

بررسی قارچ‌های سطحی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر

فرید فیروزبخش^{۱*} رضوان الله کاظمی^۲ محسن کاظمی^۳ علیرضا خسروی^۴ 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) انسسیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، گilan- ایران.

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

(۴) گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپردازی، دانشگاه تهران، تهران- ایران.

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

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

چکیده

عفونت‌های قارچی ماهیان پراکنده‌گی جهانی دارند که اغلب گونه‌های وحشی و پرورشی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. هدف از مطالعه حاضر، جداسازی و شناسایی قارچ‌های سطحی در تاس‌ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریای خزر بود. نمونه‌ها از پوست، باله و آبشش ماهیان تهیه و در محیط‌های کشت قارچی همراه با آنتی بیوتیک تلقیق و در دمای 23 ± 1 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سیزده نوع قارچ از ماهیان جداسازی شد که شامل: آلتزاریا آلتزاریا، کلاudosporium کاریونی، موکور، اورئوبازیدیوم، پنی سیلیوم سیترینوم، پنی سیلیوم فرکوئیتسس، پسیلومایسنس، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس فومیگاتوس، سودوآلتریبا بوئدی، رو دنور لا رو بروم و فوزاریوم بودند. در این میان کلاudosporium کاریونی بیشترین فراوانی رادر بین قارچ‌های جداسده از تاس‌ماهی ایرانی پرورشی (۱۷/۱۰ درصد) و صید شده از دریا (۹۵/۱۶ درصد) نشان داد. همچنین بیشترین و کمترین میزان قارچ‌ها بترتیب از باله (۸۲/۲۸ درصد) و پوست (۸۲/۴۰ درصد) ماهیان جداسندند.

واژه‌های کلیدی: فلورقارچی، تاس‌ماهی ایرانی، آبشنش، باله، پوست.

مقاطع آسیب‌شناسی به اثبات رسیده است (۱۰). از مهمترین قارچ‌های جدا

شده از آبزیان می‌توان به فوزاریوم‌ها اشاره کرد که بیماری آبشنش سیاه در میگو (۱)، و عفونت‌های سطحی و احشایی رادر آبزیان (۱۷) سبب می‌شوند. همچنین گزارشاتی از عفونت‌های قارچی کیسه شنا و اندام‌های داخلی ماهیان با قارچ‌های کلاudosporium (۱۵، ۳) و پسیلومایسنس (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 (۱۱، ۷) و بچه ماهیان تاس‌ماهی ایرانی (۱۴)، آلودگی قارچی تخم ماهی قزال‌آلای رنگین‌کمان (۴)، آلودگی قارچی اندام‌های سطحی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۶) و آلودگی قارچی کپور ماهیان پرورشی (۸، ۹) اشاره کرد.

با توجه به اهمیت تاس‌ماهی ایرانی، هدف این تحقیق شناسایی و مقایسه ارگانیسم‌های قارچی اندام‌های سطحی بین ماهیان طبیعی و پرورش یافته و جداسازی قارچ‌های بیماری‌زای احتمالی از این گونه‌نادر بوده است.

مواد و روش کار

این تحقیق طی سه مرحله نمونه‌گیری روی ۲۸ قطعه تاس‌ماهی ایرانی شامل ۱۸ ماهی مولد صید شده از دریا و ۱۰ ماهی پرورش یافته در مرکز تحقیقات بین المللی 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 آبزی پروری دنیا محسوب می‌شود. که با توجه به آن می‌توان ارگانیسم‌های قارچی را به عنوان یکی از عوامل اساسی تعیین کننده وضعیت بهداشتی آبزیان مدنظر قرار داد. حضور بسیار گسترده ارگانیسم‌های 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 تخریزی را سبب می‌شوند. لذا شناسایی فلورقارچی ماهیان در دوران تخریزی از نظر عوامل بیماری‌زای احتمالی و بروز بیماری‌های ناشی از آن‌هادر مولدین و انتقال ارگانیسم‌های قارچی به سالن‌های هجری و بروز تلفات در تخم‌ها و نوزادان حائز اهمیت است.

