

جداسازی، شناسایی و مطالعه‌ی ویژگی‌های آسیب شناسی انگل، *Gonapodasmius epinepheli*، در ماهی هامور معمولی، *Epinephelus coioides*، در خلیج فارس

مجتبی لیاقت*^۱، مریم میربخش^۱، محمد علی نظاری^۱، عقیل دشتیان نسب^۱، عیسی کشتکار^۱ و قاسم غریبی^۱
تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۲۵

چکیده

ترماتود دیژن *Gonapodasmius epinepheli* از خانواده‌ی دی‌موزوئید (Didymozoid) در آبشش ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) صید شده از سواحل جنوبی استان بوشهر در جزیره‌ی خارک جداسازی و شناسایی شد. این انگل به صورت ماکروسکوپی درون کیسه‌های زردرنگ روی تیغه‌های آبششی قرار می‌گیرد. براساس گزارش‌های موجود، کیسه‌دارشدن این انگل روی تیغه‌ها آبششی، واکنش‌های موضعی بافتی را موجب می‌شود. مطالعات هیستوپاتولوژیک در این پژوهش، ضایعاتی از قبیل پیچ خوردگی، انحراف و بدشکلی تیغه‌ها آبششی دیده شد. همچنین، در سایر اندام‌ها از قبیل کلیه و قلب نیز بقایای تخم‌ها و کیست‌های انگلی مشاهده گردید. در این پژوهش، در مورد سیر تکاملی و عوارض بافتی ناشی از آن بحث خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: هامور معمولی، ترماتود دیژن، *Epinephelus coioides*، *Gonapodasmius epinepheli*.

۱. گروه شیلات، دانشگده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه زابل.

* - نویسنده‌ی مسئول مقاله: aliarshadi2010@yahoo.com

مقدمه

هامورماهیان (Serranidae)، خانواده‌ای بزرگ از راسته‌ی سوف ماهی شکلان (Perciformes) را تشکیل می‌دهند و خود به پنج زیر خانواده تقسیم می‌شوند (Abbassi et al., 2007). از بین این زیر خانواده‌ها گوناگون، زیر خانواده‌ی Epinephelinae به‌عنوان هامور ماهیان شناخته شده است (Sadeghi 2001, Khodadai and Emadi 2004). ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) یکی از مهم‌ترین ماهی‌های اقتصادی در سطح دنیا، بویژه در کشورهای جنوب شرقی آسیا مثل تایلند (Tudkaew, 2008)، مالزی و فیلیپین بشمار می‌آید (Zendeh budi, 1994). به گونه‌ای که در یک دهه‌ی اخیر، پرورش متراکم آن در قفس‌های دریایی به گونه‌ای گسترده در حال انجام است. در ایران نیز در حجمی محدود، پرورش ماهی هامور در مناطقی از جنوب کشور صورت می‌گیرد، اما عمده‌ی نیاز بازار، از راه برداشت ذخایر دریایی این ماهی به‌وسیله‌ی تور ترال ماهی‌گیری و گرگور صیادی صورت می‌گیرد (Zendeh budi, 1994). از نظر زیستی، این ماهی معمولاً در اعماق میانی آب و در مناطق تپه‌ای و صخره‌ای زندگی می‌کند، اما گونه‌هایی از این نوع ماهی در مناطق با بستر گلی و ماسه‌ای نیز یافت می‌شوند. این ماهی از ماهیان کوچک‌تر و موجودات بی‌مهره، مثل خرچنگ‌های دریایی تغذیه می‌کند (Khodadai and Emadi, 2004). تا به امروز، انگل‌های کمی در این ماهی گزارش شده است که اسفاروسپورزیس کلیوی و تعدادی از آلودگی‌های کرمی از آن جمله اند (Liu et al., 1990; Supumattaya, 2010). همچنین، آلودگی‌های انگلی خارجی و عفونت‌های باکتریایی نیز در خانواده‌ی هامور ماهیان گزارش شده است (Cribb et al., 2002). در سال ۱۹۹۰ گونه‌ای جدید از ترماتودها با عنوان *Gonapodasmius epinepheli* از ماهی هامور منقوت (*Epinephelus tauvina*) گزارش شده که ویژگی‌های اصلی این انگل، عبارت بود از یک تورم کیسه‌ای شکل در ناحیه‌ی انتهایی تخمدان، وجود یک برآمدگی در ناحیه‌ی جنسی و یک توده‌ی محکم از

