
- برخی از پرورش دهندگان آلودگی را از آب آلوده که از مکان های دیگر گرفته اند دریافت می کنند. کانال هایی که آب را از یک مزرعه به مزرعه دیگر می برند انواع عوامل بیماری زا را دارند و باید از نظر بهداشتی پایش شوند.

- در سیستم بازگردش تیلاپیا خوب رشد می کند اما در این سیستم ها انتشار ناخواسته عوامل بیماری زا مشکلاتی را بوجود می آورند. سیستم بازگردشی محیط مطلوبی برای افزایش و چند برابر شدن پاتوژن ها است زیرا حرارت، مواد غذایی، آب غنی مکان های مناسب برای بروز امراض به میزان فراوان دردسترس می باشد.
- پرورش متراکم در استخرها و سیستم های بسته با استفاده از سیستم آب بازگشتی که با کاهش کیفیت آب توأم است، موجب استرس در ماهیان پرورشی می شود و احتمال بروز و شدت بیماری در تیلاپیا را افزایش می دهد.
- در کشت متراکم مثلاً در پرورش تیلاپیا در سیستم بازگردش می توان با فیلتر کردن آب پاتوژن ها را کاهش داد. استفاده از نور UV و ازون هم در این سیستم ها مناسب است.
- درمورد ماهیانی که در قفس یا استخر پرورش می یابند، وقتی تلفات به سطح هشدار دهنده برسد باید از نظر بیماری نمونه برداری صورت گیرد. سطح هشدار دهنده تلفات براساس درصد مرگ و میر روزانه بیان می شود. متناسب با سطح قابل پذیرش تلفات در پایان دوره تولید، هرمزرعه باید درمورد درصد روزانه تلفات تصمیم گیری کند که در هر واحد نشانگر زمان ضرورت بررسی درزمینه بیماری ها است. مزرعه دار باید براساس پایش و سیستم هشدار در مراحل اولیه بیماری را شناسایی و بسرعت اقدام نماید.
- در روش تولید تیلاپیا در قفس موقعیت قرارگیری قفس ها، نامشخص بودن هوا، کیفیت آب، مقدار آب، جریان آب، دانش و تجربه، کیفیت بچه ماهی و اندازه، تلفات، وضعیت بازار همگی از عواملی هستند که می توانند سیستم را تحت تأثیر قرار دهند و باید بخوبی مدیریت شوند.
- در موارد بیماری حاد برای کاهش اثرات بیماری می توان استراتژی های پرورشی دیگر بکار برد.
- صید و انتقال تیلاپیا از یک استخر به استخر دیگر، ماهی را تا ٪۵۰ را بیشتر در معرض بیماری قرار می دهد بنابراین تا حد ممکن از جابجایی ماهی پرهیز گردد.
- پرورش دهنده باید ماهی را از مرحله بچه ماهی نورس نابالغ در سریع ترین زمان پرورش دهد.
- در هر شرایط تجمع جلبکی یا قارچی در سیستم های آبزی پروری نباید روی دهد.
- ماهیان تلف شده و بیحال باید از سیستم خارج شوند. چنانچه ماهی بر اثر بیماری مرده باشد عوامل بیماری زا را منتشر می کند.
- نگهداری ماهی بعد از رسیدن به وزن تجاری مناسب نیست و باید زودتر برداشت شود. درصورت عدم برداشت بیماری بروز خواهد کرد. ماهیان آلوده در صید زنده و زنده فروشی بشدت تلف می شوند. شکل ظاهری ماهی آلوده و غیرآلوده در هنگام عرضه در بازار متفاوت است. ماهیان آلوده که در تانک ها عرضه می شوند یک یا هردو چشم را ندارند، بدن آنها پوشیده از لکه قارچی است و درسراسر بدن خونریزی دارند. این ماهیان زود می میرند.

