

# روشهای تشخیص بیماریهای میگو

مؤلف : محمد افشارنسب

به نام خدا

## روشهای تشخیص بیماریهای میگو

مؤلف : محمد افشارنسب

ویراستار فنی : مهدی سلطانی

سرشناسه	: افشارننسب، محمد، ۱۳۳۸ -
عنوان و نام پدیدآور	: روشهای تشخیص بیماریهای میگو / مؤلف محمد افشارننسب؛ ویراستار فنی مهدی سلطانی .
مشخصات نشر	: تهران : موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی ، ۱۳۸۶.
مشخصات ظاهری	: ۱۹۰ ص. : مصور .
شابک	: ۳۰۰۰۰ ریال : 8-41-5856-964-978
وضعیت فهرست نویسی	: فیا
یادداشت	: واژه نامه .
یادداشت	: کتابنامه : ص. ۱۵۰-۱۸۷.
موضوع	: میگو -- بیماریها
شناسه افزوده	: سلطانی، مهدی، ۱۳۴۳-، ویراستار.
شناسه افزوده	: موسسه تحقیقات شیلات ایران . مدیریت اطلاعات علمی .
رده‌بندی کنگره	: ۱۳۸۶ ر ۹۷۳ الف / ۶ / ۳۸۰ SH
رده‌بندی دیویی	: ۶۳۹ / ۶۸
شماره کتابشناسی ملی	: ۱۱۷۸۴۳۲

نام کتاب : روشهای تشخیص بیماریهای میگو

تألیف : محمد افشارننسب

ویراستار فنی : مهدی سلطانی

ویراستار ادبی : گل اندام آل علی

شمارگان : ۶۰۰ نسخه

چاپ اول : سال ۱۳۸۶

ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران - مدیریت اطلاعات علمی

(خیابان فاطمی غربی - پلاک ۲۹۷ - تلفن ۶۶۹۱۹۱۳۳ - Web: www. IFRO.ir)

شابک : ۸-۴۱-۵۸۵۶-۹۶۴-۹۷۸ (ISBN : 978- 964-5856-41-8)

قیمت : ۳۰۰۰۰ ریال

## پیشگفتار

صنعت تکثیر و پرورش میگو در کشور با رشد چشمگیری همراه بوده است، بطوریکه انتظار می‌رود بر اساس سند چشم انداز برنامه بیست ساله و در پایان سال ۱۴۰۰ حدود یکصد هزار هکتار از اراضی مستعد به این امر اختصاص یابد. یکی از مشکلات اساسی که در راه توسعه این صنعت وجود دارد، بروز بیماریهای مختلف است که موجب به بار آوردن خسارت سنگینی به صاحبان صنعت و سایر مجموعه دست اندر کار می‌شود. در اولین بروز بیماری لکه سفید در منطقه چوئیده آبادان در سال ۱۳۸۱، صدها هکتار از اراضی مستعد دچار بیماری شده و میلیونها ریال به پرورش دهندگان میگو خسارت وارد گردید. این اتفاق در سال ۱۳۸۴ در استان بوشهر نیز موجب میلیاردها ریال خسارت به پرورش دهندگان شد. بر این اساس تعدادی از فعالان این صنعت به دنبال مجموعه‌ای بودند تا در حین سادگی، امکان شناخت بیماریها را در محل مزارع پرورشی بوجود آورده و در حد امکان از بروز آنها جلوگیری شده و سایر روشهای پیشرفته آزمایشگاهی را نیز به منظور تشخیص قطعی عامل بیماری معرفی نماید.

کتاب حاضر مجموعه‌ای است ساده و عملی برای شناخت بیماریهای میگو که نه تنها انجام پاره‌ای از آزمایشها را در مزارع معرفی می‌نماید، بلکه چگونگی انجام سایر روشها در آزمایشگاه را نیز توضیح می‌دهد. این کتاب مشتمل بر هشت بخش است که بخش اول به آزمایش نمونه‌های مشکوک و بیان علائم ظاهری بیماریها اختصاص دارد. بخش دوم شامل انجام آزمایشهای بیوپسی (بدون نیاز به کشتن جانور) و آزمایشهایی است که مستلزم از بین بردن جانور می‌باشد و همچنین به روشهای آزمایشگاهی برای تهیه لامهای میکروسکوپی اختصاص دارد. به منظور تشخیصهای دقیق، بخش سوم و چهارم به ترتیب به روشهای تشخیص و کشت باکتریها و تشخیص و کشت قارچها اختصاص دارد. بخش پنجم به روش آسیب شناسی، بخش ششم به روش میکروسکوپ الکترونی، بخش هفتم به روشهای ایمنی و بخش هشتم به روشهای بیولوژی مولکولی در تشخیص بیماریهای میگو اختصاص دارد.