سلول‌های غده‌ای در مناطقی از روده که منجر به شناسایی گونه‌ای جدید در این ماهی شدند (Abdul-Salam and Sreelatha, 1990). در این مقاله، نخستین مورد گزارش انگل *Gonapodasmius epinepheli* از ماهی هامور معمولی در ایران می‌است که با توجه به چرخه‌ی زندگی پیچیده‌ی این انگل، در این مطالعه، ضمن مطالعات آسیب‌شناسی، پاسخ میزبان و پاتوژنیسیته انگل *G. epinepheli* در ماهی هامور معمولی (*E. coioides*) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۵ قطعه ماهی هامور معمولی با اندازه‌های متفاوت (میانگین طول بدن ۳۲۰ میلی متر) و میانگین وزنی ۱۴۵۰ گرم در ماه‌های آذر تا بهمن ۱۳۸۸ از گرگورهای صیادی سواحل جزیره‌ی خارک تهیه گردید. همه‌ی نمونه‌ها جهت مطالعات بیش‌تر در مجاورت یخ به آزمایشگاه بهداشت پژوهشکده‌ی میگوی کشور منتقل گردید. ماهی‌ها از نظر وجود انگل در نواحی بدنه مورد بررسی قرار گرفتند. با بررسی‌های صورت گرفته در ۵ قطعه از ماهی‌ها، کیست‌هایی زرد و سفید رنگ روی تیغه‌های اولیه آب‌ششی وجود داشت. تمامی انگل‌ها، جدا شده و در زیر میکروسکوپ استریو مورد بررسی قرار گرفتند. سپس این انگل به روش آزوکارمن رنگ‌آمیزی (Cribb et al., 2002) و روی اسلاید قرار داده شد. تخم‌ها و انگل‌های بالغ در زیر میکروسکوپ چشمی مورد بررسی قرار گرفت. آب‌شش‌ها و ارگان‌های داخلی، مثل قلب و کلیه‌ی ماهی نیز در بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و از آن‌ها مقاطع بافتی تهیه شد و با ترکیب رنگی هماتوکسیلین-ائوزین، رنگ‌آمیزی گردید. شناسایی انگل با بکارگیری کلید شناسایی ترماتودها صورت گرفت (Arthur and Lumanlan-Mayo, 1997).

نتایج

محدوده‌ی ۱-۸/۶×۴-۶ mm قرار داشت. کرم‌های نر، سفیدرنگ هستند در حالی که کرم‌های ماده زردرنگ می‌باشند که این موضوع با رنگ تخمی که درون رحم آن‌هاست، مطابقت دارد (شکل ۲). آپرکلوم (دریچه) تخم‌ها به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری به وضوح قابل دیدن بود (شکل ۳).

آب‌شش ماهی‌ها در تمام اندازه‌ها مبتلا به انگل *Gonapodasmius epinepheli* بودند. کیست‌های حاوی کرم‌های ترماتود در اندازه‌های گوناگون قرار داشتند. کیست‌های کوچک سفیدرنگ و در برخی از ماهی‌ها، کیست‌ها بزرگ‌تر به رنگ زرد کم رنگ مشاهده شد. میانگین اندازه‌ی کیست‌های انگلی روی بدن ماهی در

