



میانے کنٹرل کیفے پست لارومیگو

علی قوام پور

بوشهر_ اردیبهشت 1404

مقدمه

• کیفیت پست لارو تولیدی تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر کیفیت و کمیت غذا، پوست اندازی، پارامترهای فیزیکی و شیمیائی آب، استفاده از مواد شیمیائی، آنتی بیوتیک ها، بیماری ها و مدیریت کارگاه قرار دارد.



• از آنجا که کیفیت پست لارو ارتباط مستقیم با موفقیت مزارع پرورش دارد، لازم است هدف گذاری در کارگاه های تکثیر بر مبنای تولید پست لارو سالم و با کیفیت قرار گیرد.

- شاخص های گوناگونی جهت کنترل کیفی پست لارو در کارگاه های تکثیر در سه سطح بررسی ظاهری، مشاهده میکروسکوپی و استفاده از تست های تشخیصی مورد استفاده قرار می گیرد که نتایج و امتیازات هر سطح از مشاهدات مبنای بهگزینی لارو جهت ورود به مزرعه پرورش قرار می باشد.

سطوح ارزیابی لارو تولیدی کارگاه های تکثیر میگو

سطح ۱

مشاهده میگوها و محیط زندگی آن ها.
بررسی ها بر اساس ویژگی های ظاهری میگو انجام می شود

سطح ۲

بررسی دقیق تر با استفاده از میکروسکوپ نوری و نمونه گیری روی لام، با و بدون رنگ آمیزی، و باکتری شناسی پایه

سطح ۳

استفاده از روش های پیچیده تر مانند تکنیک های مولکولی و ایمنی شناسی (مثلاً **PCR**، دات بلات و غیره)

جدول برآورد کیفیت پست لارو (سطح ۱)

Criteria	Observations	Qualitative Assessment	Score
Moulting	Moults in the water Moults not sticking to head of PL	< 5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
Swimming Activity	Activity level of postlarval swimming behaviour	Active	10
		Intermediate	5
		Low	0
Direct Observation of Luminescence	Night-time observation of the tank	<5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
Survival Rate and Clinical History of Tank	Estimation of survival rate in each tank	>70%	10
		40–70%	5
		<40%	0

جدول برآورد کیفیت پست لارو (سطح ۱)

- پوست اندازی :

در زمان مشاهده پست لارو در مخزن لاروی (پیش از تحویل گیری)، وضعیت پوست اندازی می بایستی به دقت مورد توجه قرار گیرد.

غالباً با بستن هوای مخزن، در صورت وجود پوست اندازی وسیع، می توان به راحتی پوسته های تقریباً شفاف را در سطح آب مشاهده نمود.

پوست اندازی در دو حالت نامطلوب است:

- پوست اندازی شدید (بیش از ۱۰ درصد از جمعیت لارو موجود در مخزن به تازگی پوست اندازی نموده و یا در حال پوست اندازی باشند).

- متصل ماندن پوسته به سر پست لارو

کنترل کیفی پست لارو(سطح ۱)

