

بررسی قارچ‌های سطحی تاس ماهی ایرانی (*Acipensr persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر

فرید فیروز بخش^{۱*} رضوان الله کاظمی^۲ محسن کاظمی^۳ علیرضا خسروی^۴ جلیل جلیل پور^۲ حسینعلی ابراهیم زاده موسوی^۵

۱) گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران-ایران.

۲) انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، گیلان-ایران.

۳) دانش آموخته مهندسی شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران-ایران.

۴) گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران.

۵) گروه بهداشت و پرورش آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(دریافت مقاله: ۲۰ خرداد ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۹ خرداد ماه ۱۳۸۸)

چکیده

عفونت‌های قارچی ماهیان پراکنندگی جهانی دارند که اغلب گونه‌های وحشی و پرورشی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. هدف از مطالعه حاضر، جداسازی و شناسایی قارچ‌های سطحی در تاس ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریای خزر بود. نمونه‌ها از پوست، باله و آبشش ماهیان تهیه و در محیط‌های کشت قارچی همراه با آنتی‌بیوتیک تلقیح و در دمای 23 ± 1 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سبزه نوع قارچ از ماهیان جداسازی شد که شامل: آلترناریا آلترناتا، کلادوسپوریوم کاریونی، موکور، اورنوبازیدیوم، پنی‌سیلیوم سیتیرینوم، پنی‌سیلیوم نوتاتوم، پنی‌سیلیوم فرکوئینتس، پسیلومایسس، اسپریژیلوس فلاووس، اسپریژیلوس فومیگاتوس، سودوآلشریا بوندی، رودوتور لا روبروم و فوزاریوم بودند. در این میان کلادوسپوریوم کاریونی بیشترین فراوانی را در بین قارچ‌های جدا شده از تاس ماهی ایرانی پرورشی (۱۶/۹۵ درصد) و صید شده از دریا (۱۰/۱۷ درصد) نشان داد. همچنین بیشترین و کمترین میزان قارچ‌ها برترتیب از باله (۴۰/۶۸ درصد) و پوست (۲۸/۸۲ درصد) ماهیان جدا شدند.

واژه‌های کلیدی: فلور قارچی، تاس ماهی ایرانی، آبشش، باله، پوست.

مقاطع آسیب‌شناسی به اثبات رسیده است (۱۰). از مهمترین قارچ‌های جدا شده از آبزیان می‌توان به فوزاریوم‌ها اشاره کرد که بیماری آبشش سیاه در میگو (۱)، و عفونت‌های سطحی و احشایی را در آبزیان (۱۷) سبب می‌شوند. همچنین گزارشاتی از عفونت‌های قارچی کیسه شنا و اندام‌های داخلی ماهیان با قارچ‌های کلادوسپوریوم (۳، ۱۵) و پسیلومایسس (۱) نیز ارائه شده است.

در ایران نیز تاکنون تحقیقات مختلفی در زمینه آلودگی‌های قارچی تخم، اندام‌های سطحی و داخلی ماهیان انجام شده است. از آن جمله می‌توان به آلودگی قارچی لارو (۷، ۱۱) و بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (۱۴)، آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۴)، آلودگی قارچی اندام‌های سطحی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۶) و آلودگی قارچی کپور ماهیان پرورشی (۸، ۹) اشاره کرد.

با توجه به اهمیت تاس ماهی ایرانی، هدف این تحقیق شناسایی و مقایسه ارگانسیم‌های قارچی اندام‌های سطحی بین ماهیان طبیعی و پرورش یافته و جداسازی قارچ‌های بیماری‌زای احتمالی از این گونه نادر بوده است.

مواد و روش کار

این تحقیق طی سه مرحله نمونه‌گیری روی ۲۸ قطعه تاس ماهی ایرانی (شامل ۱۸ ماهی مولد صید شده از دریا و ۱۰ ماهی پرورش یافته در مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان) انجام شد. ماهیان صید شده از دریا به مدت ۷ تا ۱۰ روز در حوضچه‌های کورانسکی حاوی آب شیرین به

مقدمه

آلودگی‌های قارچی یکی از علل بروز خسارات در صنعت آبی پروری دنیا محسوب می‌شود. که با توجه به آن می‌توان ارگانسیم‌های قارچی را به عنوان یکی از عوامل اساسی تعیین‌کننده وضعیت بهداشتی آبزیان مدنظر قرار داد. حضور بسیار گسترده ارگانسیم‌های قارچی در منابع آبی و خاکی و همچنین عواملی چون تراکم، حمل و نقل، دستکاری و استرس‌های دوران تکثیر، بروز عفونت‌های قارچی ماهیان در دوران تخم‌ریزی را سبب می‌شوند. لذا شناسایی فلور قارچی ماهیان در دوران تخم‌ریزی از نظر عوامل بیماری‌زای احتمالی و بروز بیماری‌های ناشی از آن‌ها در مولدین و انتقال ارگانسیم‌های قارچی به سالن‌های هچری و بروز تلفات در تخم‌ها و نوزادان حائز اهمیت است.