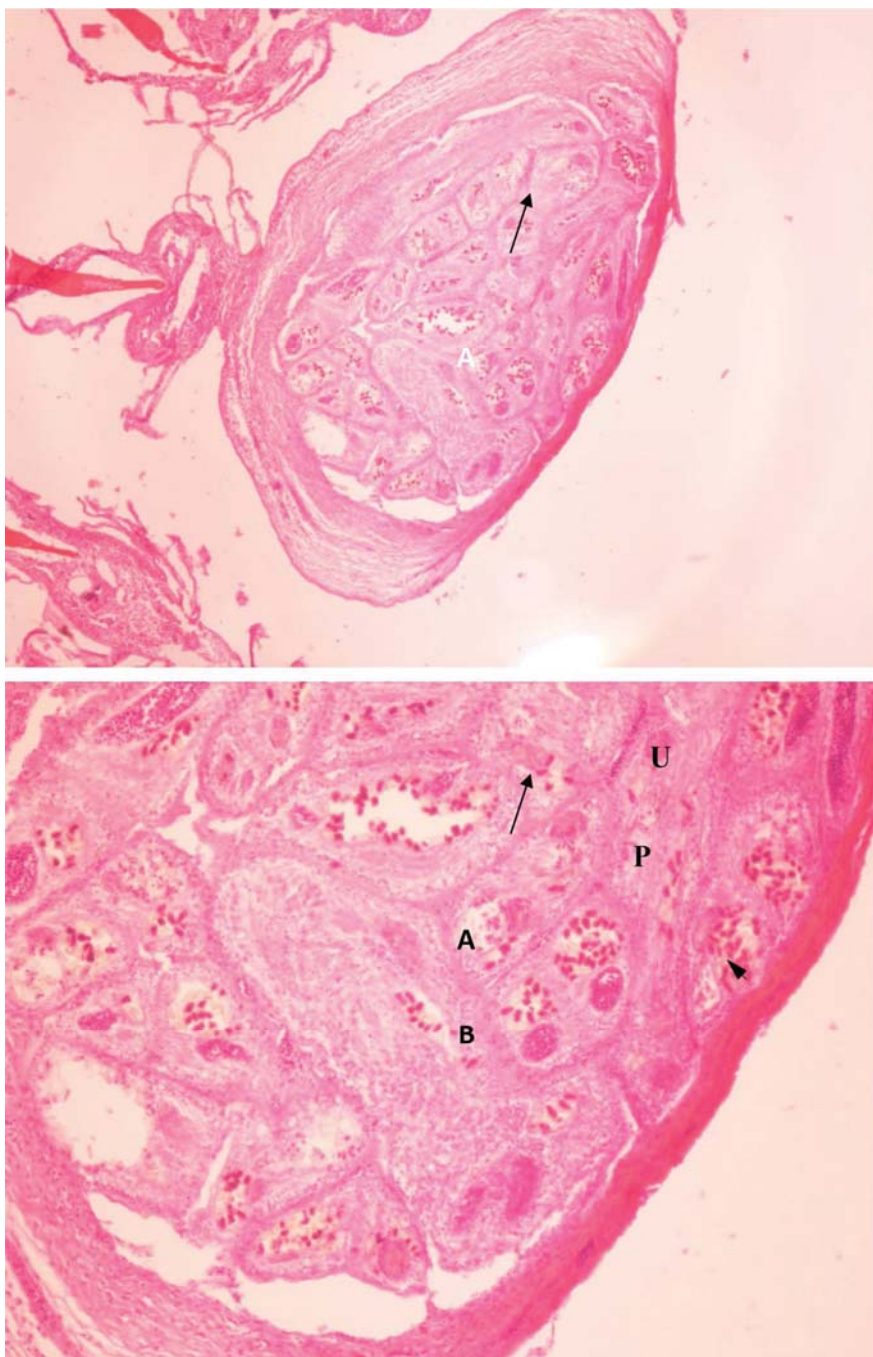


شکل ۱- کمان آب‌ششی ماهی هامور معمولی آلوده به کیست‌های کرم *Gonapodasmius epinepheli* در اندازه‌های گوناگون شامل کیست‌های کوچک و بزرگ سفید و سفید متمایل به زرد (پیکان‌های سفید رنگ). ضخیم‌شدگی و ناهنجاری در اتصالات کمان آب‌ششی (پیکان سیاه رنگ).

