

بررسی و شناسایی آلودگی قارچی پوست ماهی سیچلاید اوراتوس (*Melanochromis auratus*) مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران

نیما حسین زاده^۱، حسین خارا^{۲*}، سیدمهدی حسینی فرد^۳

۱- گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۳۵۱۶

۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳- گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

*h.khara1974@yahoo.com

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۶

چکیده

سیچلاید اوراتوس (*Melanochromis auratus*) از پرطرفدارترین ماهیان زینتی می باشد. این گونه همانند سایر ماهیان در معرض انواع بیماری ها بوده و بیماری های قارچی از متداول ترین بیماری های این گونه هستند. این مطالعه با هدف بررسی و شناسایی قارچ های پوستی در مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران (ساری، آمل و بهشهر) انجام شد. از هر کارگاه تعداد ۱۵ عدد ماهی به صورت تصادفی نمونه گیری شد. نمونه های پوست در محیط سابرو دکستروز آگار (SDA)، گلوکز پیتون آگار (GPA) کشت داده و پس از تشکیل کلنی، گونه های قارچی شناسایی شدند. نتایج نشان دهنده آلودگی ۲۰ درصدی و وجود قارچ های *Saprolegnias* و *Acremonium* در کارگاه ساری، آلودگی ۲۶/۶ درصدی و وجود قارچ های *Penic*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* در کارگاه آمل و آلودگی ۳۳/۳ درصدی و وجود قارچ های *Aspergillus*، *Rhizopus*، *Cladosporium* و *illium* در کارگاه آمل و *Alternaria* و *Mucor*، *Fusarium*، *flavus* در کارگاه بهشهر بود. بین ماهیان آلوده در مناطق مختلف نیز اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در مجموع آلودگی نسبتاً بالایی در ماهیان کارگاه های مختلف وجود داشت.

کلمات کلیدی: *Melanochromis auratus*, Fungal Disease, Skin, Mazandaran

مقدمه

امروزه تجارت ماهیان زینتی یکی از بخش‌های پردرآمد شیلات محسوب می‌شود که رفته رفته به صورت یک زیربخش مستقل، حجم بالایی را در تجارت صنعت شیلات شامل می‌شود (ارجینی، ۱۳۸۴). در این بین سیچلاید ماهیان از گونه‌های بسیار مهم و پرطرفدار زینتی محسوب می‌شوند. این خانواده از ماهیان دارای گونه‌های بسیار مهمی می‌باشد و از ارزش اقتصادی ویژه‌ای برخوردار است (سادات‌اخوی، ۱۳۷۲). از معمول‌ترین بیماری‌های سیچلاید ماهیان تورم شکم (عامل اصلی آن انگل‌های پروتوزوا)، بیماری کیسه شنا (عمدتاً به دلیل استفاده از خوراک نامناسب)، بیماری پشمی شدن (عامل اصلی آن قارچ‌ها)، توبرکلوزیس (بیماری باکتریایی) و بیماری حفره در سر (عامل اصلی آن آلودگی آب و خوراک نامناسب) می‌باشد (Bertolini and Rohovec, 1992). قارچ‌ها جزء ارگانیزم‌های هتروتروف هستند که برای رشد و تکثیر نیاز به موجودات زنده و غیرزنده دارند. عفونت‌های قارچی بعد از بیماری‌های باکتریایی بیشترین ضرر اقتصادی را وارد کرده که معمولاً منجر به عفونت‌های مزمن می‌شوند (Woo and Bruno, 2011). علل زیادی سبب بروز قارچ در بین تخم‌های در حال انکوباسیون می‌شوند که از آن جمله می‌توان از نوسان‌های درجه حرارت، pH و کاهش اکسیژن آب نام برد (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۸). به علت پراکنش گسترده و امکان انتقال قارچ‌ها و اسپورهای آن‌ها از طریق آب و هوا موجودات آبی همواره در معرض این آلودگی‌های ثانویه قرار دارند که می‌توانند به محض ایجاد کوچک‌ترین خراش در محل زخم قرار گرفته، تکثیر نموده و آلودگی قارچی را ایجاد نمایند (مخیر، ۱۳۸۵). وقتی شرایط لازم برای استقرار قارچ مهیا گردید، اسپورهای قارچ در محل زخم مستقر شده و به درون پوست و بافت‌های مرده نفوذ می‌کنند که پس آن با هضم اندام‌های آلوده شده، بافت‌های زنده تخریب می‌شوند. با عمیق‌تر شدن تدریجی زخم‌ها تلفات آغاز می‌گردد. انگل‌های جلدی با ترشح آنزیم پروتئاز، پوست و لایه‌های محافظ خارجی را سوراخ و از خون، بافت‌های زیرین و آب میان‌بافتی تغذیه می‌نمایند. این عمل موجب به وجود آمدن زخم و شرایط لازم جهت استقرار اسپورهای قارچ می‌شود. بیماری‌های میکروبی نیز با از بین بردن قدرت دفاعی بدن و تضعیف آن بدن را در معرض آلودگی قارچی قرار می‌دهند. بنابراین، قبل از درمان آلودگی قارچی بایستی ابتدا آلودگی اصلی درمان گردد (شمس‌قهرخی و همکاران، ۱۳۸۴؛ مخیر، ۱۳۸۵). با توجه به این‌که هاگ‌های قارچ توسط پرندگان، موی حیوانات،