پوست، باله و آبشش اندام‌هایی هستند که به لحاظ داشتن بیشترین سطح تماس با محیط خارجی از تنوع و فراوانی فلور میکروبی بیشتری برخوردار هستند. تراکم بالا و شرایط نامناسب نگهداری ماهیان، تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب و استرس‌های محیطی از عوامل مستعد کننده ماهیان آب شیرین به بیماری‌های عفونی (۲) می‌باشند. احتمال بروز عفونت‌های ثانویه در ماهیان مولد نیز به لحاظ گذر از دوره‌های بحرانی فصل تکثیر، بیش از سایر ماهیان است (۱). از جمله این عفونت‌ها می‌توان به زخم‌های جلدی و پوسیدگی باله اشاره کرد که عوامل قارچی به عنوان عوامل ثانویه از جراحات ذکر شده جداسازی و تأثیر اثرات بیماری‌زایی و تخریبی آن‌ها پس از تهیه



فراوانی فلور قارچی از باله (۴۵ درصد) و کمترین فراوانی از آبشش (۲۵ درصد) جدا شد (نمودار ۳).

قارچ	دریایی			پرورشی		
	باله	پوست	آبشش	باله	پوست	آبشش
آلترناریا الترناتا	+	-	+	-	+	+
کلادوسپوریوم کاربونی	+	+	-	+	+	+
موکور	+	-	-	+	-	+
اورتوبازیدیوم	-	+	+	-	-	-
پنی سیلیوم سیتترینوم	+	-	+	+	+	+
پنی سیلیوم فرکوئینتس	-	-	+	-	-	-
پنی سیلیوم نوتاتوم	-	-	-	-	+	-
پسیلوماپسس	-	+	+	+	+	+
آسپرژیلوس فلاووس	-	-	-	+	-	+
آسپرژیلوس فومیگاتوس	-	-	-	+	-	-
سودوآلشریا بوندی	-	-	-	-	-	+
رودوتور لاروبروم	+	-	-	-	-	-
فوزاریوم	-	-	+	+	-	+

جدول ۱- گونه‌های قارچی جدا شده از اندام‌های سطحی (پوست، باله و آبشش) تاس ماهیان ایرانی پرورشی و صید شده از دریا.

همچنین بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام شده بین مجموع فلور قارچی جدا شده از اندام‌های باله، آبشش و پوست تاس ماهیان پرورشی، ارتباط معنی داری ($p > 0.05$) مشاهده نگردید. ولی بر این اساس، بیشترین و کمترین میزان فلور قارچی به ترتیب از باله (۳۸/۴۶ درصد) و پوست (۲۸/۲۱ درصد) جدا شده است (نمودار ۴).

از مقایسه بین مجموع فلور قارچی جدا شده از اندام‌های پوست، باله و آبشش مجموع تاس ماهیان مورد مطالعه بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ارتباط معنی دار آماری مشاهده نگردید ($P > 0.05$). اما به لحاظ درصدی، میزان فراوانی فلور قارچی جدا شده از باله (۴۰/۶۸ درصد) بیش از آبشش (۳۰/۵۰ درصد) و پوست (۲۸/۸۲ درصد) بوده است.

تنوع گونه‌های قارچی جدا شده از اندام‌های ماهیان در جدول یک مشخص شده است. بر اساس این جدول از نظر تنوع گونه‌های قارچی جدا شده، کمترین تعداد گونه قارچی از پوست (۷ گونه) و بیشترین تعداد آن‌ها از آبشش و باله (۹ گونه) جدا گردید. همچنین در مقایسه بین تاس ماهیان ایرانی پرورشی و صید شده از دریا، تنوع گونه‌های قارچی جدا شده از تاس ماهیان پرورشی (۱۱ گونه) بیشتر از تاس ماهیان صید شده از دریا بود (جدول ۱).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تنوع و فراوانی ارگانیسم‌های قارچی جدا سازی شده در این مطالعه از اندام‌های باله، آبشش و پوست ماهیان پرورشی، بیش از تنوع و فراوانی ارگانیسم‌های قارچی جدا