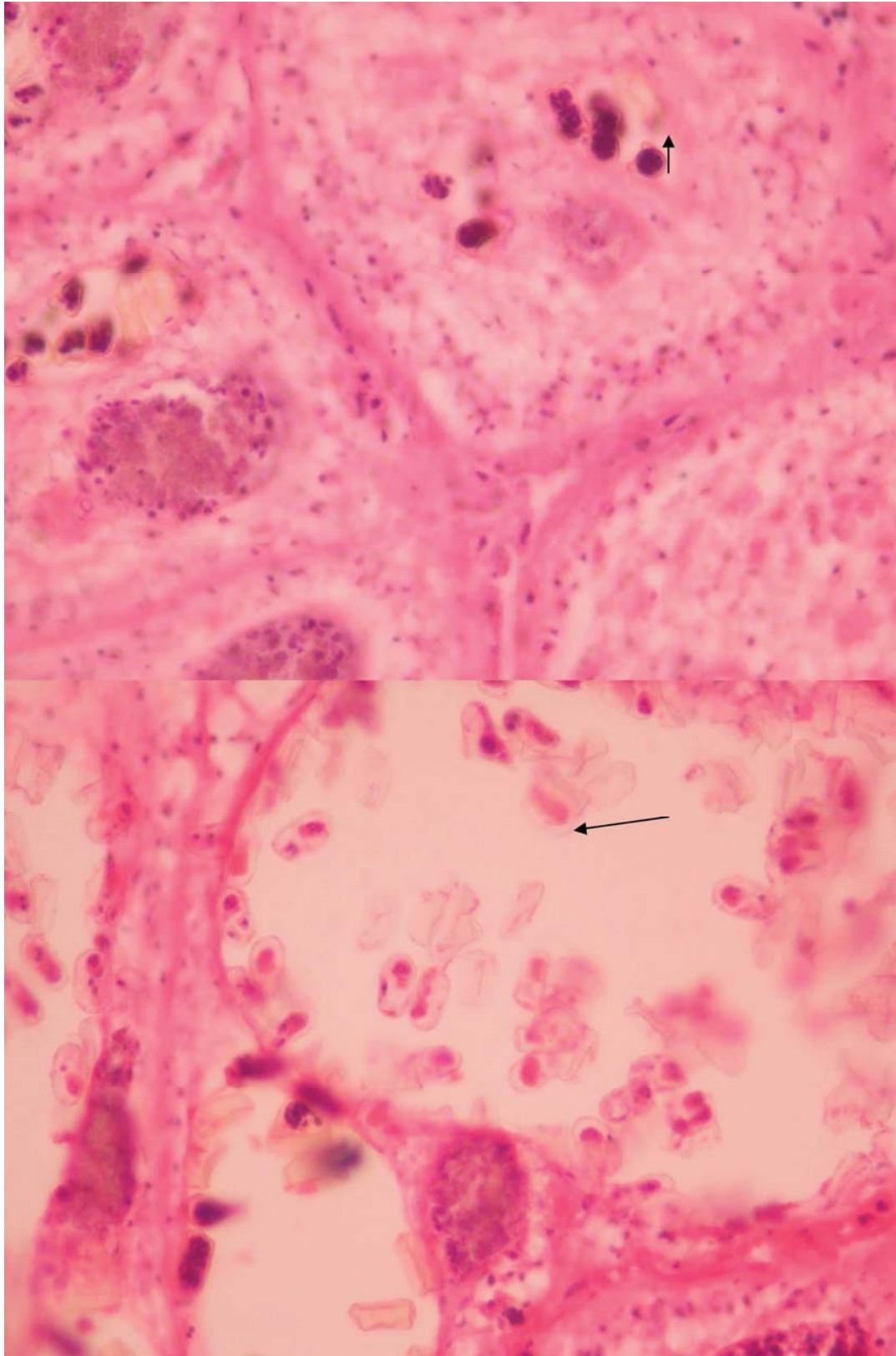
با توجه به مرفولوژی انگل و بررسی وضعیت تخم‌ها در زیر میکروسکوپ و جایگاه عفونت و نوع میزبان، این انگل *Gonapodasmius epinepheli* توصیف شده به وسیله‌ی عبدالسلام شناسایی گردید (Abdul-Salam and Sreelatha, 1990). آب‌شش‌ها بویژه کمان آب‌ششی، یکی از مهم‌ترین جایگاه‌های آلودگی انگلی است. مقاطع بافت‌شناسی نشان دادند که این انگل در زیر لایه‌ی مخاطی (موکوسی) لاملاهای کمان اولیه آب‌ششی قرار می‌گیرد (شکل ۲).

عبدالسلام شناسایی گردید (Abdul-Salam and Sreelatha, 1990). آب‌شش‌ها بویژه کمان آب‌ششی، یکی از مهم‌ترین جایگاه‌های آلودگی انگلی است. مقاطع بافت‌شناسی نشان دادند که این انگل در زیر لایه‌ی مخاطی (موکوسی) لاملاهای کمان اولیه آب‌ششی قرار می‌گیرد (شکل ۲).

مطالعات هیستوپاتولوژیک در این پژوهش، ضایعاتی از قبیل پیچ‌خوردگی، انحرافات و بدشکلی تیغه‌های آبششی داد. (شکل ۱) و هیپرتروفی بافت پوششی (شکل ۴) را نشان