- تغذیه ماهی برای افرایش مقاومت آن اهمیت دارد. بویژه کیفیت غذا در سیستم تانک و آبراهه مهم است چراکه ماهی در این سیستم ها به غذای طبیعی دسترسی ندارد. ازاین رو پیشنهاد می شود در سیستم هایی که دسترسی به غذای طبیعی وجود ندارد از خوراک با درصد پروتئین بالا (خوراک قزل آلا) و در سیستم های واجد غذای طبیعی مانند پرورش نیمه متراکم در استخرهای خاکی از خوراک دارای درصد پروتئین پایین (خوراک کپور و یا پروتئین پایین تر تا ۳۰-۲۵ درصد) استفاده شود.
- جنبه های کیفی خوراک نیز مهم است و نگهداری خوراک بصورت طولانی مدت یا در اماکن نامناسب ممکن است منجربه فساد گردد. بیشتر خوراک های تجاری ماهی شامل چربی های چندغیراشباعی هستند که از روغن ماهی گرفته شده و با اکسیژن هوا واکنش نشان داده اند و انواع ترکیبات سمی را بوجود می آورند. این شرایط می تواند موجب بیماری ماهیان پرورشی شود.
- کپک هایی که روی غذای انبار شده رشد می کنند مواد سمی تولید می کنند. آبزی پروران باید از خوراک های باکیفیت استفاده کنند، غذا را بیش از ۹۰ روز نگهداری ننمایند و در ذخیره سازی خوراک به منظور پیشگیری از کاهش کیفیت غذا دقت داشته باشند.
- در هر شرایط به محض مشاهده آثار بیماری در ماهیان لازم است اقدامات ممکن کنترلی آغاز و با هماهنگی کارشناسان مرتبط، نسبت به رفع مشکل اقدام شود.
- پس از هر دوره پرورش باید سیستم های نگهداری ماهی تمیز و ضدعفونی شوند تا عوامل بیماری از یک دوره به دوره دیگر منتقل نگردد.
- درمورد باکتری ها استراتژی های عملکردی موجب کاهش استرس ماهی شده و منجربه پرورش مطلوب می شود. کاربرد واکسن ها و آنتی بیوتیک ها روش های درمانی فعال هستند.
- برای درمان آلودگی استرپتوکوکوس *Streptococcus* مدیریت استرس بسیار اهمیت دارد.
- حداقل ۱۰-۵ ماهی از مزرعه باید جهت پایش مزارع مشکوک به بیماری باکتریایی آزمایش شود.
- استرپتوکوکوس می تواند توانایی تجاری مزرعه دار را تحت تأثیر قرار دهد. استرپتوکوک روی رشد ماهی اثر کرده نرخ رشد را بطور معنی دار کاهش می دهد. این عامل بیماری زا خطری جدی محسوب می شود.
- استرپتوکوک همه مراحل زندگی را تحت تأثیر قرار می دهد اما ماهیان در وزن های ۱۰۰ گرم تا اندازه های بازاری برای ابتلاء مستعدتر هستند.
- مشخصات کلینکی ابتلاء ماهی به استرپتوکوک شامل سپتی سمی هموراژیک عفونت خونی، بیحالی و ضعف، کاهش اشتها، تغذیه غیرطبیعی، لوله گوارش خالی همراه با کیسه شنای بزرگ یک علامت مهم نبودن فعالیت گوارشی، خونریزی پوستی بویژه دراطراف دهان و قاعده باله ها، گاهی پیگمانتاسیون قرمز در اطراف مخرج خونریزی ، وجود لکه های خون در اندام های داخلی، عضلات و ناحیه شکم، تورم کلیه ها، طحال و کبد، شنا و حرکت مارپیچی، حرکت نامنظم، انحناء بدن، اختلالات چشمی خونریزی در چشم،

مات شدن قرنیه یک یا هردو چشم، بیرون زدگی چشم یا درون رفتگی چشم ، بادکردن شکم، وجود مایع یا آب آوردگی شکم که همراه با بیرون زدگی مخرج هستند که باید مورد توجه قرار گیرد.