ابعاد $12 \times 12 \times 1/5$ متر با کف چوبی و آب ۱۷ درجه سانتیگراد و هوادهی مستمر نگهداری شدند و سپس عملیات تکثیر روی آن‌ها انجام گرفت. ماهیان پرورشی نیز در حوضچه‌های فایبر گلاسی ۴ تنی با هوادهی مستمر و غذای کنسانتره پرورش یافتند. نمونه برداری از سه اندام پوست، باله و آبشش ماهیان توسط سوآپ استریل به عمل آمد. پس از قرار دادن سوآپ‌ها در لوله‌های در دار حاوی آب مقطر استریل، نمونه‌ها به آزمایشگاه بیماری‌های ماهی مرکز منتقل و در زیر هود میکروبیولوژی یک و تحت شرایط استریل به محیط‌های کشت قارچ شناسی منتقل شدند. محیط‌های کشت در دمای ± 25 درجه سانتیگراد نگهداری و بطور روزانه حداکثر تا ۲ هفته مورد بررسی و بر اساس میزان رشد، رنگ سطح و پشت کلنی و همچنین بررسی اندام‌های زایا، گونه‌های قارچی مورد شناسایی قرار گرفتند (۱۳).

پس از خالص سازی کلنی‌های قارچی رشد یافته، تشخیص اولیه احتمالی برخی از آن‌ها با توجه به مورفولوژی کلنی‌های قارچی داده شد. سپس با استفاده از روش میکروسکپی، اختصاصات مورفولوژی یک ریزبینی آن‌ها بویژه دستگانه زایشی قارچ‌ها با استفاده از محلول لاکتوفنل کاتن بلو و با درشتنمایی 10×40 میکروسکپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. از روش اسلاید کالچر به منظور تشخیص قطعی نیز استفاده گردید.

نتایج

این بررسی که روی پوست، باله و آبشش ۲۸ قطعه تاس ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریای خزر انجام شده است در مجموع از ۶۴/۲۸ درصد تاس ماهیان مورد مطالعه ارگانیسم‌های قارچی جدا گردید که در این میان ۶۶/۱۰ درصد آن‌ها را تاس ماهیان ایرانی پرورش یافته در مرکز تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و ۳۳/۹ درصد را تاس ماهیان ایرانی صید شده از دریا تشکیل می‌دهند (نمودار ۱).

فراوانی قارچ‌های جدا شده به ترتیب شامل، کلادوسپوریوم کاربونی (۲۷/۱۲ درصد)، پسیلوماپسس (۱۶/۹۵ درصد)، موکور (۱۱/۸۷ درصد)، آلترناریا الترناتا (۱۰/۱۸ درصد)، (تصویر ۱)، فوزاریوم (۶/۷۸ درصد)، پنی سیلیوم سیتترینوم (۶/۷۸ درصد)، (تصویر ۲)، آسپرژیلوس فلاووس (۷/۷۸ درصد)، اورتوبازیدیوم (۳/۳۹ درصد)، (تصویر ۳)، رودوتور لاروبروم (۳/۳۹ درصد)، آسپرژیلوس فومیگاتوس (۱/۶۹ درصد)، سودوآلشریا بوندی (۱/۶۹ درصد)، پنی سیلیوم نوتاتوم (۱/۶۹ درصد) و پنی سیلیوم فرکوئینتس (۱/۶۹ درصد) بودند. بر این اساس بیشترین فراوانی نسبی فلور قارچی جدا شده از مجموع تاس ماهیان، متعلق به قارچ کلادوسپوریوم کاربونی با ۲۷/۱۲ درصد بود (نمودار ۲). همچنین این قارچ به عنوان فراوان ترین گونه قارچی جدا شده از ماهیان پرورشی (۱۶/۹۵ درصد) و دریایی (۱۰/۱۷ درصد) تعیین شد (نمودار ۲).

بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین مجموع فلور قارچی جدا شده از باله، آبشش و پوست تاس ماهیان صید شده از دریا، اختلاف معنی دار آماری ($p > 0.05$) مشاهده نگردید. ولی به لحاظ درصدی، بیشترین میزان



عنوان فراوان ترین قارچ جدا شده از اندام‌های سطحی ماهیان معرفی شد (۱۱). در بررسی حاضر نیز این قارچ بیشترین فراوانی را در بین قارچ‌های جدا شده از اندام‌های سطحی تاس ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریا نشان داده است. لذا با توجه به جداسازی فراوان این قارچ از محیط‌های دریایی و آب شیرین و گزارش عفونت‌های کیسه‌شنا‌ی ناشی از این قارچ در ماهیان (۳، ۱۲، ۱۵) نقش بیماری‌زایی کلادوسپوریوم‌ها در ماهیان خاویاری نیز جای بررسی و تحقیق دارد.