امید است مجموعه حاضر مورد استفاده دست اندرکاران صنعت تکثیر و پرورش میگو، کارشناسان، دانشجویان و همچنین سایر متخصصین علاقمند قرار گیرد.

در خاتمه از کلیه عزیزانی که در چاپ این مجموعه این جانب را یاری نموده‌اند بخصوص جناب آقای دکتر مهدی سلطانی که با نهایت دقت به ویرایش علمی این کتاب پرداخته و سرکار خانم گل اندام آل علی که با حوصله به ویرایش ادبی این مجموعه پرداخته‌اند نهایت تشکر و قدردانی را می‌نمایم. از ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران، جناب آقای دکتر عباسعلی مطلبی، معاون محترم اداری پشتیبانی موسسه جناب آقای دکتر امین الله تقوی، معاون محترم تحقیقاتی موسسه جناب آقای دکتر مصطفی شریف روحانی که با پیگیری ویژه امکان چاپ این مجموعه را فراهم نمودند نهایت تقدیر و تشکر می‌نمایم. همچنین از مدیریت اطلاعات علمی موسسه، جناب آقای مهندس محمد رضا حسینی که در چاپ این کتاب نهایت همکاری را با این جانب داشته‌اند تشکر و قدردانی ویژه خود را اعلام میدارم. پیشاپیش از کلیه همکاران و دوستانی که با نظرات خود ما را در اصلاح اشکالات احتمالی راهنمایی نمایند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

**محمد افشار نسب**

## فهرست مطالب

### پیشگفتار

- فصل اول : تشخیص بیماری از طریق علائم ظاهری** ..... ۱
- ۱-۱ : آزمایش اکواریوم ..... ۱
- ۱-۲ : تغییرات رنگ بدن میگوها ..... ۲
- ۱-۲-۱ : قرمز شدن اندامهای حرکتی و بدن میگو ..... ۲
- ۱-۲-۲ : وجود لکه سفید روی کوتیکول ..... ۳
- ۱-۲-۳ : آبی شدن رنگ بدن میگوها ..... ۳
- ۱-۲-۴ : زرد شدن سرسینه ..... ۴
- ۱-۲-۵ : سفید و کدر شدن بافت عضلات ..... ۵
- ۱-۳ : تغییر رنگ آبشش ها ..... ۵
- ۱-۳-۱ : سندرم آبشش قهوه‌ای ..... ۶
- ۱-۳-۲ : کاهش اکسیژن محلول ..... ۷
- ۱-۳-۳ : ملانیزه شدن یا سیاه شدن آبشش ها ..... ۷
- ۱-۳-۴ : باکتریای رسوب کننده ..... ۸
- ۱-۳-۵ : ویبریوزیس ..... ۹
- ۱-۳-۶ : سبز شدن آبشش ها ..... ۹
- ۱-۴ : اندامهای ضمیمه و راس آنها ..... ۹
- ۱-۵ : کوتیکول ..... ۱۰
- ۱-۶ : عضلات ..... ۱۰
- ۱-۶-۱ : نکروز ناشناخته بافت عضلات ..... ۱۱
- ۱-۷ : اسپرمتوفور ..... ۱۲
- ۱-۸ : رشد آهسته / سندرم کوچکی میگوها ..... ۱۲
- ۱-۸-۱ : سندرم RDS ..... ۱۲
- ۱-۸-۲ : سندرم کوچک شدن میگوها ..... ۱۳
- ۱-۹ : تغییر شکل میگوها ..... ۱۳

- ۱-۹-۱ : بیماری RDS و سندرم انقباض عضلانی ..... ۱۴
- ۱-۹-۲ : سندرم تغییر شکل لاروها ..... ۱۴
- ۱-۱۰ : نرمی پوست ..... ۱۴
- ۱-۱۱ : پر بودن روده و رنگ آن ..... ۱۵
- ۱-۱۲ : رنگ مدفوع ..... ۱۶
- فصل دوم – تشخیص بیماریهای میگو از طریق روشهای اولیه آزمایشگاهی..... ۱۷**
- ۲-۱ : روشهای بیوپسی و نمونه گیری بدون نیاز به کشتن میگو ..... ۱۷
- ۲-۱-۱ : گسترش از همولنف ..... ۱۷
- ۲-۱-۱-۱ : روش تهیه سریع ..... ۱۹
- ۲-۱-۱-۲ : روش تهیه گسترش استاندارد ..... ۱۹
- ۲-۱-۲ : رنگ آمیزی و فیکس کردن سریع آبشش ..... ۲۰
- ۲-۱-۳ : لام مرطوب ..... ۲۲
- ۲-۱-۴ : تهیه گسترش از پوست به روش تراشیدن ..... ۲۳
- ۲-۲ : نمونه گیری در روشهایی که مستلزم مرگ جانور می باشد ..... ۲۴
- ۲-۲-۱ : تهیه گسترش ..... ۲۴
- ۲-۲-۱-۱ : هیاتوپانکراس ..... ۲۵
- ۲-۲-۱-۲ : عضلات ..... ۲۶
- ۲-۲-۱-۳ : اندامهای جنسی ..... ۲۶
- ۲-۲-۲ : روش لام مرطوب ..... ۲۶
- ۲-۲-۲-۱ : هیاتوپانکراس ..... ۲۷
- ۲-۲-۲-۲ : عضلات ..... ۲۷
- ۲-۲-۲-۳ : اندامهای جنسی ..... ۲۸
- ۲-۲-۲-۴ : تراش روده میانی ..... ۲۸
- ۲-۲-۳ : تراشیدن دیواره روده ..... ۲۸
- فصل سوم – روشهای کشت و شناسائی باکتریها ..... ۲۹**
- ۳-۱ : عوامل باکتریائی ایجاد کننده بیماری در میگو ..... ۳۰