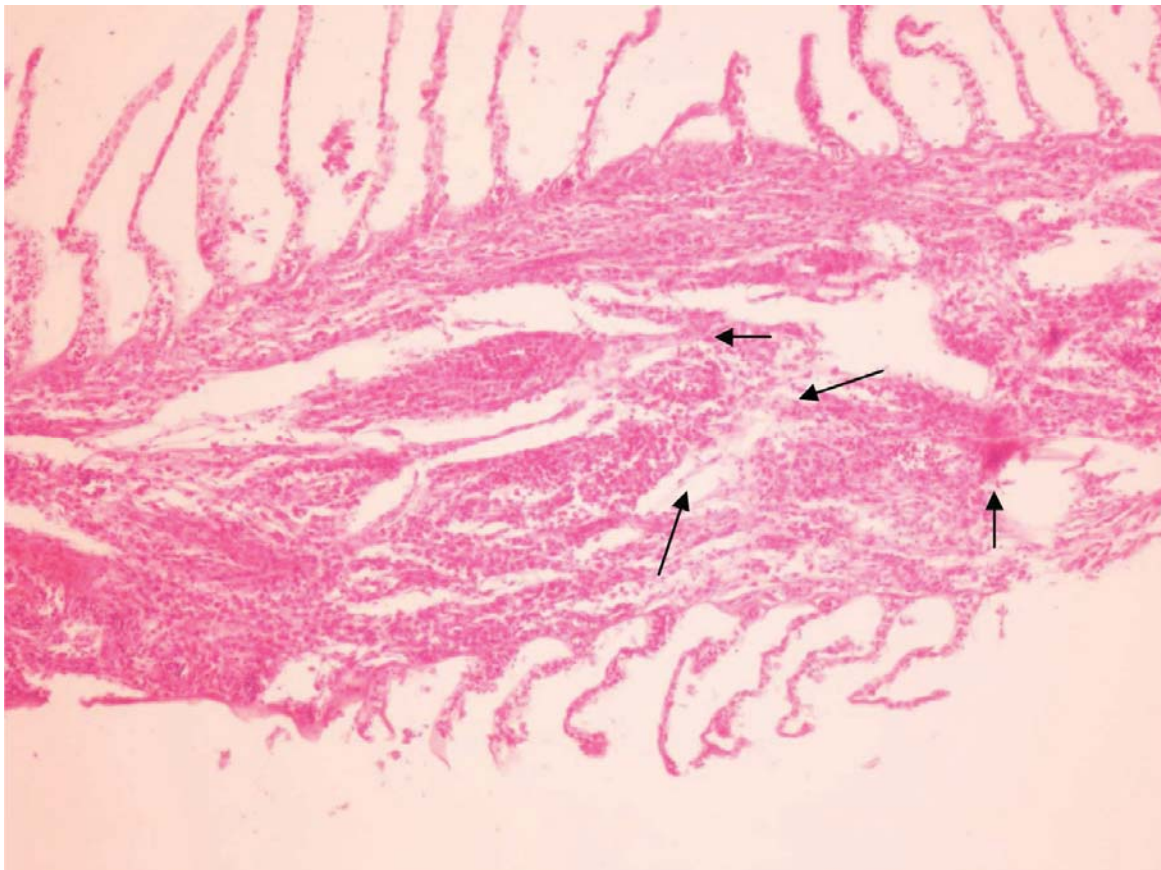
شکل ۲- مقطع عرضی انگل *G. epinepheli* که به دیواره‌ی غضروفی فیلامنت آبششی ماهی هامور متصل شده است (پیکان بزرگ) (A). در شکل (B)، انگل (P) و رحم کرم (U) و پیکان کوچک لایه‌ی موکوسی دیواره‌ی کیست را نشان داده است (رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین -۴۰x).