آب و ... می‌توانند منتقل گردند، بنابراین احتمال حضور قارچ در اکوسیستم‌های آب شیرین مانند مزارع پرورشی، آکواریوم و... چندان دور از انتظار نیست (مخیر، ۱۳۸۵؛ Noga, 1996؛ West, 2006). به همین دلیل قارچ‌ها جزء گسترده‌ترین عوامل بیماری‌زای ماهیان آب شیرین و تخم آن‌ها می‌باشند (نوروزی و همکاران، ۱۳۸۱). به‌طور عمومی بیماری‌های قارچی در ماهیان (از جمله ماهیان زینتی) به دو دسته غیرسیستمیک (پوست، باله و آبشش) و سیستمیک (خون و اندام‌های داخلی) تقسیم می‌گردند و در میان بیماری‌های قارچی نیز بیماری‌های قارچی غیرسیستمیک به‌ویژه پوستی دارای نمود و فراوانی بیشتری می‌باشند. پوست ماهی علاوه بر اینکه به عنوان سدی در مقابل عوامل پاتوژن و پارازیت عمل می‌کند، نفوذپذیری ویژه‌ای به مایعات و نمک‌ها داشته و به دلیل وجود موکوس سطحی، کاهش اصطحکاک بدن در مقابل آب و محافظت از جراحات و خراش‌ها را برای ماهی فراهم می‌کند، شکل بدن را حفظ می‌کند، هیدرودینامیک را بهبود می‌بخشد و جایگاهی برای اعمال حسی است که برای بقا ضروری هستند (Le Guellec et al., 2004). شناخت هیستولوژیک و مورفولوژیک ساختار پوست ماهی در مراحل مختلف رشد و نمو، احتمالاً در تشخیص و درمان بیماری‌های پوستی ماهی مفید خواهد بود، لذا از نظر اقتصادی برای پرورش‌دهندگان ماهی اهمیت زیادی دارد (شریف پور، ۱۳۸۳؛ بلوچ، ۱۳۸۴). در بیشتر ماهیان، پوست از سه لایه اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده و فاقد لایه خارجی کوتیکول که در مهره‌داران پیشرفته وجود دارد، می‌باشد (Arellano et al., 2004). خانواده ساپروولگنیاسه دارای بالاترین فراوانی در میان قارچ‌های بیماری‌زا بوده و این قارچ‌ها عامل ایجاد عفونت‌های مهمی هستند که در صنعت آبی‌پروری باعث بروز تلفات و ایجاد خسارات اقتصادی در ماهیان و تخم آن‌ها می‌شوند (Ramaiah, 2006). عفونت حاد ساپروولگنیازیس موجب بی‌حالی، از دست دادن تعادل و در نهایت مرگ ماهی می‌شود (West, 2006). قارچ ساپروولگنیا به تخم‌های مرده چسبیده و پس از رشد به داخل دیواره تخم نفوذ کرده و از تخم مرده به تخم‌های زنده منتقل می‌شود و از مهم‌ترین عوامل زیان‌آور به اقتصاد آبی‌پروران در کشورهای مختلف تلقی می‌شود (Robarts, 2011). بسیاری از گونه‌های ساپروولگنیا به عنوان مهاجمان ثانویه فرصت‌طلب به دنبال عفونت ناشی از یک عامل اولیه، ماهیان و تخم‌های لقاح یافته را مورد حمله قرار می‌دهد (Shahbazian et al., 2010). هر گونه تغییر در شرایط فیزیولوژیکی ماهی که معمولاً به دنبال

شرایط استرس‌زای حاکم از جمله جمعیت زیاد ماهی در استخر، حمل و نقل و دستکاری‌ها صورت می‌گیرد زمینه ساز حمله عوامل عفونی از جمله قارچ ساپروولگنیا می‌باشد (Woo and Bruno, 2011). از سایر قارچ‌های بیماری‌زا نیز می‌توان به *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus*، *Penicillium*، *Fusarium*، *Acremonium*، *Cladosporium*، *Alternaria* و *Rhizopus* اشاره کرد (شادزی، ۱۳۸۷).