- استرپتوکوک بیشتر در سیستم های بازگردش و متراکم رخ می دهد بنابراین سیاست توسعه این روش ها باید مورد تجدید نظر قرار گیرد.
- استرپتوکوک ها از آب استخر، گل ولای کف استخر، کودهای آلی استفاده شده برای بارورکردن استخر و ماهی های آلوده شده به این باکتری بدست آمده اند. بنابراین باید درمورد روش های آماده سازی استخر، تأمین مناسب آب، حذف سریع نمونه های مشکوک و استفاده از کود های پاک توجه ویژه داشت.
- استرپتوکوکوس از طریق بلعیدن همنوع خواری، و جراحت های پوست یا انتقال از محیط به ماهی منتقل می شود. ازاین رو ذخیره سازی ماهیان هم اندازه برای جلوگیری از همنوع خواری، جداسازی نمونه های مشکوک، جلوگیری از دستکاری و آسیب فیزیکی ماهی و رعایت بهداشت استخر و آب بسیار مهم است.
- باید توجه داشت که استرپتوکوک از ماهی به انسان منتقل می شود. پرسنل مرتبط باید در این زمینه اطلاعات و آموزش کافی داشته باشند. تیلاپیای مبتلاء به بیماری استرپتوکوکوس باید با دقت و احتیاط عمل آوری و تمیز شود. این باکتری می تواند ازطریق جراحت دست وارد بدن انسان شود. رعایت اصول بهداشتی و بویژه استفاده از دستکش وعدم لمس ماهی در حد امکان بسیار اهمیت دارد.
- در سیستم های سرپوشیده آلودگی به استرپتوکوک شدید می شود.
- برخی از عوامل زیست محیطی مانند درجه حرارت کم یا زیاد آب، شوری زیاد، قلیایی بودن آب و pH بیش از ۸، کاهش اکسیژن محلول در آب، تراکم بالای نیتریت و نیز تراکم بالای ماهی عوامل استرس زا برای ماهیان تیلاپیای پرورشی بوده وموجب ابتلاء به استرپتوکوکوس می شوند. حفظ کیفیت آب ازطریق تعویض، گردش آب، و هوادهی، همچنین استفاده از پرورش در سیستم های نیمه متراکم بدلیل کاهش استرس مفید است.
- در پرورش تیلاپیا در سیستم های بسته و استخر با تراکم ذخیره سازی بالا، شرایط برای بروز بیماری های استرپتوکوکی مستعد بوده و تا ۷۵٪ تلفات در سیستم بسته و ۵۰٪ در استخر رخ داده است.
- استرپتوکوک می تواند شدت یافته و طی ۳-۲ هفته با افزایش دما سبب مرگ ومیر شود اما در دمای پایین مزمن بوده و تلفات تریجی و مداوم ایجاد می کند. برنامه ریزی کنترل دما در کارگاه ها در این زمینه بسیار مهم است.
- دمای زیاد آب استرس آور است و بیماری را تشدید می کند. چنانچه کاهش دما امکان پذیر باشد روش مناسبی است مثلاً در مزارع کوچک ایجاد سایه و آب پاشی می تواند مؤثر باشد.
- در موارد آلودگی شدید استرپتوکوکی کاهش تدریجی یا کامل تغذیه می تواند تلفات را کنترل کند.