پوست، باله و آبشنش اندام‌هایی هستند که به لحاظ داشتن بیشترین سطح تماس با محیط خارجی از تنوع و فراوانی فلور میکروبی بیشتری بر خوردار هستند. تراکم بالا و شرایط نامناسب نگهداری ماهیان، تغییرات فیزیکو‌شیمیایی 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 عفونت‌هایی توان به زخم‌های جلدی و پوسیدگی باله اشاره کرد که عوامل قارچی به عنوان عوامل ثانویه از جراحات ذکر شده جداسازی و تاثیر اثرات بیماری‌زایی و تخریبی آن‌ها پس از تهیه



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

پرورشی			دریابی			قارچ
آبشش	پوست	باله	آبشش	پوست	باله	
+	+	-	+	-	+	آلتناریا الترناتا
+	+	+	-	+	+	کلادوسپوریوم کاربونی
+	-	+	-	-	+	موکور
-	-	-	+	+	-	اورئوپلاریدیوم
+	+	+	+	-	+	پنی سیلیوم سیترینوم
-	-	-	+	-	-	پنی سیلیوم فرکوئینتس
-	+	-	-	-	-	پنی سیلیوم نوتاتوم
+	+	+	+	+	-	پسیلومایسنس
+	-	+	-	-	-	آسپرژیلوس فلاووس
-	-	+	-	-	-	آسپرژیلوس فومیگاتوس
+	-	-	-	-	-	سودوآلشیریا بوئی
-	-	+	-	-	+	رودونرولا روبروم
+	-	+	+	-	-	فلواریوم

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 (۲۸/۴۰ 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) بیش از آبشش (۵۰/۳۰ درصد) و پوست (۲۸/۸۲) 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 شده در این مطالعه از اندام‌های باله، آبشش و پوست ماهیان پرورشی، بیش از تنوع و فراوانی ارگانیسم‌های قارچی جدا

بعاد ۱۲×۱۲×۱۲ متر با گفچه چوبی و آب ۱۷ درجه سانتیگراد و هواده مستمر نگهداری شدند و سپس عملیات تکثیر روی آن‌ها انجام گرفت. ماهیان پرورشی نیز در حوضچه‌های فایبر گلاسی ۴ تنی با هواده مستمر و غذای کنسانتره پرورش یافتند. نمونه‌برداری از سه اندام پوست، باله و آبشش ماهیان توسط سواپ استریل به عمل آمد. پس از قرار دادن سواپها در لوله‌های در دار حاوی آب مقطر استریل، نمونه‌های آزمایشگاه بیماری‌های ماهی مرکز منتقل و در زیر هود میکروبیولوژیک و تحت شرایط استریل به محیط‌های کشت قارچ شناسی منتقل شدند. محیط‌های کشت در دمای ± 23 درجه سانتیگراد نگهداری و بطور روزانه حداقل 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).

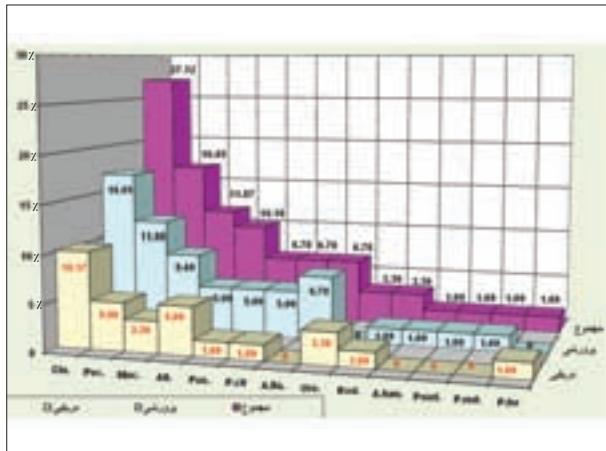
پس از خالص سازی کلنی‌های قارچی رشد یافته، تشخیص اولیه احتمالی برخی از آن‌ها با توجه به مورفولوژی کلنی‌های قارچی داده شد. سپس با استفاده از روش میکروسکوپی، اختصاصات مورفولوژیک ریزینی آن‌ها باید دستگاه زایشی قارچ‌ها با استفاده از محلول لاکتووفل کاتن بلوبایا درشتمنیابی 40×40 میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. از روش اسلامید کالچر به منظور تشخیص قطعی نیز استفاده گردید.

نتایج

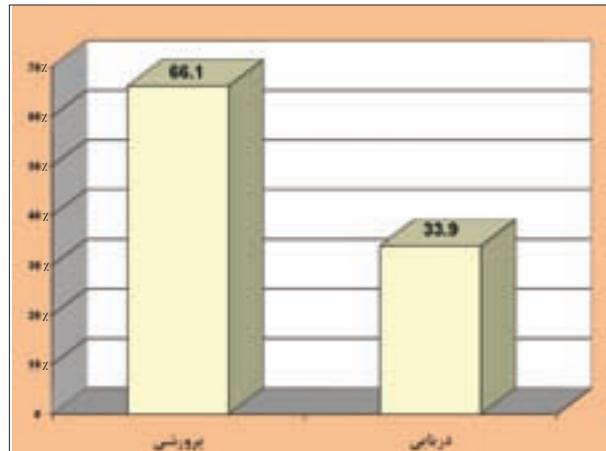
این بررسی که روی پوست، باله و آبشش ۲۸ قطعه تاس ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریا بر ای خرز انجام شده است در مجموع از $64/28$ درصد تاس ماهیان مورد مطالعه ارگانیسم‌های قارچی جدا گردید که در این میان $64/10$ درصد آن‌ها را تاس ماهیان ایرانی پرورش یافته در مرکز تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتردادمان و $33/9$ درصد را تاس ماهیان ایرانی صید شده از دریا تشکیل می‌دهند (نمودار ۱).