تاکنون مطالعاتی در زمینه بیماری‌های قارچی ماهیان انجام شده است که می‌توان به مطالعه روی ساپروولگنیا پارازیتیکا و آفانومایسس در تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (قیاسی و همکاران، ۱۳۸۳)، ساپروولگنیا پارازیتیکا و فوزاریوم سولانی در تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (شریف‌روحانی، ۱۳۸۴)، جداسازی و شناسایی قارچ‌های ساپروفیت از آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مزارع تکثیر استان مازندران (ابراهیم‌زاده‌موسوی و همکاران، ۱۳۸۶)، بررسی قارچ‌های سطحی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر (فیروزبخش و همکاران، ۱۳۸۸) و بیماری ساپروولگنیا در ۱۰ مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی در ایتالیا (Bertolini and Rohovec, 1992) اشاره کرد.

این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌ها و جنس‌های مختلف آن‌ها از پوست سیچلاید اوراتوس (*Melanochromis auratus*) در جهت پیشگیری بیماری در این ماهیان در مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از مهر ماه تا آذر ماه ۱۳۹۱ در سه کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در شهرهای آمل، ساری و بهشهر استان مازندران انجام شد. نمونه‌برداری از هر کارگاه در سه مرحله و در هر مرحله از ۵ ماهی صورت پذیرفت. فواصل نمونه‌برداری به صورت یک بار در ماه بود که در مجموع از هر مزرعه ۱۵ عدد و در کل ۴۵ عدد ماهی به صورت تصادفی و توسط سواپ برداشته شد. میانگین درجه حرارت آب در ماه‌های نمونه‌گیری در این استخر ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۷ ppm و pH ۷/۶-۷/۵ بود. خوراک مورد استفاده در این مزرعه غذای کنستانتره بیومار (ساخت فرانسه) بود. پس از جمع‌آوری نمونه توسط سواپ، نمونه‌ها به لوله‌های درپیش‌داری که حاوی آب مقطر استریل بودند منتقل شدند. به منظور

افزایش شانس جداسازی قارچ، تعداد ۱۰ عدد شاهدانه به آب مقطر استریل اضافه شد. قبل از وارد کردن نمونه‌ها به درون لوله‌های درپیش‌دار، لوله‌ها به همراه دانه‌ها در اتوکلاو و در شرایط استاندارد استریل شده و سپس آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه گشت. بعد از نمونه‌برداری لوله‌ها به آزمایشگاه منتقل شده و سپس مراحل زیر طی شد. ابتدا نمونه‌ها از آب مقطر و دانه‌ها خارج گردیده و سپس پلیت حاوی دانه‌ها و آب مقطر زیر نور طبیعی و در دمای اتاق ۲۴-۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و روزانه بررسی شدند. بعد از رشد کلنی در اطراف دانه‌ها، کلنی ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفت. قسمتی از هایف هر کلنی از دانه جدا شده و به پتری‌دیش دیگری محتوی همان دانه به همراه آب مقطر استریل اضافه گشت و در همان شرایط نگهداری شد. بعد از رشد کلنی در اطراف دانه‌ها، کلنی مورد آزمایش و بررسی میکروبی قرار گرفت. سپس از نمونه‌های قارچ زده ابتدا یک گسترش تهیه شد و مطالعه اولیه روی آن انجام گرفت. سپس نمونه‌ها چند بار با آب مقطر استریل شسته شد و قسمتی از کلنی قارچ در محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) و محیط کشت اختصاصی گلوکز پپتون آگار (GPA) منتقل گردید. در دو محیط کشت فوق از دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G و استریتومایسین به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر (جهت جلوگیری از رشد باکتری‌ها روی محیط کشت) استفاده شد. محیط کشت از نظر رشد قارچ روزانه مورد بررسی قرار گرفته و بعد از رشد قارچ مطالعه مقدماتی روی آن‌ها انجام شد. برای تحریک قارچ به منظور تولید اندام جنسی، قسمت انتهایی هر کلنی به همراه قسمتی از محیط کشت به ابعاد تقریبی ۵ میلی‌متر مربع بریده شده و در شرایط آسیتیک به پلیت حاوی آب مقطر استریل به همراه یکی از دانه‌های شاهدانه منتقل گردید. محیط آب مقطر استریل و دانه‌ها در درجه حرارت اتاق (دمای ۲۴-۱۸ درجه سانتی‌گراد) و زیر نور طبیعی قرار گرفتند. روزانه محیط کشت از نظر رشد قارچ بررسی شده و در تمام مراحل فوق شرایط استریل رعایت گشته و نقل و انتقال قارچ از یک محیط به محیط دیگر در بین دو شعله انجام گرفت (حسینی فرد، ۱۳۸۵). کلنی‌های به‌دست آمده از قارچ‌ها به کمک رنگ لاکتوفنل کاتن بلو روی لام رنگ‌آمیزی و در زیر میکروسکوپ بررسی شدند (شادزی، ۱۳۸۷). میزان آلودگی ماهیان به بیماری‌های قارچی نیز از نسبت ماهیان آلوده به ماهیان سالم به‌دست آمد که پس از ضرب در عدد ۱۰۰ به صورت درصد بیان شد.