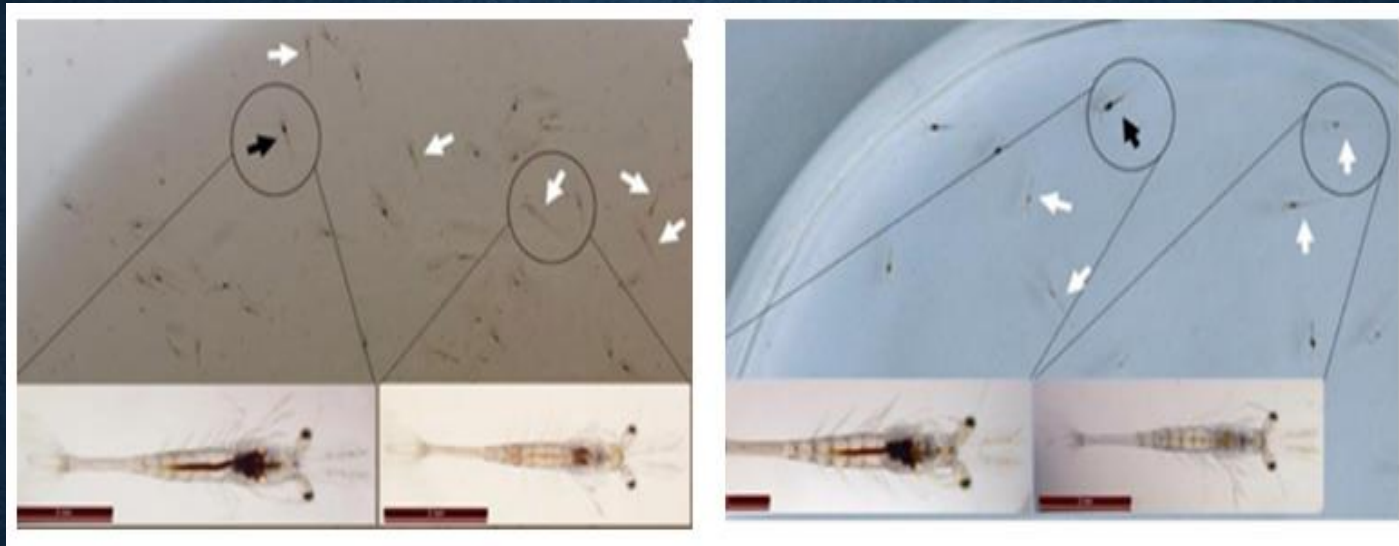
• رفتار شنا

پست لارو سالم، شنای مستقیم با دمپاره های باز دارد. هرگونه تغییر در این وضعیت (دمپاره های بسته در هنگام شنا و یا شنای دورانی) نشان دهنده عدم مطلوبیت لارو خواهد بود.

- بعضاً برای بررسی و ارزیابی کیفیت لارو تست موسوم به آزمایش تشت انجام می شود. به این منظور لازم است یک پیمانه از پست لارو مورد ارزیابی، در تشت آب حاوی ۱۰ لیتر آب شور (ترجیحاً از مخزن لاروی) با هوادهی قرار داده شده و پس از حدود ۱۰ دقیقه آب تشت دوران داده شود. در این حالت پست لاروهای سالم در مجاورت دیواره تشت و در جهت مخالف گردش آب به شنا ادامه خواهند داد. هرگاه حدود ۲۰ درصد از پست لاروهای موجود در تشت در مرکز آن تجمع کنند، پست لارو ضعیف است. بین ۵ تا ۲۰ درصد متوسط و کمتر از ۵ درصد مطلوب ارزیابی می گردد.

- در مرحله بعد باید پس از آرامش لارو در ظرف نمونه، با دست ضرباتی ملایم به دیواره ظرف وارد نمود. پست لاروهای سالم و فاقد استرس بلافاصله با دور شدن از دیواره ظرف به این ضربه واکنش نشان خواهند داد.





کنترل کیفی پست لارو (سطح ۱)

• میزان بازماندگی

بررسی شناسنامه مخازن لاروی از مهم ترین ابزار مدیریتی و نظارتی است که با تکیه بر آن می توان نتایج بسیار با ارزشی را استخراج نمود. از جمله این موارد، مشاهده و محاسبه بازماندگی لاروی در هر مخزن است. هرچند در جدول دستورالعمل فائو (۲۰۰۵)، درصد های بازماندگی چندان با وضعیت صنعت تکثیر میگوی ایران مطابق نیست اما کارگاه های زیادی در سطح کشور خود را به سطح متوسط در این ارزیابی رسانیده اند.

کنترل کیفی پست لارو (سطح ۱)

سن پست لارو	تعداد در گرم
۵	۹۵۰
۶	۸۵۰
۷	۷۵۰
۸	۶۵۰
۹	۵۵۰
۱۰	۴۵۰
۱۱	۳۸۰
۱۲	۳۲۰
۱۳	۲۷۰
۱۴	۲۲۰

• بررسی تعداد پست لارو در هر گرم:

کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)



• این سطح از مشاهدات با استفاده از نمونه ای در حدود ۲۰ تا ۳۰ قطعه پست لارو از هر مخزن لاروی و بکارگیری میکروسکوپ نوری و یا استریوسکوپ انجام می شود.