- ۳-۱-۱ : باکتریهای رسوب کننده ..... ۳۰
- ۳-۱-۲ : گونه‌های ویبریو ..... ۳۰
- ۳-۱-۳ : شناسائی گونه‌های ویبریو ..... ۳۳
- ۳-۱-۴ : ریکتزیا ..... ۳۷
- ۳-۱-۵ : مایکوباکتریومها ..... ۳۷
- ۳-۱-۶ : مایکوپلاسما ..... ۳۸
- ۳-۲ : روش شمارش از طریق کشت در پلیت ..... ۳۹
- ۳-۳ : روش شمارش قطره ای ..... ۴۱
- ۳-۴ : شمارش از طریق آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی ..... ۴۲
- ۳-۴-۱ : روشهای رنگ آمیزی باکتریها ..... ۴۳
- ۳-۴-۱-۲ : روش رنگ آمیزی گرم ..... ۴۳
- ۳-۴-۲ : چگونگی ساخت مواد رنگ آمیزی گرم ..... ۴۵
- ۳-۴-۳ : روش رنگ آمیزی گیمسا ..... ۴۶
- ۳-۴-۴ : رنگ آمیزی رایت ..... ۴۶
- ۳-۴-۵ : رنگ آمیزی پینکرتون ..... ۴۷
- ۳-۴-۶ : چگونگی ساخت مواد رنگ آمیزی پینکرتون ..... ۴۸
- ۳-۴-۷ : روش رنگ آمیزی گیمسا برای تشخیص بیماری شبه پارو ویروس پانکراس ..... ۴۸
- ۳-۴-۸ : روش رنگ آمیزی (Wolbach Giemsa) ..... ۴۹
- ۳-۴-۹ : چگونگی تهیه مواد مورد نیاز در روش Wolbach Giemsa ..... ۵۰
- ۳-۴-۱۰ : روش رنگ آمیزی نقره استینر ..... ۵۰
- ۳-۴-۱۱ : روش مرسوم ..... ۵۱
- ۳-۴-۱۲ : روش مایکروویو ..... ۵۲
- ۳-۴-۱۳ : چگونگی ساخت مواد رنگ آمیزی استینر نقره‌ای ..... ۵۳
- ۳-۴-۱۴ : روش رنگ آمیزی زیل نلسون ..... ۵۴
- ۳-۴-۱۵ : چگونگی ساخت مواد رنگ آمیزی زیل نلسون ..... ۵۵
- فصل چهارم - روشهای کشت و شناسایی قارچها** ..... ۵۷



۵۷	۴-۱ : قارچ لائیدیوم و سیرولپیدیوم
۵۹	۴-۲ : قارچ فوزاریوم
۶۰	۴-۲-۱ : روش رنگ آمیزی قارچها
۶۰	۴-۲-۱-۱ : رنگ آمیزی به روش Mac Manu's PAS
۶۴	۴-۲-۱-۲ : رنگ آمیزی به روش Massons Trichrome
۶۹	<b>فصل پنجم - روش آسیب شناسی</b>
۶۹	۵-۱ : جمع آوری نمونه ها
۷۰	۵-۲ : فیکس کردن نمونه ها
۷۴	۵-۳ : مرحله آماده سازی و برش بافتها
۷۵	۵-۴ : آماده کردن بافتها و آگیری
۷۶	۵-۵ : جاگذاری بافتها در پارافین یا تهیه بلوک از بافتها با پارافین
۷۷	۵-۶ : عملیات رنگ آمیزی
۷۷	۵-۶-۱ : رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین / فلوکسین
۷۹	۵-۶-۲ : تفسیر اسلایدهای رنگ آمیزی شده با روش آسیب شناسی
۸۰	۵-۶-۳ : روش رنگ آمیزی Fuelgen به منظور تشخیص DNA
۸۱	۵-۶-۳-۱ : چگونگی ساخت مواد رنگ آمیزی به روش Fuelgen
۸۴	<b>فصل ششم - روش میکروسکوپ الکترونی</b>
۸۵	۶-۱ : انتخاب و ثابت کردن نمونه ها در روش TEM
۸۷	۶-۲ : تهیه نمونه برای TEM
۹۱	۶-۳ : روش تهیه محلولها و مواد مورد استفاده در روش میکروسکوپ الکترونی
۹۱	۶-۳-۱ : روش تهیه محلول Buffered Glutaraldehyde ۴ درصد
۹۲	۶-۳-۲ : روش تهیه محلول بافر Osmium Tetroxide ۱ درصد
۹۳	۶-۳-۳ : روش تهیه مخلوط رزین
۹۳	۶-۳-۴ : روش تهیه رنگ Uranyl Actate
۹۴	۶-۳-۵ : طرز تهیه رنگ سیرات سرب
۹۵	<b>فصل هفتم - روشهای ایمنی شناسی برای تشخیص بیماریهای میکو</b>