- استرپتوکوک توسط آنتی بیوتیک کاملاً کنترل نمی شود. استفاده از آنتی بیوتیک می تواند موجب مقاومت باکتری شده و صادرات محصول را با مشکل روبرو کند.
- واکسیناسیون تکنیک کلیدی پیشگیری از ابتلاء به استرپتوکوک و کاهش اثرات منفی اقتصادی آن است.
- باید توجه داشت در درمان بیماری های باکتریایی یا ویروسی به کمک واکسیناسیون، لازم است میکروارگانیسم در سطح گونه شناسایی شود.
- بطور کلی دو عامل پاتوژن مهم در تیلاپیا باکتری *Streptococcus iniae* عامل تلفات شدید در سیستم های متراکم تیلاپیا و دیگری ترماتود منوژن *Gyrodactylus* مشکل ساز در ذخایر تیلاپیای جوان و متراکم در آب های غنی یوتروفیک، می باشند. برنامه ریزی پیشگیری و کنترل بیماری ها با توجه خاص به این دو عامل باید صورت گیرد.
- باکتری ادواردزیلا *Edwardsiella* در تیلاپیاهای پرورشی شیوع دارد و محیط منبع آلودگی به این باکتری محسوب می شود. شرایط نامتعادل محیطی مانند دمای نامناسب و درجه حرارت بالای آب بیش از $۳۰^{o}C$، کیفیت پایین آب و مواد آلی زیاد در آب موجب بروز آن می شود.
- ماهیان مبتلا به ادواردزیلا علائمی شامل شنای چرخشی، حرکات مارپیچی و شنا نزدیک سطح آب، کاهش رنگدانه ها، بیرون زدگی چشم، تیرگی چشم، تورم شکم، خونریزی لکه ای پوست و باله ها، فتق رکتوم، آب آوردگی شکم، و جمع شدگی کبد، طحال و کلیه نشان می دهند که باید مورد توجه قرار گیرد.
- مدیریت استرس در محیط پرورش و پیشگیری بهترین گزینه از ابتلاء به ادواردزیلا است.
- بطور کلی برای کنترل و درمان بیماری های باکتریایی استفاده از آنتی بیوتیک ها باید مسئولانه باشد.
- درمان با آنتی بیوتیک باید طبق نظر متخصص بهداشت ماهی و دامپزشکان، در مدت کوتاه و بصورت اورژانسی صورت گیرد.
- نکته مهم این که ابتلاء تیلاپیا به باکتری ها می تواند بدون علامت بیماری باشد و بدین ترتیب پایش باکتریایی ضرورت دارد.
- ماهی سالم بندرت مورد تهاجم بیماری های قارچی قرار می گیرد. ماهیان عفونی شده که تحت استرس شوک دمایی، کاهش فصلی دما، آسیب مکانیکی قرار گرفته یا مبتلا به بیماری های دیگر هستند، به قارچ ها مبتلا می شوند. بدین ترتیب مشاهده علائم بیماری قارچی می تواند هشدار دهنده وجود عوامل بیماری زای دیگر باشد.
- جهت پیشگیری از شیوع قارچ های بیماری زا، کودهای آلی که برای باروری استخرها بکار می روند باید استریل باشند.
- ساپرولگنیا قارچ شایعی است که پس از باکتری ها می تواند سبب تلفات سنگین ماهیان تیلاپیای پرورشی شود. این قارچ بر اثر مدیریت ضعیف بویژه در شرایط کیفیت پایین آب و دمای نامناسب بروز می کند.

- ماهیان آلوده به قارچ ساپرولگنیا بیحال بوده و تغذیه مناسب ندارند و علائم لکه پنبه ای توده ای سفید رنگ در سطح بدن آنها و آسیب روی باله، دهان و پوست اغلب همزمان با آلودگی باکتریایی در آنها مشاهده می شود. آلودگی قارچی و لکه های رشته ای و پنبه ای سفید بشدت در تخم های فاسد شیوع دارد و می تواند به تخم های زنده منتقل شده سبب مرگ آنها گردد و لازم است بسرعت کنترل شود.
- در هچری ها قارچ ساپرولگنیا مهمترین معضل هستند که روی تخم و نوازادان رشد می کنند و از طریق انتقال منتشر می شوند.
- قارچ آسپرژیلوس آفلاتوکسین هایی را تولید می کند که برای ماهی ها سمی است. نگهداری نامناسب غذای ماهی باعث رشد این قارچ می شود.
- مالاشیت گرین و فرمالین قارچ کش های خوبی هستند اما روی اکوسیستم تأثیر مستقیم دارند. این مواد همچنین سبب سرکوب سیستم ایمنی ماهی بویژه درصورت کاربرد مکرر می شوند. آثار تراتوژنی و باقی ماندن این مواد در بافت ماهی از دیگر آثار آنها است. استفاده از پراکسیدهیدروژن و آکریفلاوین به میزان ۱ گرم در لیتر بدلیل سازگاری بیشتر با محیط زیست جهت مبارزه با آلودگی های خارجی تخم و ماهی مناسب تر است.
- عوامل انگلی باعث افزایش پاسخ استرس می شود و این شرایط مقاومت در برابر بیماری را کاهش داده ماهی را برای ابتلاء به انواع عفونت ها مستعد می کند.
- انگل ها می توانند حامل ویروس ها و باکتری های ماهیان باشند واحتمال انتقال عوامل بیماری زا از یک ماهی به ماهی دیگر ازطریق آنها وجود دارد. کنترل عوامل انگلی خودبخود شیوع بسیاری از عوامل بیماری زای دیگر را محدود می کند.
- مرگ ومیر ناشی از منوژن ها در کارگاه ها و مزارع تیلاپیا براثر تراکم شدید، کاهش کیفیت آب و عدم رعایت اصول بهداشتی پیش می آید.
- منوژن ها میزبان حدواسط ندارند و انتقال آنها از یک ماهی به ماهی دیگر از طریق تماس مستقیم روی می دهد.
- منوژن ها هرمافردیت هستند و تخم یا نوزادان را در آب رها می کنند. نوزاد فوراً به میزبان دیگر می چسبد.
- بهترین راه مبارزه با آلودگی انگلی ماهیان پرورشی جلوگیری از معرفی انگل به سیستم جدید است و می توان آن را با استفاده از اجراء پروتوکل قرنطینه (۳ هفته قبل از ورود به سیستم جدید قرنطینه شود) انجام داد.
- درصورت عدم امکان قرنطینه، ماهی را برحسب گونه در آب شور یا شیرین که متضاد محیط طبیعی زندگی این انگل باشد قرار می دهیم.
- باید توجه داشت که همانطور که ماهیان در معرض استرس بیشتر به انگل ها مبتلا می شوند، باید بصورت یک قانون طلایی به پرورش دهندگان یادآور شد که لازم است سطح استرس تا حد امکان کاهش یابد. بویژه