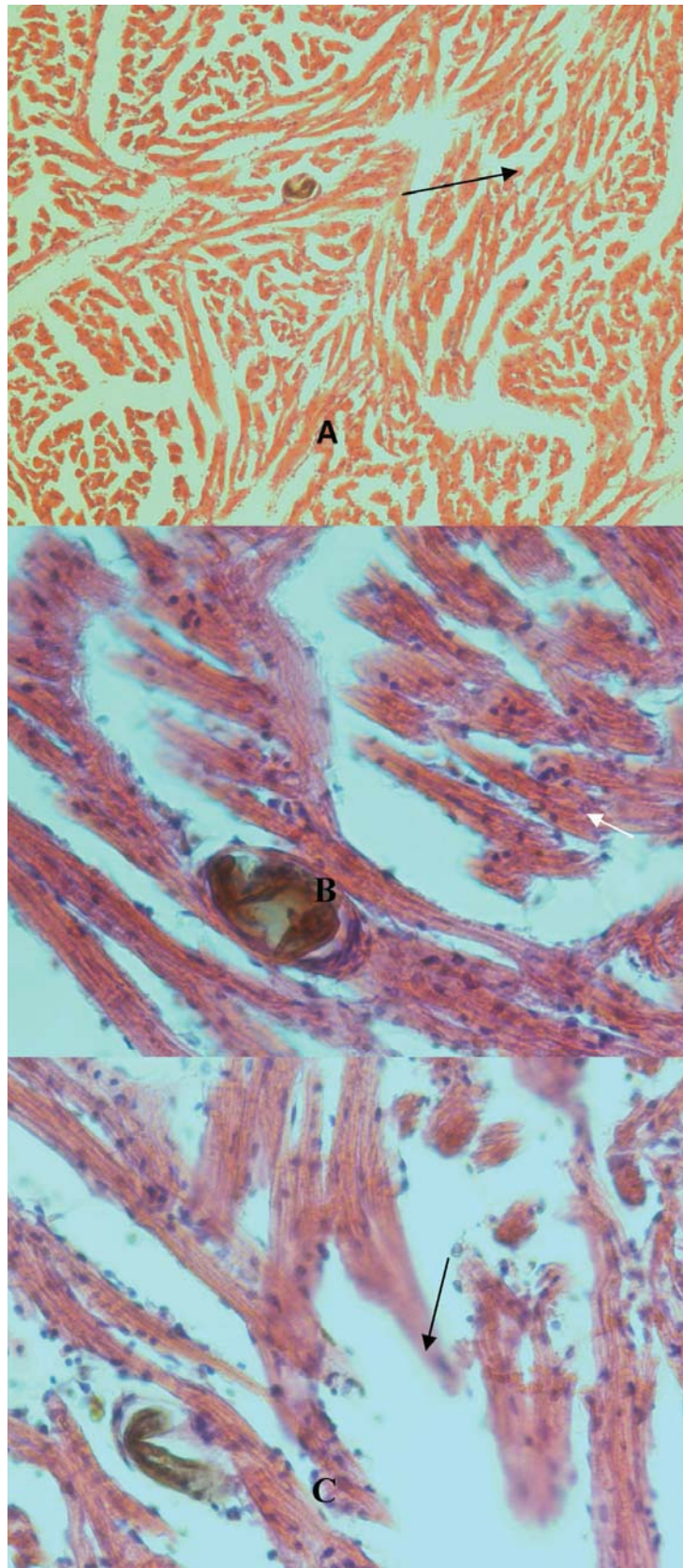
شکل ۳- وجود تخم‌های دریچه‌دار در درون رحم انگل *G. epinepheli* (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین x ۴۰)

عفونت انگلی دیده شود (Tudkaew, 2008). این انگل‌ها اغلب خودشان به صورت جزئی یا کلی از بین می‌روند. در برخی موردها نیز، بعضی از اندام‌های جانبی مثل کوتیکول و یا دیواره‌ی آن نیز در سایر اندام‌های ماهی یافت می‌شود (Cribb et al., 2002). در بافت قلب، گاهی تخم انگل (شکل ۶) و بقایای پوسته‌ی آن به وسیله‌ی سلول اندوکاردیوم فاگوسیت می‌شود (شکل ۵). در ناحیه‌ی ابتدایی سر و کلیه مقادیری از تخم‌ها و پوسته‌های انگلی دیده می‌شود که به وسیله‌ی ماکروفاژ بلعیده شده‌اند (Tudkaew, 2008).

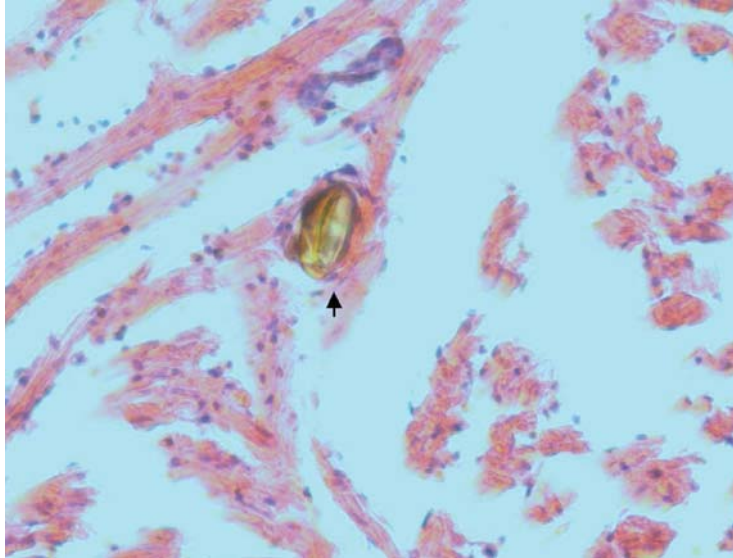
کیست‌های انگل در مراحل گوناگون در اندازه‌های گوناگون به صورت کیست‌های بسیار کوچک و نازک تا کیست‌های ضخیم و بزرگ‌تر روی لاملاهای کمان اولیه آبششی تشکیل می‌شود. در برخی از نواحی آلوده به انگل، انشعاب‌های ثانویه‌ی آبششی دچار هیپوپلازی شده‌اند (شکل ۴). گه گاه واکنش‌های بافتی، اعم از تزاید و تراکم مویرگ‌های کوچک در امتداد کیست‌ها همراه با نفوذ لنفوسیت‌ها در نواحی اطراف انگل مشاهده شد. در برخی موارد، افزایش تعداد گرانولوسیت‌های ائوزینوفیلیک در نواحی سر کلیه ماهی نیز می‌تواند در رابطه با این نوع