۱۰۰ × ماهیان سالم / ماهیان آلوده به بیماری‌های قارچی
میزان آلودگی ماهیان به بیماری‌های قارچی =
طرح کلی این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی بود.
تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 18 صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمالیتت داده‌ها توسط تست نرمالیتت Kolmogorov-smirnov تعیین شد. برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون‌های دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی و شناسایی آلودگی قارچی پوست ماهیان سیچلاید اوراتوس (*Melanochromis auratus*) در مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران نشان داد که بیماری‌های قارچی و ماهیان آلوده به قارچ‌ها در هر سه کارگاه ساری، آمل و بهشهر وجود دارد. در کارگاه ساری از ۱۵ عدد ماهی، تعداد ۳ عدد از آن‌ها به بیماری‌های قارچی آلوده بودند که به معنای درگیر بودن ۲۰ درصد از سیچلاید ماهیان

وراتوس می‌باشد. در کارگاه آمل نیز از تعداد ۱۵ عدد ماهی، تعداد ۴ عدد ماهی به عوامل بیماری‌زای قارچی آلوده بودند که نشان‌دهنده درصد آلودگی ۲۶/۶ درصد بود. درصد آلودگی در میان سیچلاید ماهیان اوراتوس کارگاه بهشهر ۳۳/۳ درصد بود که در این کارگاه از تعداد ۱۵ عدد ماهی نمونه‌برداری شده، تعداد ۵ عدد به بیماری‌های قارچی آلوده بوده و عوامل بیماری‌زای قارچی از آن‌ها جداسازی شد. مقایسه آماری میان درصد آلودگی به بیماری‌های قارچی در سه کارگاه نشان داد که میزان آلودگی سیچلاید ماهیان اوراتوس در بهشهر به صورت معنی‌داری از کارگاه‌های ساری و آمل بیشتر است ($p < 0.05$). همچنین، درصد آلودگی در بین ماهیان کارگاه آمل نیز به‌طور معنی‌داری بالاتر از کارگاه ساری بود ($p < 0.05$). بنابراین، می‌توان بیان داشت که با توجه به نتایج به‌دست آمده، کارگاه ساری دارای کمترین آلودگی قارچی بوده و کارگاه بهشهر بالاترین میزان آلودگی را داشت. اطلاعات مربوط به تعداد و درصد سیچلاید ماهیان اوراتوس آلوده به قارچ در هر سه کارگاه در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱: تعداد و درصد سیچلاید ماهیان اوراتوس آلوده به قارچ

محل نمونه برداری	تعداد نمونه	تعداد ماهیان آلوده	درصد آلودگی
ساری	۱۵	۳	۲۰ ^a
آمل	۱۵	۴	۲۶/۶ ^b
بهشهر	۱۵	۵	۳۳/۳ ^c
جمع	۴۵	۱۲	۲۶/۶

شناسایی گونه‌های قارچی جدا شده از سیچلاید ماهیان نشان داد که قارچ‌های *Saprolegnia*، *Aspergillus flavus* و *Acremonium* در سیچلاید ماهیان کارگاه ساری وجود داشتند. همچنین قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Penicillium*، *Rhizopus* و *Cladosporium* در سیچلاید ماهیان کارگاه آمل و قارچ‌های *Saprolegnia*، *Aspergillus*