استرس های انتقال و جابجایی، تغییرات فصلی و کیفیت آب بسیار اهمیت دارند. آموزش به پرورش دهندگان برای کنترل موارد شیوع انگل ها ضرورت دارد.

- آلودگی به انگل ممکن است منجربه آلودگی به باکتری یا ویروس شود که می تواند مستقیماً بدلیل آسیب دیدگی پوست یا بطور غیرمستقیم بدنبال تغییرات فیزیولوژیک و سرکوب سیستم ایمنی روی دهد. بنابراین درصورت بروز انگل ها، پایش عوامل باکتریایی و ویروسی ضرورت دارد.
- باید توجه داشت که عوامل مختلفی در شیوع انگل مؤثر هستند. نمونه های کوچک تر نسبت به انگل آسیب پذیرترند. استرس ازجمله تغییر کیفیت آب و افزایش تراکم می تواند سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار دهد و ماهی را دربرابر انگل مستعد کند. تراکم سبب بروز استرس شده و شیوع انگل را تسهیل می کند و موجب تسریع انتقال انگل از ماهی به ماهی دیگر می شود. تغذیه نامناسب بویژه تغذیه اولیه موجب تضعیف سیستم ایمنی و کاهش مقاومت ماهی می گردد. عوامل محیطی بویژه میزان شوری و نوع سیستم پرورش در شیوع انگل ها مؤثر هستند مثلاً پرورش در تانک یا قفس بدلیل تراکم زیاد موجب افزایش شیوع انگل ها بویژه منوژن ها می گردد. بدین ترتیب باید برنامه ریزی مناسب روش پرورش، مدیریت عوامل محیطی و تغذیه مناسب برای پیشگیری از شیوع انگل ها صورت گیرد.
- حضور یک یا تعدادی انگل در یک ماهی علامت نگران کننده نیست اما تعداد انبوه انگل در ماهی نیاز به درمان جدی جمعیت دارد و باید دربرابر آن واکنش سریع نشان داد.
- تنها عناصر مورد نیاز برای تشخیص مؤثر انگل در مزرعه یک میکروسکوپ نوری جهت اندازه گیری و شکل شناسی آن و دانش پایه ای مربوط به شناخت انگل هاست.
- شناسایی انگل در سطح جنس برای استفاده از روش های درمانی کافی است.
- پایش انگل ها بخش مهمی از مدیریت سلامت است و باید بطور مرتب صورت گیرد تا بتوان دربرابر آن واکنش مناسب اتخاذ کرد.
- درمورد انگل ها کنترل عوامل زیست محیطی، پیشگیری از عوامل بیماری و کاربرد مواد شیمیایی می توانند عوامل بیماری زا را از بین ببرند.
- در روش پرورش تیلاپیا در قفس، با حرکت دادن قفس به قسمت عمقی تر آب می توان از آلودگی انگلی آنها جلوگیری کرد.
- برای استفاده از هر ماده شیمیایی جهت مبارزه با انگل ها ابتدا باید در مقیاس کوچک ارزیابی صورت گیرد.
- انگل منوژن ژیروداکتیلوس در آب های غنی از مواد غذایی یافت می شود و بیشتر ذخایر ماهی های جوان را تحت تأثیر قرار می دهد. تیلاپیا دربرابر انگل ژیروداکتیلوس مقاومت ندارد و این آلودگی می تواند موجب تلفات شدید در مدت کوتاه شود، بنابراین باید بسرعت کنترل شود.