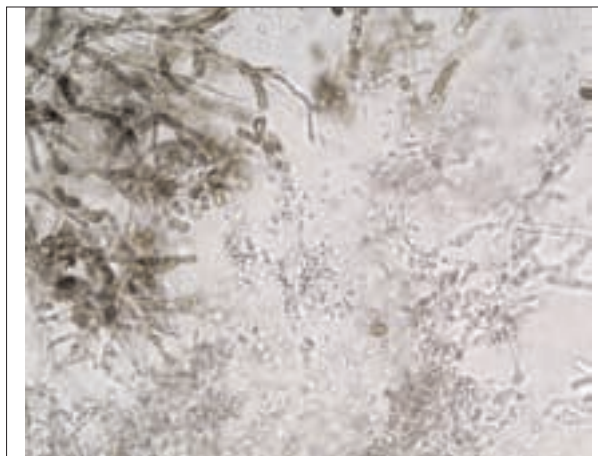
سایر قارچ‌های جدا شده در این بررسی همواره در محیط‌های آبی و اندام‌های سطحی آبزیان یافت می‌شوند و تاکنون عوارض و بیماری‌های مهمی از آن‌ها در آبزیان گزارش نشده است. ولی این احتمال وجود دارد که در شرایط استرس‌های مختلف محیطی زمینه رشد و تاثیر آن‌ها بر آبزیان فراهم گردد هر چند که نقش بیماری‌زایی آن‌ها به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

تشکر و قدردانی

از کلیه پرسنل بخش بهداشت و بیماری‌ها، فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و آزمایشگاه بیماری‌های ماهی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که در اجرای طرح همکاری نمودند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Alderman, D.J (1982) fungal disease of aquatic animal. In: microbial disease of fish. Edited by RJ Robert. Academic press, London, UK, pp: 189-242.
2. Azari Takami, G (2009) Breeding and Cultivation of Sturgeon. (2nd ed.) University of Tehran Press, Tehran, Iran.
3. Bowater, R.O., Thomas, A., Shivas, R.G., Humphrey, J.D. (2003) Deuteromycotic fungi infecting barramundi cod, *Cromileptes altivelis*, from Australia. *J. Fish Dis.* 26: 681 - 686.
4. Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Hoosseinifard, S.M., Khosravi, A.R., Soltani, M., Yosefian, M. (2007) Isolation and identification of parasite and saprophyte fungi from fungal affected eggs of the Rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* in Mazandaran Province. *J. Vet. Res.* 62: 163-168.
5. Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Khosravi, A.R., Azari Takami, G. (2000) a survey of fungal flora of cultivated cyprinids in Sefid Rood fish farmed center. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 55: 53-57.
6. Firouzbaksh, F., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A.,



تصویر ۳- اورئوبازیدیوم (X۴۰۰).

نسبت به آبشش ماهیان می‌باشد که شاید بدلیل دسترسی آسان هاگ‌های قارچی به این اندام‌ها نسبت به آبشش باشد.

از بین قارچ‌های جدا شده گونه‌های متعددی به عنوان عوامل بیماری‌زای احتمالی در انواع آبزیان گزارش شده‌اند. فوزاریوم‌ها یکی از قارچ‌های با اهمیت در آبزیان هستند که بیماری‌های مهمی را ایجاد می‌کنند که بیماری آبشش سیاه در میگو یکی از مهمترین آن‌ها است (۱). علاوه بر تاثیر مستقیم فوزاریوم‌ها و ایجاد عفونت‌های جلدی، احشایی و چشمی (۱۷) در آبزیان، نقش توکسین‌زایی (Fusariotoxin) آن‌ها نیز کاملاً شناخته شده است (۱۶). در ایران نیز گونه‌های مختلف فوزاریوم از بچه ماهی قره برون (۱۴) و آبشش کپور ماهیان پرورشی (۸، ۹) جدا شده است. در این بررسی نیز گونه‌های فوزاریوم از آبشش ماهیان صید شده از دریا و همچنین باله و آبشش تاس ماهیان پرورشی جدا شده است.