فراوانی قارچ‌های جدا شده به ترتیب شامل، کلادوسپوریوم کاربونی ($27/2$ درصد)، پسیلومایسنس ($16/95$ درصد)، موکور ($11/87$ درصد)، آلتناریا الترناتا ($10/18$ درصد)، (تصویر ۱)، فوزاریوم ($78/78$ درصد)، پنی سیلیوم سیترینوم ($78/78$ درصد)، (تصویر ۲)، آسپرژیلوس فلاووس ($78/78$ درصد)، اورئوپلاریدیوم ($39/39$ درصد)، رو دونرولا روبروم ($69/69$ درصد)، آسپرژیلوس فومیگاتوس ($69/69$ درصد)، سودوآلشیریا بوئی ($69/69$ درصد)، پنی سیلیوم نوتاتوم ($69/69$ درصد) و پنی سیلیوم فرکوئینتس ($69/69$ درصد) بودند. بر این اساس بیشترین فراوانی نسبی فلور قارچی جدا شده از مجموع تاس ماهیان، متعلق به قارچ کلادوسپوریوم کاربونی با $27/12$ درصد بود (نمودار ۲). همچنین این قارچ به عنوان فراوان ترین گونه قارچی جدا شده از ماهیان پرورشی ($95/95$ درصد) و دریایی ($12/10$ درصد) تعیین شد (نمودار ۲).

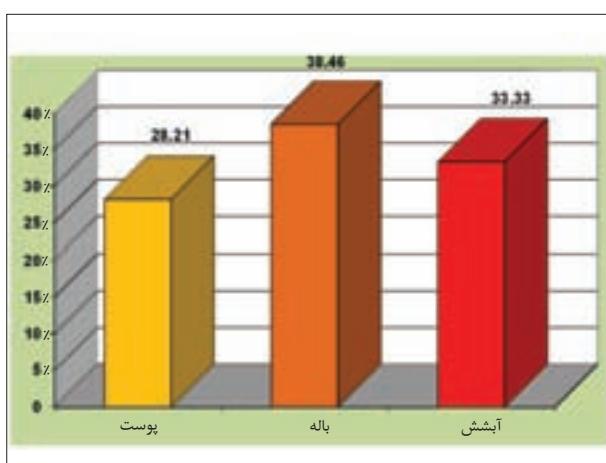
بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین مجموع فلور قارچی جدا شده از باله، آبشش و پوست تاس ماهیان صید شده از دریا، اختلاف معنی دار آماری ($p < 0.05$) مشاهده نگردید. ولی به لحاظ درصدی، بیشترین میزان



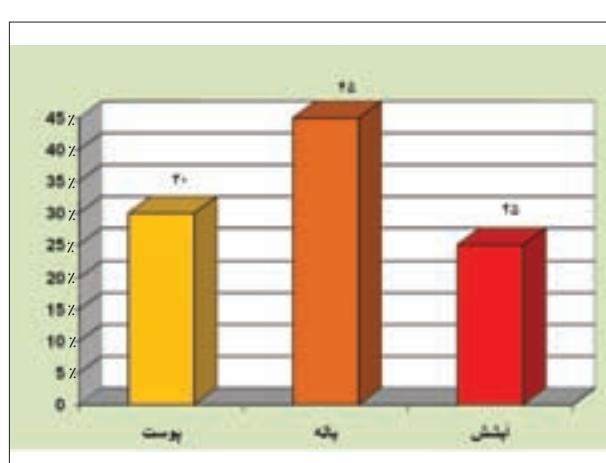
نمودار-۲- فراوانی نسبی قارچ‌های جداده از تاس ماهیان ایرانی صید شده از دریا و پرورشی مورد مطالعه.



نمودار-۱- درصد تاس ماهیان ایرانی آلوده به قارچ در مطالعه حاضر.



نمودار-۴- فراوانی قارچ‌های جداده از اندامهای تاس ماهیان ایرانی پرورشی مورد مطالعه.



نمودار-۳- فراوانی قارچ‌های جداده از اندامهای مختلف تاس ماهیان ایرانی مورد مطالعه صید شده از دریا.