شناسایی گونه‌های قارچی جدا شده از سیچلاید ماهیان نشان داد که قارچ‌های *Saprolegnia*، *Aspergillus flavus* و *Acremonium* در سیچلاید ماهیان کارگاه ساری وجود داشتند. همچنین قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Penicillium*، *Rhizopus* و *Cladosporium* در سیچلاید ماهیان کارگاه آمل و قارچ‌های *Saprolegnia*، *Aspergillus*

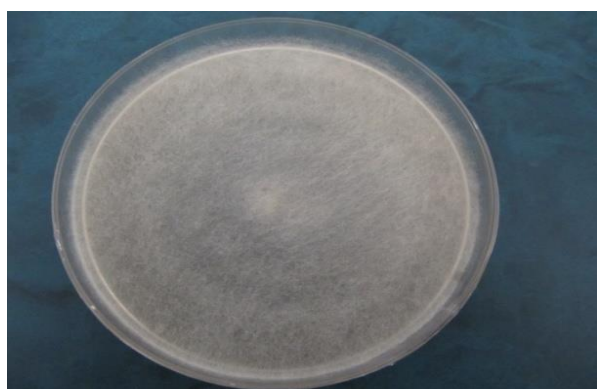
جدول ۲: گونه‌های قارچی جدا شده از سیچلاید ماهیان

نوع قارچ	فراوانی		
	ساری	آمل	بهشهر
<i>Saprolegnia</i>	۱	۰	۱
<i>Aspergillus niger</i>	۰	۱	۰
<i>Aspergillus flavus</i>	۱	۰	۱
<i>Penicillium</i>	۰	۱	۰

نوع قارچ	فراوانی		
	ساری	آمل	بهشهر
<i>Acremonium</i>	۱	۰	۰
<i>Fusarium</i>	۰	۰	۱
<i>Mucor</i>	۰	۰	۱
<i>Rhizopus</i>	۰	۱	۰
<i>Alternaria</i>	۰	۰	۱
<i>Cladosporium</i>	۰	۱	۰
جمع	۳	۴	۵

بررسی میکروسکوپی قارچ‌های ساپروولگنیا در محیط کشت گلوکز پیتون آگار نشان داد که کلنی‌ها پس از رشد کامل قوام پرزی کوتاه داشته و میسلیم‌های قارچی به آسانی با آنس قابل برداشت نبودند. رنگ کلنی در سطح و پشت سفید مرمری و حالتی شفاف داشت. کلنی‌های قارچ بعد از حدود یک هفته پنبه‌ای و سفید شدند. پس از تهیه تیزمان با

لاکتوفنل کاتن بلو، هایف‌های پهن و منشعب بدون دیواره عرضی مشاهده شد که دارای سیتوپلاسم متراکم و در مواردی توخالی بودند. در انتهای هایف‌های پهن اسپرانژیوم‌های بیضی و کشیده در اندازه‌های مختلف مشاهده گردید که با دیواره‌ای از بقیه امتداد هایف جدا می‌گردید (شکل ۱).



ب

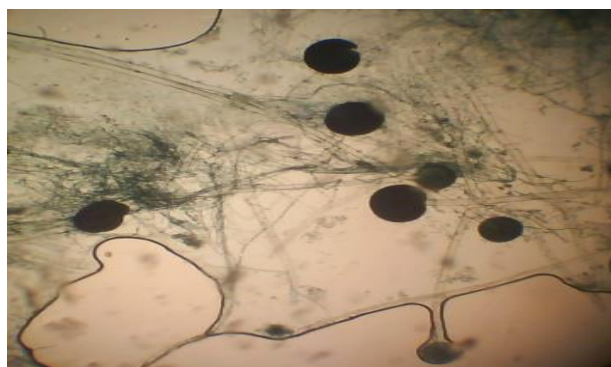


الف

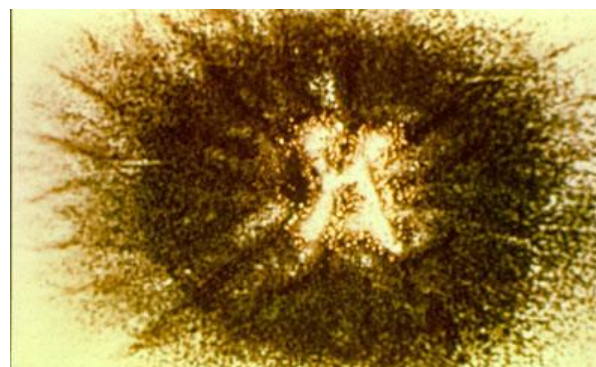
شکل ۱: الف. هایف و زئوسپورانژیوم ساپروولگنیا $400\times$ ، ب. کلنی ساپروولگنیا در محیط گلوکز پیتون آگار $400\times$

فیالاید همراه با زنجیره‌ای از کونیدی سیاه، با دیواره خشن پوشانده شده بود ختم می‌شدند (شکل ۲).