آسپرژیلوس‌ها از دیگر قارچ‌های با اهمیت در آبزیان هستند که به عنوان عوامل مهم بیماری‌زاد ماهی به ویژه در مناطق حاره‌ای مطرح هستند (۱۷). در ایران نیز گونه‌های مختلف آسپرژیلوس از پوست (۵) و آبشش (۹) کپور ماهیان و لارو تاس ماهی ایرانی (۱۱) جدا شده است. آسپرژیلوس فلاووس از قارچ‌های مهم توکسین‌زا است که می‌تواند تحت شرایط حرارت و رطوبت مناسب سم آفلاتوکسین را تولید نماید. در این بررسی آسپرژیلوس فومیگاتوس از باله و آسپرژیلوس فلاووس از باله و آبشش تاس ماهیان پرورشی جدا شده است و هیچ گونه‌ای از قارچ آسپرژیلوس از ماهیان صید شده از دریا جدا نگردید.

پسیلومایسس قارچی است که در آب‌های شیرین و شور مشاهده شده و سبب عفونت‌هایی در کلیه و کیسه‌شنا می‌گردد. همچنین تورم پرده صفاق ناشی از آن نیز گزارش شده است (۱). در این بررسی نیز این قارچ از اندام‌های سطحی ماهیان پرورشی و صید شده از دریا جدا گردید.

قارچ کلادوسپوریوم به عنوان یکی از قارچ‌های آلوده کننده کیسه‌شنا از عفونت‌های قارچی ماهی کاد (۳) و دلک ماهی (۱۵) گزارش شده است. در تحقیقی که روی لاروهای تاس ماهی ایرانی انجام گرفت، کلادوسپوریوم به



- Khosravi, A.R. (2005) Isolation and identification of pathogenic and saprophytic fungi from gill lesions in cultivated cyprinids. J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 60:15-19.
7. Hussein, M.M., Hatai, K. (2002) Pathogenesis of saprolegnia species associated with outbreaks of salmonid saprolegniosis in Japan. Fish. Sci. 68: 1067-1072.
 8. Lehmann, J., Mock, D., Schafer, W. (1999) Swim bladder infection of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*, by a fungus: a case report. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 10: 83-84.
 9. Rippon, J.W. (1988) Medical mycology, (3rd ed.) W.B. Saunders Company, Chicago, Illinois, USA.
 10. Roberts, R.J. (2001) The mycology of teleost. In fish pathology. Edited by R.J. Roberts. (3rd ed.) W.B. Saunders company, Philadelphia, USA. pp: 332-346.
 11. Silphaduang, U., Hatai, K., Wada, S., Noga, E. (2000) Cladosporiosis in a tomato clownfish, *Amphiprion frenatus*. J. Zoo. Wild. Med. 31: 259-261.
 12. Souheil, H., Vey, A., Thuet, P., Trilles, J. P. (1999) Pathogenic and toxic effects of *Fusarium oxysporum* on survival and osmoregulatory capacity of *Penaeus japonicus*. Aquaculture. 178: 209-224.
 13. Van West, P. (2006) *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem. Mycologist. 20: 99-104.
 14. Willoughby, L.G. (1994) Fungi and Fish Diseases. Pisces press. Sterling, Scotland.



IDENTIFICATION OF FLORA IN CULTIVATED AND NATURAL CASPIAN SEA *ACIPENSER PERSICUS*

Firouzbakhsh, F.^{1*}, Kazemi, R.², Kazemi, M.³, Khosravi, A.R.⁴, Jalilpour, J.², Ebrahimzadeh Mousavi, H.A.⁵

¹Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University, Sari- Iran.

²International Sturgeon Research Institute, Rasht- Iran.

³Graduated from the Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University, Sari- Iran.

⁴Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

⁵Department of Fish Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

(Received 10 June 2008 , Accepted 30 May 2009)

Abstract:

Fungal infections of fish are widespread problem which affect wild and farmed species. The aim of the present study was to isolate and identify fungal flora in cultivated and natural Caspian Sea *Acipenser persicus*. The samples were obtained from skin, fin and gill of the fish and were inoculated into culture media with antibiotics and incubated at 23 ± 1 °C. 13 species of fungi isolated from the fishes including: *Alternaria alternata*, *Cladosporium carioni*, *Mucor* spp., *Aureobasidium* spp., *Penicillium citrinum*, *Penicillium frequentans*, *Penicillium notatum*, *Paecilomyces* spp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *pseudallescheria boydii*, *Rhodotorula rubrum* and *Fusarium* spp. The most frequent one was *Cladosporium carioni* in cultivated (16.95%) and natural fishes (10.17%). While the most fungi were isolated from fin (40.68%), the lowest were isolated from skin (28.82%) of fishes.

Key words: fungal flora, *Acipenser persicus*, gill, fin, skin.

*Corresponding author's email: f.firouzbakhsh@sanru.ac.ir, Tel: 021-66427517, Fax: 021-66933222.