Criteria	Observations	Qualitative Assessment	Score
Muscle Opaqueness	Opaque muscle in tail of PL	<5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
Deformities	Deformities in limbs and head	<5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
Size variation (CV)	Calculation of CV of postlarval size	<15%	10
		15–25%	5
		>25%	0
Gut content	Degree of fullness of digestive tract	Full	10
		Moderate	5
		Empty	0
Colour of the Hepatopancreas	Relative coloration of hepatopancreas	Dark	10
		Pale	5
		Transparent	0
Condition of the Hepatopancreas	Relative quantity of lipid vacuoles	Abundant	10
		Moderate	5
Epibiont Fouling	Degree of fouling by epibionts	<5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
Melanization	Melanization of body or limbs	<5%	10
		5–10%	5
		>10%	0
		None	0
Gill Development	Degree of branching of gill lamellae	Complete	10
		Intermediate	5
		Slight	0
Intestinal Peristalsis	Movement of gut muscle	High	10
		Low	5
Baculovirus	Daily (2–4x) observation of Mysis	Absent (0%)	10
		Moderate (<10%)	5
		Severe (>10%)	0
Muscle to Gut Ratio	Comparison of ratio between muscle and gut thickness	>3:1	10
		1–3:1	5
		<1:1	0
“Bolitas” (sloughed cells of hepatopanceas and intestine)	Number of bolitas in digestive tract	None	10
		1 to 3	5
		>3	0
Stress Test	If < 75%, re-testing is recommended	>75%	10

کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)



- شفافیت ماهیچه در بند چهارم و پنجم شکمی رنگ و شفافیت ماهیچه میگو در اثر مواردی منجمله عفونت باکتریایی کدر می شود. از این رو لازم است در زیر میکروسکوپ این خصوصیت بررسی شده و بر اساس جدول صفحه قبل مورد ارزشیابی قرار گیرد.

کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)

• عدم وجود بدشکلی در زوائد حرکتی



کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)

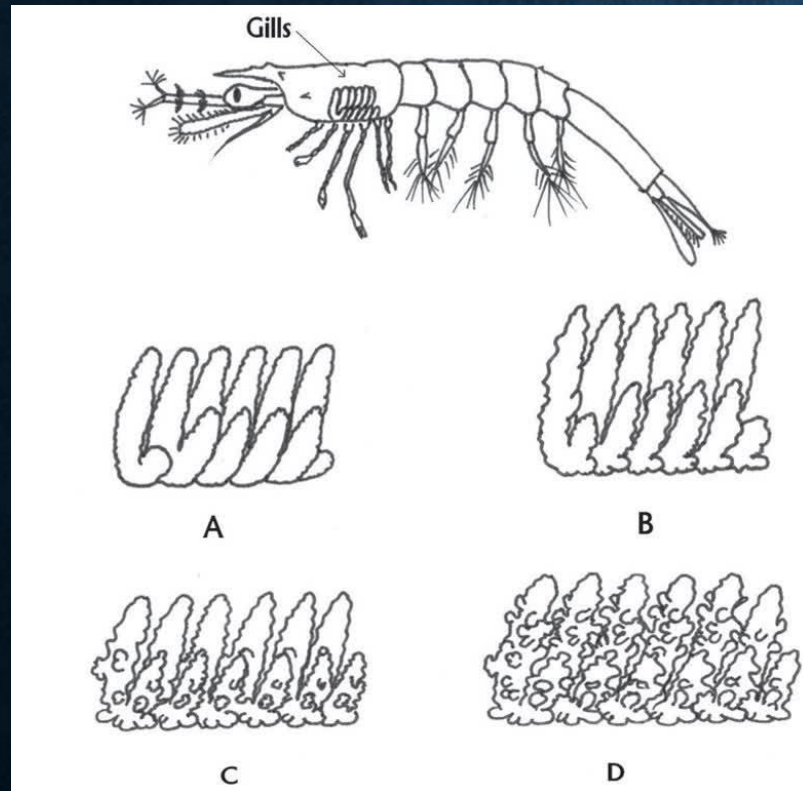
- اختلاف سایز

ناهمگونی سایز پست لارو، ممکن است علل مختلفی داشته باشد. برخی از این عوامل عبارتند از :

- مشکل در پوست اندازی
 - اختلاط مخازن با تراکم ها و یا سنین مختلف
 - مدیریت نامناسب تغذیه (کمّی و یا کیفی)
- توجه به این پارامتر بایستی در مراحل اولیه خرید پست لارو صورت پذیرد.



کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)



- حرکت دودی در روده پست لارو

حرکت مطلوب دودی در روده میگو در کنار روده پر، نشان دهنده تغذیه مناسب پست لارو خواهد بود.