- ژیروداکتیلوس زنده زا است بوسیله قلاب بزرگ و قلابچه های زیاد به آبشش ها، باله ها و پوست ماهی می چسبد و در بررسی ماهیان باید این اندام ها مورد توجه قرار گیرند. جابجایی انگل از یک نقطه به نقطه دیگر بدن ماهی موجب جراحت اپیتلیوم ماهی می گردد. ابتلاء به ژیروداکتیلوس موجب ورود باکتری های تهاجمی شده که سبب آسیب به اپیتلیوم ماهی می شود.
- انگل منوژن داکتیلوژیروس روی آبشش ماهیان یافت می شود و تخمگذار است.
- برای درمان 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.
- منوژن ها را می توان با حمام فرمالین به دو صورت دراز مدت حمام ۲۵mg/l، یا در کوتاه مدت حمام ۱۵۰-۲۵۰mg/l به مدت ۳۰ دقیقه، کنترل کرد. پرمنگنات پتاسیم بصورت طولانی مدت ۲mg/l و در کوتاه مدت ۱۰mg/l به مدت ۳۰ دقیقه نیز برای ازبین بردن منوژن ها بکار می رود. استفاده از پراکسیدهیدروژن، ترکیبات ارگانوفوسفوره و تغییرات شوری راه های دیگر مبارزه با انگل ها هستند.
- استفاده از اکسیژن در طی درمان با حمام فرمالین با توجه به کاهش میزان اکسیژن بسیار ضروری است.
- درطی فرآیند ضدعفونی با فرمالین ماهیان بیمار وارونه می شوند که باید بلافاصله به وان حاوی آب تمیز منتقل شوند.
- برای بیماری های ویروسی تیلاپیا درمان مؤثری بجز جدا کردن و از بین بردن ماهی بیمار وجود ندارد. بهترین درمان پیشگیری، قرنطینه کردن نوزادان و جلوگیری از وارد شدن ماهی های دارای سابقه بیماری ویروسی به کارگاه های پرورش ماهی می باشد.
- در استراتژی پیشگیرانه نوین بیماری، هدف کاهش استرس در مزارع به منظور اجراء یک برنامه آبزی پروری خوب، استفاده از تقویت کننده سیستم ایمنی ماهی و استفاده از واکسن های تجاری دردسترس است. در پرورش متراکم دیگر جانوران پرورشی مأکول مشخص شده که کاربرد وسیع واکسن ها پیش از آنکه جانوران در معرض بیماری قرار گیرند می تواند بیماری های مخرب را کنترل نماید. درعین حال واکسیناسیون در کنار مزایا، محدودیت ها و معایبی نیز دارد.
- هر واکسن مربوط به پاتوژنی خاص است (مثلاً واکسیناسیون در برابر باکتری *Streptococcus iniae* فقط روی همین گونه اثر می کند). ازسوی دیگر واکسن برای هر نژاد و حتی هر منطقه متفاوت است. بنابراین خرید واکسن آماده از کشورهای دیگر جهت پیشگیری بی فایده است.
- قیمت هر واکسن تیلاپیا ۶۰٪ قیمت هر بچه ماهی است و چندان به صرفه نیست.
- واکسن زدن تا قبل از بچه ماهی ۲۰ گرمی امکان پذیر نمی باشد درحالیکه بچه ماهیان در معرض آلودگی هستند.
- ماهیان واکسینه شده در مناطق آلوده همانند ماهیان غیرواکسینه در محیط های غیرآلوده عمل نمی کنند.