تصویر-۲- پنی سیلیوم سیترینوم (X₄₀).₄₀

درصد فراوانی فلور قارچی جدا شده از اندامهای پوست و باله در ماهیان پرورشی و صید شده از دریا نسبت به آبشش از میزان بیشتری برخوردار بود. که نشان دهنده تماس و جایگزینی بیشتر هاگ‌های قارچی در پوست و باله



تصویر-۱- آلتنتاریا آلتنتاتا (X₄₀).₄₀

شده از ماهیان صید شده از دریا می‌باشدند (جدول ۱). که شاید این افزایش تنوع و فراوانی به دلیل نگهداری ماهیان پرورشی در محیطی محدود و با تراکم بالا باشد که منجر به افزایش رشد قارچ‌های در این شرایط شده است. همچنین



عنوان فراوان ترین قارچ جدا شده از اندام های سطحی ماهیان معرفی شد (۱۱). در بررسی حاضر نیز این قارچ بیشترین فراوانی را در بین قارچ های جدا شده از اندام های سطحی تاسی ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریانشان داده است. لذا با توجه به جداسازی فراوان این قارچ از محیط های دریایی و آب شیرین و گزارش غفونت های کیسه شناشی از این قارچ در ماهیان (۳، ۱۲، ۱۵) نقش بیماری زایی کلادوسپوریوم ها در ماهیان خاویاری نیز جای بررسی و تحقیق دارد.

سایر قارچ های جدا شده در این بررسی همواره در محیط های آبی و اندام های سطحی آبزیان یافت می شوند و تاکنون عوارض و بیماری های مهمی از آن هادر آبزیان گزارش نشده است. ولی این احتمال وجود دارد که در شرایط استرس های مختلف محیطی زمینه رشد و تاثیر آن ها بر آبزیان فراهم گردد هر چند که نقش بیماری زایی آن ها به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

تشکر و قدردانی

از کلیه پرسنل بخش بهداشت و بیماریها، فیزیولوژی و بیوشیمی انسستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و آزمایشگاه بیماری های ماهی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که در اجرای طرح همکاری نمودند صمیمانه سپاسگزاری می شود.

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., Hoosseinfard, 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. Firouzbakhsh, F., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A.,



تصویر ۳- اورثوبازیدیوم (X ۴۰۰).

نسبت به آبیشش ماهیان می باشد که شاید بدليل دسترسی آسان هاگ های قارچی به این اندام ها نسبت به آبیشش باشد.

از بین قارچ های جدا شده گونه های متعددی به عنوان عوامل بیماری زای احتمالی در انواع آبزیان گزارش شده اند. فوزاریوم ها یکی از قارچ های با اهمیت در آبزیان هستند که بیماری های مهمی را بیجاد می کنند که بیماری آبیشش سیاه در میگوبکی از مهمترین آن هاست (۱). علاوه بر تاثیر مستقیم فوزاریوم ها و ایجاد عفونت های جلدی، احشایی و چشمی (۱۷) در آبزیان، نقش توکسین زایی (Fusariotoxin) آن هانیز کاملاً شناخته شده است (۱۶). در ایران نیز گونه های مختلف فوزاریوم از بچه ماهی قره برون (۱۴) و آبیشش کپور ماهیان پرورشی (۸، ۹) جدا شده است. در این بررسی نیز گونه های فوزاریوم از آبیشش ماهیان صید شده از دریا و همچنین باله و آبیشش تاس ماهیان پرورشی جدا شده است.

آسپرژیلوس ها از دیگر قارچ های با اهمیت در آبزیان هستند که به عنوان عوامل مهم بیماری زاد رماهی به ویژه در مناطق حاره ای مطرح هستند (۱۷). در ایران نیز گونه های مختلف آسپرژیلوس از پوست (۵) و آبیشش (۹) کپور ماهیان و لارو تاس ماهی ایرانی (۱۱) جدا شده است. آسپرژیلوس فلاووس از قارچ های مهم توکسین زا است که می تواند تحت شرایط حرارت و رطوبت مناسب سم آفلاتوكسین را تولید نماید. در این بررسی آسپرژیلوس فومیگاتوس از باله و آسپرژیلوس فلاووس از باله و آبیشش تاس ماهیان پرورشی جدا شده است و هیچ گونه ای از قارچ آسپرژیلوس از ماهیان صید شده از دریا جدا نگردید.

پسیلو مایسنس قارچی است که در آب های شیرین و شور مشاهد شده و سبب عفونت هایی در کلیه و کیسه شناشی گردد. همچنین تورم پرده صفاق ناشی از آن نیز گزارش شده است (۱). در این بررسی نیز این قارچ از اندام های سطحی ماهیان پرورشی و صید شده از دریا جدا گردید.

قارچ کلادوسپوریوم به عنوان یکی از قارچ های آلوده کننده کیسه شناش 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) Pathogenesity 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 RJ 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 oxyporum* on survived 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. Williughby, 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 $23\pm1^{\circ}\text{C}$. 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.