- ۷-۱ : تولید آنتی‌بادی در خرگوش ..... ۹۶
- ۷-۱-۱ : تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال ..... ۹۷
- ۷-۱-۱-۱ : تولید مخلوطی از آنتی‌ژن و یک کمک‌کننده (یاور) ..... ۹۸
- ۷-۱-۱-۲ : روش ایمن‌سازی ..... ۹۸
- ۷-۱-۱-۳ : انجام خون‌گیری و آزمایش خون ..... ۹۹
- ۷-۲ : روش آگلوتیناسیون باکتریائی ..... ۱۰۱
- ۷-۳ : روش ایمنوبلات ..... ۱۰۲
- ۷-۴ : روش الیزای غیرمستقیم ..... ۱۰۴
- ۷-۵ : روش ایمنی شیمیایی بافتی ..... ۱۰۸
- فصل هشتم – روشهای بیولوژی مولکولی** ..... ۱۱۲
- ۸-۱ : کیت‌های تشخیص بیماری‌های میگو ..... ۱۱۳
- ۸-۲ : روش PCR ..... ۱۱۴
- ۸-۲-۱ : جمع‌آوری نمونه‌ها و نگهداری آنها برای استفاده در روش PCR ..... ۱۱۷
- ۸-۲-۲ : آماده‌سازی نمونه‌ها ..... ۱۱۷
- ۸-۲-۳ : استخراج سریع DNA از لاروها ..... ۱۱۹
- ۸-۲-۴ : استخراج سریع همولنف ..... ۱۲۱
- ۸-۲-۵ : تکثیر در ماشین PCR ..... ۱۲۲
- ۸-۲-۶ : آنالیز نتایج در دستگاه ژل‌الکتروفورز ..... ۱۲۳
- ۸-۲-۷ : در نظر گرفتن نمونه‌های کنترل در آزمایش PCR ..... ۱۲۳
- ۸-۳ : روش RT-PCR ..... ۱۲۴
- ۸-۳-۱ : نگهداری نمونه‌ها ..... ۱۲۵
- ۸-۳-۲ : آماده‌کردن نمونه‌ها ..... ۱۲۶
- ۸-۳-۳ : تکثیر در روش RT-PCR ..... ۱۲۷
- ۸-۳-۴ : آنالیز RT-PCR ..... ۱۲۷
- ۸-۴ : روش *in situ* hybridization ..... ۱۲۷
- ۸-۴-۱ : آماده‌کردن نشانگر ..... ۱۲۸

۱۲۹	.....	محافظة اوليه مقاطع بافتى	۸-۴-۲
۱۳۰	.....	پيوندزنى يا هيبريداسيون	۸-۴-۳
۱۳۱	.....	تعيين پيوندها	۸-۴-۴
۱۳۱	.....	کنترول	۸-۴-۵
۱۳۲	.....	سایر روشهای بیولوژی مولکولی	۸-۵
۱۳۲	.....	Dot blot hybridization	۸-۵-۱
۱۳۳	.....	<i>In situ</i> PCR and <i>in situ</i> RT-PCR	۸-۵-۲
۱۳۴	.....	Nested PCR	۸-۵-۳
۱۳۴	.....	Lo <i>etal</i>	۸-۵-۳-۱
۱۳۶	.....	kimural <i>etal</i>	۸-۵-۳-۲
۱۳۷	.....	Monodon baculovirus	۸-۵-۴
۱۳۷	.....	Baculovirus penaei	۸-۵-۵
۱۳۸	.....	Bioassays	۸-۶
۱۳۹	.....	<b>منابع</b>	
۱۶۸	.....	<b>ضمیمه</b>	
۱۷۱	.....	<b>واژه‌نامه</b>	