- وضعیت آبشش

آبشش پست لارو در حالت کامل، شبیه درخت کاج است. اگر توسعه آبشش بصورت ناقص انجام شده باشد تنفس و تنظیم اسمزی میگو بصورت مطلوب صورت نمی پذیرد.

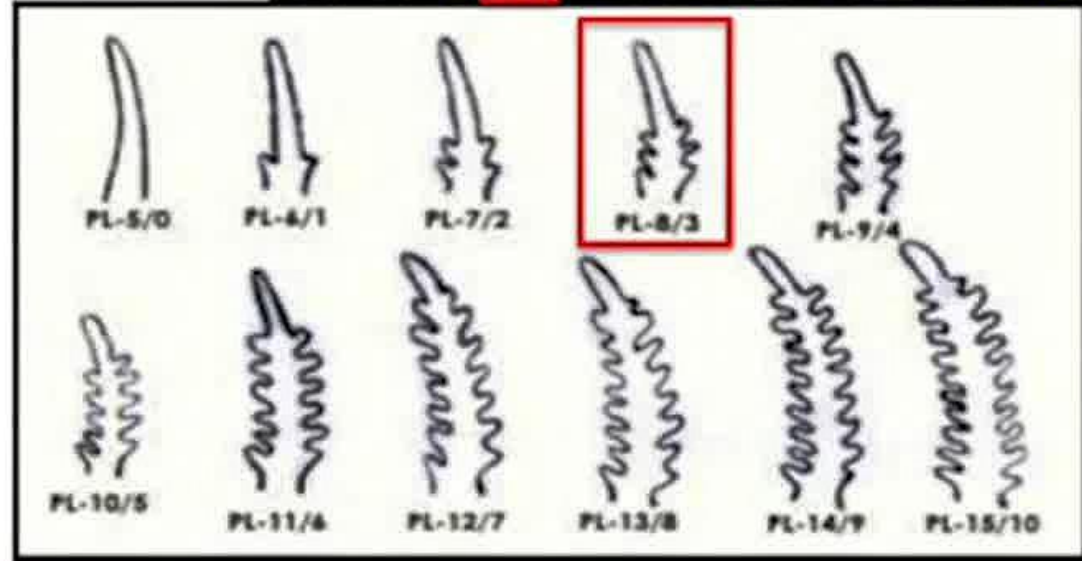