- تأثیر مطلوب مصرف ماهی تیلاپیا بدلیل نقش حفاظت دربرابر سرطان، افزایش پاسخ ایمنی و پیشگیری بیماری های قلبی و عروقی، سلامت انسان مشخص شده است. این ماهی غنی از کاروتنوئیدها است که بعنوان منبع ویتامین A عملکرد آنتی اکسیدان دارند.
- پس از انجام مطالعات یا پروسه های مختلفی که در آنها از فرآورده های دارویی مختلف استفاده می‌شود، انجام مطالعه تکمیلی بررسی و پالایش باقی مانده های دارویی ضرورت دارد.

آزمایش های تشخیص میکروبی

رنگ آمیزی زیل نلسن (Ziehl-Neelsen, Acid fast)

بعد از تهیه گسترش و فیکس کردن آن، رنگ فوشین فنیکه را روی لام ریخته با شعله به مدت ۵ دقیقه لام را از پایین به طور متناوب حرارت می دهیم به طوری که رنگ روی لام نجوشد و فقط بخار شود. با کم شدن رنگ باید مجددا رنگ اضافه نماییم. بعد از گذشت ۵ دقیقه حرارت مداوم و پس از سرد شدن لام را شستشو می دهیم. لام را داخل اسیدالکل فروبرده پس از حدود یک دقیقه لام را شستشو می دهیم. این عمل را آنقدر تکرار کرده تا رنگ لام پوست پیازی شود. بعد از شستشو، رنگ بلودومتیلن را به مدت ۳۰ ثانیه روی لام ریخته و شستشو می دهیم. بعد از خشک شدن لام را زیر میکروسکوپ با درشتنمایی x ۱۰۰ مشاهده می نماییم. باکتری های اسیدفست به رنگ صورتی در زمینه آبی و سایر باکتری ها به رنگ آبی دیده می شوند.

آزمایش کاتالاز

یک میلی لیتر آب اکسیژنه ٪۳ را روی لام ریخته و بلافاصله نموه را در آن قرار دهید. پنج دقیقه بعد وجود حباب یا گاز را بررسی کنید. میزان تجزیه آب اکسیژنه با افزایش دما افزایش میابد و ممکن است واکنش مثبت کاذب بر اثر اکسیژن محلول پدید. آید برای جلوگیری از این پدیده حجم کوچکی از معرف را تکان دهید یا با پیپت پاستور بهم بزنید. چنانچه حباب گاز آزاد نشد و پاسخ منفی بود استرپتوکوک و درغیر این صورت استافیلوکوک است.

آزمایش سیتوکروم اکسیداز

نمونه را ۴۸ ساعت روی محیط (rTryptic Soy Aga) TSA انکوبه می کنیم. مواد لازم برای آزمایش شامل محلول ۱٪ تترامتیل پارافنیلن دی آمین دی هیدروکلراید در آب مقطر استریل، یا دیسک تجاری آماده اکسیداز هستند. در روش مستقیم روی پلیت دو تا سه قطره از معرف تازه تهیه شده را مستقیماً روی کلنی های باکتری بر روی پلیت اضافه می کنیم. کلنی های باکتری های اکسیداز مثبت بلافاصله به رنگ بنفش تغییر رنگ می دهند.

تست اکسیداسیون و تخمیر Oxidation/Fermentation (OF)

درصورت مصرف قند توسط باکتری اسید تولید می شود. ایجاد اسید با تغییر رنگ اندیکاتور PH محیط (برم تیمول بلو) از سبز به زرد مشخص می شود. باکتری های بیهوازی اختیاری (فرمنتر) در شرایط فقدان اکسیژن در محیط نیز قادر به تخمیر قند و ایجاد اسید هستند درحالیکه باکتری های نان فرمنتر برای استفاده از قند باید اکسیژن در اختیار داشته باشند. باکتری های نان ساپرولیتیک نیز به شرط حضور اکسیژن از پپتون محیط استفاده

