

Prevalence of *Myxobolus cerebralis* in Salmonids in Georgia

Tengiz Samkharadze

*Master's thesis is presented at the Ilia State University of Natural Sciences and
Engineering Faculty for Applied Genetics Master's Degree*

According to the requirements

Master's Program of Applied Genetics

Supervisor Cort L. Anderson, Ph.D., Full Professor

Ilia State University

Tbilisi, 2017

Contents:

Statement		3
Abstract		5
Introduction	<i>Research description</i>	7
	<i>Whirling disease : literature review</i>	8
	<i>MC origin and spread</i>	8
	<i>Ecologic and economic impact of WD</i>	9
	<i>MC taxonomic status</i>	9
	<i>MC morphology</i>	10
	<i>MC life cycle</i>	12
	<i>Project objectives</i>	15
Materials and Methods	<i>Sample collection</i>	16
	<i>DNA extraction</i>	16
	<i>PCR amplification</i>	16
	<i>Sequencing</i>	17
Results		18
Discussion		20
Appendix		23
References		29

Statement

As the author of the presented Master's Thesis, I declare that the work is my original work and does not contain materials submitted to the publication, published or protected by other authors, which are not mentioned in the work or quoted in accordance with the relevant rules.

T. Samkharadze

აბსტრაქტი

1950-იანი წლებიდან საქართველოში, ორაგულისებრების, კერძოდ ფერმისა და ველური ცისარტყელა კალმახის (*Oncorhynchus mykiss*) პოპულაციაზე პირდაპირი დაკვირვება და მათი რიცხოვნების შეფასება არ განხორციელებულა. შესაბამისად, უცნობია, თუ რომელ დაავადებას შეიძლება ჰქონდეს მკვეთრად გამოხატული უარყოფითი ეფექტი კალმახის პოპულაციაზე.

Myxobolus cerebralis (MC), „ტრიალა დაავადების“ (Whirling Disease) გამომწვევ აგენტს, აქვს გამანადგურებელი ეფექტი როგორც ფერმის, ასევე ველური ცისარტყელა კალმახის პოპულაციაზე. ჰაბიტატში, ხელსაყრელი პირობების შემთხვევაში, პარაზიტს შეუძლია გამოიწვიოს თევზის ინფიცირება და შედეგად თევზის პოპულაციის მკვეთრი შემცირება. საქართველოში MC პირველად 1957 წელს აფხაზეთში დაფიქსირდა (Uspenskaya), მაგრამ შემდგომში მონიტორინგი აღარ განხორციელებულა. დღეის მდგომარეობით, საქართველოში MC-ის არსებობის შესახებ ცნობები არ მოგვეპოვება.

ჩვენი კვლევის მიზანი იყო, ერთის მხრივ, MC-ით გამოწვეული ინფექციის გავრცელების არეალის დადგენა ფერმის ცისარტყელა კალმახის პოპულაციაში, მეორეს მხრივ, პათოგენის 18s RNA გენის სეგმენტის გამოყენებით ფილოგენეტიკური კვლევის ჩატარება, და ბოლოს, რეკომენდაციების მომზადება ფერმერებისთვის, რათა მაქსიმალურად შემცირდეს დაავადების შემდგომი გავრცელების რისკი.

ჯამში შეგროვებულ იქნა 29 ნიმუში იმ რეგიონებიდან, სადაც სავარაუდოა პარაზიტის არსებობა: 16-სინჯი ვაკიჯვრიდან, გურის რეგიონიდან და 13-კარალეთიდან, შიდა ქართლიდან. შეგროვებული ნიმუშების დნმ-ის ექსტრაქტებიდან პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით მოხდა *Myxobolus cerebralis*-ის 18s rDNA გენის ამპლიფიკაცია.

ჩვენს სინჯებში MC-ის აქტიური ინფექცია არ გამოვლინდა. თუმცა, ფერმერების მიერ მოწოდებული ზეპირსიტყვიერი ინფორმაციით, ხშირად ვლინდება კალმახში WD-ის კლინიკური სიმპტომები. შესაბამისად, შემდგომი

კვლევისთვის, რეკომენდებულია კარალეთიდან კალმახის უფრო მეტი ნიმუშის აღება, ასევე საქართველოს სხვა რეგიონებიდან-კერძოდ, აფხაზეთიდან და აჭარიდან. ამჟამად, კარალეთში, თევზის ბაზრისთვის განკუთვნილი, ახალგაზრდა ცისარტყელა კალმახის ტრანსპორტირება ხდება სომხეთიდან, აქედან გამომდინარე, ასევე სასურველია სომხეთიდან კალმახის ნიმუშების შეგროვება .

ძირითადი საძიებო სიტყვები: *Myxobolus cerebralis*, ტრიალა დაავადება, კალმახი, საქართველო, პჯრ

Abstract

Since the 1950s in Georgia, salmonids, particularly farmed and wild populations of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) have not been directly observed and measured. Consequently, it is not known which diseases may have negative impacts on trout populations. *Myxobolus cerebralis* (MC), the causative agent of Whirling Disease (WD), has a devastating effect on both farmed and wild rainbow trout population. In some places the parasite can cause high mortality rates in fish, and may require strict actions like quarantine of a culture facility, destruction, renovation of stocks, sometimes even closure of farms. This makes it important to detect MC as early as possible, to inhibit its spread.

MC was reported in 1957 (Uspenskaya) in Abkhazia, Georgia, but there have been no subsequent reports or monitoring, so that today the existence of MC in Georgia is not known.

Our goals were primarily to investigate prevalence and location of MC in farmed fish populations, and secondarily to make use pathogen DNA sequences to investigate the disease origins, and lastly to make recommendations for fisheries to reduce the risk of expansion of the disease.

We collected 29 samples from the regions, where MC is thought to occur: 16 samples from Vakijvari, Guria and 13 samples-from Karaleti, Shida Kartli. DNA extracts from the collected samples were PCR amplified for the 18S rDNA gene to detect the presence of *Myxobolus cerebralis*. We did not detect active MC infection. However, as there is anecdotal evidence of WD clinical symptoms present in rainbow trout, in Georgia, we recommend further research sampling, with larger sample sizes of fish from Karaleti, also collection from different parts of Georgia—particularly in Abkhazia and Adjara. Currently young rainbow trout intended for fish markets are transported to Karaleti, Georgia from Armenia, hence taking samples from Armenian populations should also be considered.

Key Words: *Myxobolus cerebralis*, whirling disease, salmonid, Georgia, PCR