شکل ۴- وجود هیپوپلازی و کاهش در لاملاهای ثانویه‌ی آبششی آلوده (پیکان سیاه) و تجمع سلول‌های آماسی در موضع (پیکان سفید) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین ۴۰x)



شکل ۵- وجود کیست متاسرکر (B) و پوسته‌ی دیواره‌ی انگل (A,C) در بافت ماهیچه‌ای (میوکاردیوم) قلب (پیکان سیاه‌رنگ)



شکل ۶- وجود یک تخم انگل در درون بافت میوکاردیوم قلب ماهی هامور (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین $\times 40$)

بحث

لاکونا‌های کوچک خونی یا رگ‌های لنفاوی قرار دارند که در بافت قلب در داخل سلول‌های اندوکاردیوم مشاهده می‌شود (Tudkaew, 2008).

تخم‌های دژنره شده، گاهی به صورت خالی و یا بقایای متلاشی شده آن دیده می‌شود (Abdul-Salam and Sreelatha, 1992). در این گونه از بافت‌ها پاسخ‌ها ضعیف میزبانی و واکنش‌های لنفوسیتیک ملایمی در کلیه و قلب مشاهده می‌شود. تخم‌ها گاهی در سینوس‌های ناحیه‌ی سر کلیه، اما بیشتر در داخل ماکروفازها یافت می‌شوند (Abdul-Salam and Sreelatha, 1992). تاکنون گزارشی از جداسازی این انگل در ماهی هامور معمولی در ایران منتشر نشده است و این نخستین گزارش از وجود این نوع انگل دژنر در این ماهی می‌باشد. بر اساس دوره‌ی تکاملی بیشتر ترماتودهای دژنر، تخم‌ها را به داخل آب‌های پیرامونی، جهت ورود به بدن میزبان‌های واسط خود، وارد می‌نمایند که این مسئله با سوراخ شدن کیست‌ها به وسیله‌ی کرم‌های بالغ و یا نفوذ فعال تخم به داخل مویرگ‌های کوچک صورت می‌گیرد که گاهی این تخم‌ها، از راه تخم‌ریزی کرم‌های بالغ به داخل جریان گردش خون وارد می‌شوند و ممکن است به داخل سایر بافت‌ها پخش گردند و منجر به

روی هم‌رفته، ترماتودهای دی‌دی‌موزوئید (*Didymozoid*) در بسیاری از ماهیان پلاژیک نواحی گرمسیری رایج بوده و در ماهیان بسترزی مانند پلاتی سفالیدا (*platycephalids*) و سرانیده‌ها یافت می‌شوند (Eslami, 1996). این انگل‌ها، ترماتودهای دریایی هستند که معمولاً به صورت دوتایی در کپسول‌هایی روی بافت همبند، پوست، حفره‌ی دهانی، عضلات، معده، روده، کبد و سایر اندام‌های ماهی زندگی می‌کنند (Lester, 1980).

آلودگی شدید به ترماتود دژنر (*Gonapodasmius*) در بسیاری از گونه‌های خانواده هامور در نواحی آب‌شش، فضای زیر گونه‌ای و پوست گزارش شده است (Abdul-Salam and Sreelatha, 1992).

گزارش‌های کمی در مورد وجود این عفونت انگلی در پرورش هامور ماهیان دیده شده است. اصولاً تغییرات هیستوپاتولوژیک در ارتباط با انگل *Gonapodasmius epinepheli* است. در ماهیان هامور (*E. cioides*) که بیش‌تر در آب‌شش‌ها دیده می‌شود، افزون بر این‌که در مراحل ابتدایی، انگل تخم *Gonapodasmius epinepheli* را در رگ‌های لنفاوی قرار می‌دهد که البته در قلب نیز ممکن است دیده شود، در بافت‌های آب‌شش، تخم‌ها در