کرده و با ایجاد PH قلیایی رنگ محیط را آبی می کنند. میزان پپتون در محیط OF حدود یک پنجم گلوکز است و بدین ترتیب از مصرف پپتون توسط ارگانیسم اکسیداتیو و تولید یک واکنش قلیایی جلوگیری خواهد شد.
برای این آزمایش با یک لوپ استریل مقداری از کشت خالص باکتری را درون دو لوله از محیط کشت OF با قند مشخص انتقال دهید. بهتر است تلقیح چند بار انجام شود. سپس روی یکی از لوله ها را تا ارتفاع ۱ سانتی متر با پارافین مایع استریل بپوشانید. لوله ها را در دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۴ روز انکوبه کنید. هر روز لوله ها را از نظر تولید اسید بررسی کنید. ایجاد رنگ زرد در هر دو لوله بمعنی بیهوازی اختیاری بودن باکتری می باشد. اگررنگ زرد فقط در لوله ی هوازی مشاهده شود، یعنی باکتری غیرتخمیری می باشد. درصورت مشاهده ی رنگ آبی در لوله ی هوازی وجود یک باکتری نان ساپرولیتیک تأیید می شود.

آزمایش ONPG (بتا دی گالاکتوزیداز)

بعضی از باسیل های گرم منفی قادر به تخمیر لاکتوز هستند اما برخی از باسیل های گرم منفی لاکتوز را به آهستگی تخمیر کرده و یا اصلاً تخمیر نمی کنند. هر باکتری جهت تخمیر لاکتوز نیازمند دو آنزیم بتاگالاکتوزیداز و پرمه آز است. بتاگالاکتوزیداز سبب لیز لاکتوز به گلوکز و لاکتوز می شود و پرمه آز به لاکتوز اجازه دخول به باکتری را می دهد. اگر پرمه آز نباشد باکتری با وجود داشتن بتاگالاکتوزیداز قادر به تخمیر قند نیست و اگر این باکتری ها را در محیط کشت حاوی لاکتوز قرار دهند به علت نداشتن پرمه آز لاکتوز را به صورت تأخیری مصرف می کنند.
برای این آزمایش یک دیسک ONPG را در آب مقطر گذاشته و از باکتری مورد نظر شیرابه تهیه کرده در محلول دیسک می ریزند و لوله را در ۳۵ درجه بمدت ۶ ساعت می گذارند. اگر باکتری دارای بتاگالاکتوزیداز باشد باعث تجزیه ONPG شده و اورتونیتروفنل آزاد می گردد و محیط را به رنگ زرد در می آورد.

Abstract

In recent years, aquatic diseases have damaged aquaculture industry in different areas of the world. Although tilapias are known as resistant fish against different pathogens, but there are some reports about infectious diseases of tilapia. Tilapia aquaculture in Iran is in the beginning stage. So, planning for hygiene observations and preventing of disease prevalence must be considered.

Tilapia hatchery and indoor systems of National Research Center of Saline water Aquatics were monitored for infectious disease from October 2012 to February 2014. Unusual locomotion/feeding or uncommon signs in the shape or body surface of cultured tilapias, fries and eggs or exceed mortalities were mentioned for bacterial, fungal, parasitic or viral pathogens.

Infectious agents in this study were bacteria *Streptococcus* and *Edwardsiella*, the fungi *Penicillium* and *Aspergillus* and parasitic monogeneans *Gyrodactylus and Dactylogyrus.* No viral agent was diagnosed.

Although recorded pathogens were rarely observed during the study but much attention must be paid for hygiene monitoring and instruction performance.

Key words: Tilapia, aquaculture, bacteria, fungi, parasite, virus, Iran.

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute –National Research Center off Saline Waters Aquatics

---

Project Title : Pathogen monitoring in indoor systems of tilapia aquaculture in Bafq, Iran
Approved Number: 2-12-12-92204
Author: Farhad Rajabipour
Project Researcher : Farhad Rajabipour
Collaborator(s) *:* M. Sharifrohani, S.J. Zorrihzahra, M. Mohmmadi, H. Sarsangi, N. Mashaei, M. Ghasemi, M. Faeid, M. Ghyasi, M. Pormirzaei, Z. Masomi
Advisor(s): -
Supervisor: A.Sepahdari
Location of execution : Yazd province
Date of Beginning :2012
Period of execution : 1 Year & 6 Months
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2016

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute- National Research Center off Saline Waters Aquatics

Project Title :

Pathogen monitoring in indoor systems of tilapia aquaculture in Bafq, Iran

Project Researcher :

Farhad Rajabipour

Register NO.

48901