GILL DEVELOPMENT



PL age

Filaments N°

5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

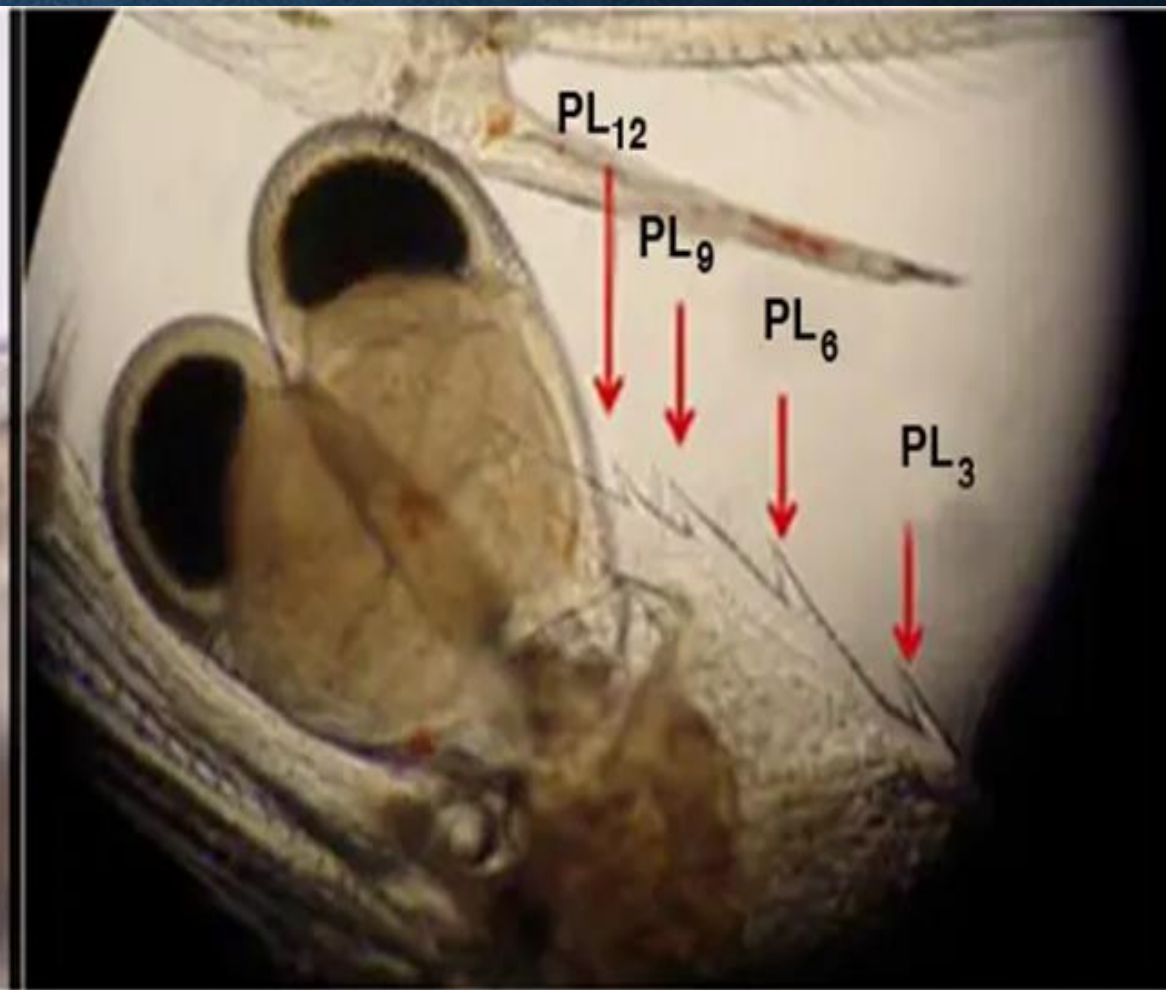
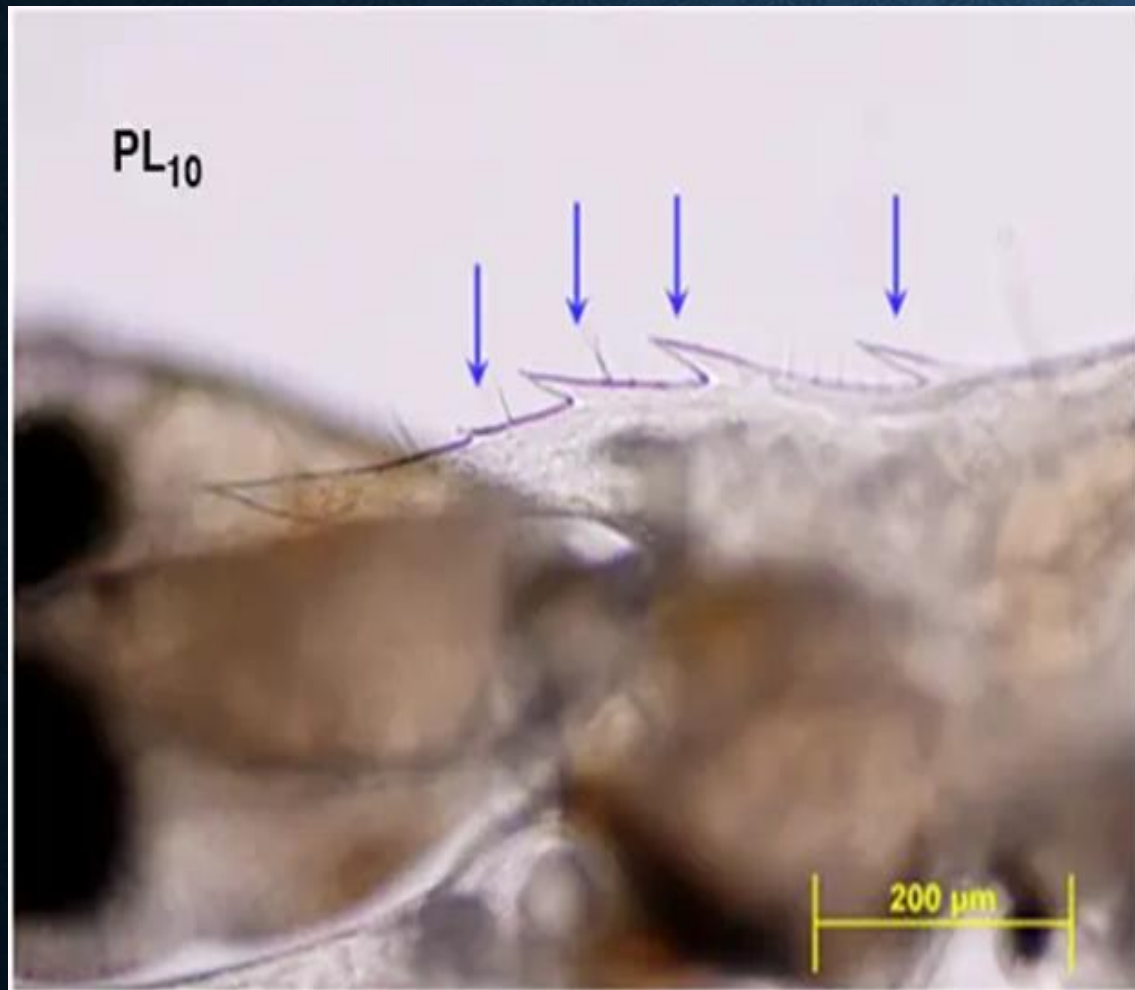


کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)

- تکمیل خارهای روسترومی

این موضوع بویژه در خصوص اطمینان از سن پست لارو از اهمیت بالایی برخوردار است.

در پست لارو لیتوپنئوس و انامی، تیغه های بالای روستروم در سن PL10 سه عدد کامل و یک عدد جوانه خار روسترومی دیده می شود. این جوانه در پست لارو ۱۲ روزه کامل می شود.



کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)

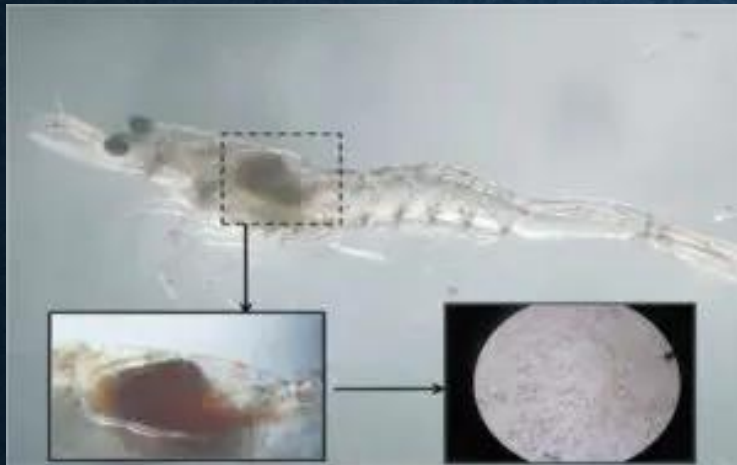
- نسبت روده به ماهیچه در بند ششم

بالا بودن نسبت روده به ماهیچه در بند ششم شکمی نشان دهنده مطلوبیت تغذیه و FCR مناسب است. در حقیقت این شاخص نشان می دهد پست لارو در طول دوره لاروی تغذیه مناسبی داشته و به دلیل سلامت عمومی، از ضریب تبدیل غذائی مطلوبی نیز برخوردار بوده است.

بهترین نسبت در مورد گونه وانامی ۱ به ۳ پیشنهاد شده است.



کنترل کیفی پست لارو (سطح ۲)



- هپاتوپانکرآس تیره با قطرات چربی فراوان

این ویژگی نشان دهنده تغذیه مناسب و سلامت اندام گوارشی پست لارو بوده و نشان دهنده

عدم وجود مشکلاتی همچون آلودگی به سموم باکتریایی ایجاد کننده بیماری AHPND است.



تست های استرس



• هدف از انجام تست استرس (تست شوری و یا فرمالین) برآورد وضعیت کلی لارو از نظر تکامل آبشش، ذخیره انرژی و حتی ابتلا به برخی از بیماری هاست.

تست های استرس

• تست شوری

لارو میگو بخش عمده ای از فشار اسمزی بدن خود را توسط آبشش ها تنظیم می نماید. به علاوه همچون سایر آبزیان، میگو نیز تنفس خود را از طریق همین عضو به انجام می رساند. از این رو تکامل آبشش ها در پست لارو، در زمان معرفی به محیط جدید (استخر پرورش)، به ویژه در شرایطی مغایر با محیط تکثیر، از ضروریات محسوب می گردد. در تحقیقات انجام گرفته مشخص شده است که آبشش ها در گونه مونودون در پست لارو ۱۳ روزه (P113) و در گونه وانامی در P112 کامل شده و ساختار منشعب (درخت کریسمس) به خود می گیرد.