- Liu S. , Peng Gao W. P. , Fu M. , Wu H. , Lu M. and Gao J. 2010 . 5- Digenean parasites of Chinese marine fishes: a list of species, hosts and geographical distribution. *Syst Parasitol* 75:1–52.
- Eslami A., 1996. *Veterinary Helminthology*, Tehran University Publication, Second Edition, Vol 1, p: 357-360. (In Persian).
 - Khodadai M. and Emadi H. 2004. Aging of *Epinephelus coioides* by using of section of sagita in province waters (Persian Gulf, Khuzestan), *Pajouhesh and Sazandegi*, 62: 49- 55. (In Persian).
 - Lumanlan-Mayo, S. and Arthur, J.R., 1997. Checklist of the Parasites of Fishes of the Philippines. *FAO Technical Paper No. 369*. Rome, 102 pp.
 - Lester, R.J.G., 1980. Host–parasite relations in some didymozoid trematodes. *J. Parasitol.* 66, 527–531.
 - Sadeghi N, 2001. Biological and morphological characterization of south marine fishes of Iran, *Naghshemehr Publication*, p: 378. (In Persian).
 - Supamattaya, K. Fischer-Scherl, Th. Hoffmann, R. W. and Boonyaratpalin, S. 1990. Renal sphaerosporosis in cultured grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 8, 35-38.
 - Tudkaew, J., Penprapai N., Hoffmann R. and Supamattaya K. 2008, *Gonapodasmius epinepheli* observed in cage cultured orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*) in Southern Thailand: geographical distribution of parasite and host response. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30 (2), 147-151,
 - Zende budi A., 1994. Principle of farming and husbandry of groupers (Serranidae), *Iranian Fisheries Publication*, p: 5-28. (In Persian).
- تحریک واکنش ایمنی در بدن میزبان شوند (Abdul-Salam)
(and Sreelatha, 1992).
- دوره‌ی کامل زندگی آن‌ها هنوز کاملا شناسایی نشده است، اما بنظر می‌رسد که شکم پایان صدفی به‌عنوان نخستین میزبان واسط مطرح باشند (Lester, 1980).
- سخت‌پوستان کوچک نیز به‌عنوان میزبان‌های واسط ثانویه و ماهیان کوچک نیز به‌احتمال زیاد، به‌عنوان سومین میزبان مطرح هستند. عنوان شده است که ماهیان صید شده نیز به‌عنوان حاملان متاسرکر دیژن‌ها مطرح اند که این ماهی‌ها به وسیله‌ی هامور ماهیان که به‌عنوان میزبان قطعی و اصلی این انگل هستند، شکار می‌شوند (Cribb et al., 2002).

منابع

- Abbassi F., Oryan S. and Matinfar A. 2007. Reversal sex change in the protogynous fish *Epinephelus Coioides* in the Persian Gulf water. *Iranian Journal of Biology*, 20(1):121-127. (In Persian).
- Abdul-Salam, J. and Sreelatha, B.S., 1992. Observations on the tissue response of the grouper, *Epinephelus tauoina* to *Gonapodasmius epinepheli* (Trematoda): Didymozoidae. *Riv. Parasitol.* 9, 203–213.
- Abdul-Salam, J., Sreelatha, B. and Farah, M., 1990. *Gonapodasmius epinepheli* n. sp. (Didymozoidae). from the grouper *Epinephelus tauoina* from the Arabian Gulf. *Syst. Parasitol.* 17, 7–74.
- Cribb, T. H., Bray R. A., Wright T., and Pichelin, S. 2002. The trematodes of groupers (*Serranidae: Epinephelidae*): knowledge, nature and evolution. *Parasitology.* 124, 23-42.

Identification and Histopathological Study of Trematode Infestation, *Gonapodasmius Epinepheli* in Orange-Spotted Grouper, *Epinephelus Coioides* (Hamilton, 1822), in the Persian Gulf

M. Liyaghat^{*1}, M. Mirbakhsh¹, M. Nazari¹, A. Dashtian Nasab¹, E. Keshtkar¹, G. Gharibi¹

Abstract

Gonapodasmius epinepheli, a didymozoid trematode, was found in orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*), in south coast of Persian Gulf (Khark Island, Bushehr) in Iran. The parasite encysted on the primary lamellae of the gills. Histopathological sections revealed that larvae were primarily embedded underneath the gill epithelium and eggs of the parasite were distributed in some organs such as gill epithelium, heart and macrophage centers in the head kidney. Pathological changes and host response were shown mainly on gill lamellae, e.g. reduction and destruction of secondary lamellae. In this report, the life cycle of this parasite and its histopathogenesis are discussed.

Keywords: *Grouper, Didymozoid, Trematode, Epinephelus coioides, Gonapodasmius epinepheli.*

1. Department of fish & shrimp disease, Iranian shrimp research center, Bushehr, Iran.

*. E-mail: mliaghat6@gmail.com.