تست های استرس

• تست شوری(ادامه)

به منظور انجام تست شوری حدود ۱۰۰ قطعه پست لارو را از مخزن لاروی بطور مستقیم در ظرفی حاوی آب شیرین (فاقد کلر) قرار داده و پس از یکساعت درصد تلفات پست لارو را محاسبه می نمایند. تلفات در این شرایط نمی بایست از ۱۵ درصد فراتر رود.

درروش دیگر ۳۰ دقیقه پس از قرار دادن لارو در آب شیرین مجدداً آنها را به آب با شوری مشابه مخزن لاروی بر گردانده و پس از مدت ۳۰ دقیقه دیگر درصد تلفات محاسبه می گردد. در این وضعیت نیز بازماندگی می بایست بیش از ۸۵ درصد باشد.

در هنگام انجام تست شوری بایستی توجه نمود، پست لاروها در حال پوست اندازی نباشند در غیر اینصورت تلفات بسیار بالا خواهد بود.

حدود صد قطعه پست لارو



بعد از یک ساعت



شمارش تلفات



حدود صد قطعه پست لارو



بعد از نیم ساعت



بعد از نیم ساعت



شمارش تلفات



تست های استرس

• تست فرمالین

یکی از تست های استرس که به منظور برآورد وضعیت تنفسی پست لارو مورد استفاده قرار می گیرد، تست فرمالین است.

علاوه بر این، چنانکه محققین ژاپنی در سال ۲۰۰۲ اعلام نمودند، استفاده از فرمالین به میزان ۱۰۰ پی پی ام جهت غربالگری پست لارو میگو در موارد شیوع بیماری لکه سفید کاملاً موفقیت آمیز بوده به این معنا که تمامی تلفات ناشی از تست فرمالین با غلظت یاد شده در مناطق آلوده، مبتلا به بیماری لکه سفید بوده اند.

تست های استرس

- تست فرمالین (ادامه)
- به منظور انجام تست فرمالین، تعداد ۱۰۰ قطعه پست لارو مورد بررسی را از مخزن لاروی وارد ظرفی محتوی آب با شوری مشابه و دارای فرمالین محلول با غلظت ۱۰۰ پی پی ام می نمایند. پس از یک ساعت، تلفات شمارش شده و در صورت کمتر بودن تلفات از ۲۵ درصد، وضعیت لارو مناسب ارزیابی می شود. با اینحال پیشنهاد می شود تلفات مشاهده شده در تست فرمالین جهت تست PCR ارسال گردد.



- برای تهیه محلول با دوز 100 ppm فرمالین ابتدا لازم است 10 سی سی فرمالین را در مقداری آب شیرین تصفیه شده (و بدون کلر) حل نموده و حجم محلول (استوک) را به یک لیتر برسانیم.



• در مرحله دوم و برای انجام تست فرمالین، ده سی سی از محلول استوک آماده شده را به ۹۹۰ سی سی آب مخزن لاروی (در یک بشر) اضافه می کنیم تا کل حجم مایع درون بشد به یک لیتر برسد.

مرحله سوم



حدود ۱۰۰ قطعه پست لارو



محلول ۱۰۰ پی پی ام فرمالین

- سپس حدود ۱۰۰ قطعه پست لارو را به محلول ۱۰۰ ppm فرمالین اضافه نموده، پس از یک ساعت تعداد تلفات و درصد بازماندگی را محاسبه می نمائیم. تلفات بیش از ۲۵ درصد، نشان دهنده کیفیت ضعیف پست لارو است.

کنترل کیفی پست لارو (سطح ۳)



• سطح سوم ارزیابی در کنترل کیفیت پست لارو مربوط به تست های تشخیص به روش PCR، Realtime PCR و تست های میکروبی (در مورد بیماری AHPND) است. این سطح بطور معمول بر اساس جداول آماری و توسط نهادهای متولّی بهداشت و بیماری های آبزیان (در ایران، ادارات کلّ دامپزشکی استان ها) انجام می شود.

موفق باشيد