بررسی میکروسکوپی قارچ *Aspergillus niger* نشان داد که میسلیم‌های زایشی یا کونیدیفورها بلند، قهوه‌ای تیره یا سیاه رنگ بودند که به وزیکول بزرگ کروی که دور تا دور آن



ب

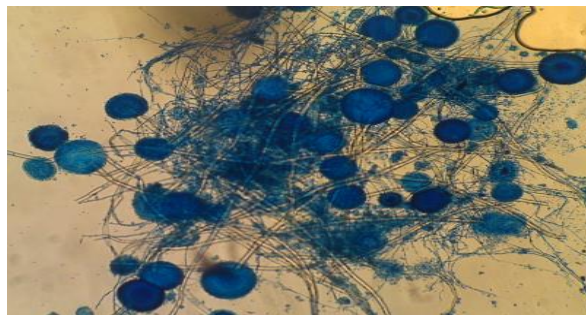


الف

شکل ۲: الف. کلنی *Aspergillus niger* $400\times$ ، ب. مشخصات میکروسکوپی *Aspergillus niger* $400\times$

قارچ *Aspergillus flavus* رشد نسبتاً کندی داشت و کرکی بود. دارای کونیدیفور بلند، بی‌رنگ با دیواره ضخیم و خاردار بود که پس از کشت به صورت وزیکول بزرگ کروی که دور تا

دور آن را فیالاید احاطه کرده بود مشاهده می‌شد که این فیالاید همراه با زنجیره ای از کونیدی بیضی یا کروی خاردار مایل به سبز بود (شکل ۳).



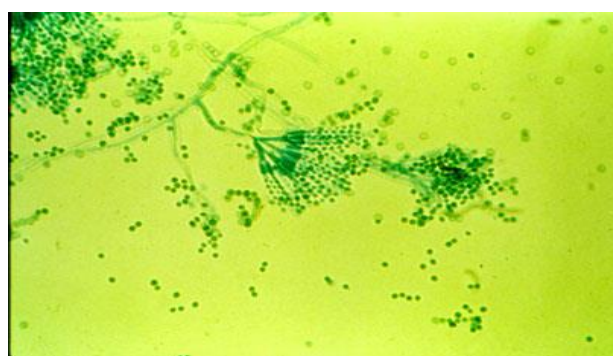
شکل ۳: مشخصات میکروسکوپی *Aspergillus flavus* × ۴۰۰

قارچ *Penicillium* رشد سریع داشت و به صورت پودری، صاف و سبز مایل به آبی که تدریجاً به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای تبدیل گردید. رنگ پشت کلنی نیز بی‌رنگ بود. کونیدیوفورهای آن منشعب یا غیرمنشعب بودند. فیالاید آن

نیز بطری شکل بود و روی متولا قرار داشت و حالتی شبیه به جارو داشت. کونیدی‌های آن نیز بی‌رنگ یا سبز بودند (شکل ۴).



ب

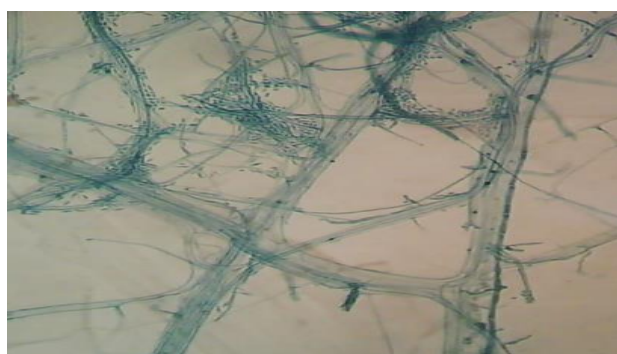


الف

شکل ۴: الف. مشخصات میکروسکوپی *Penicillium* × ۴۰۰، ب. کلنی‌های *Aspergillus flavus* و *Penicillium* × ۴۰۰

قارچ *Acremonium* رشد نسبتاً سریع داشت و کلنی آن ابتدا صاف و مخملی بود و سپس پنبه‌ای شد. رنگ آن سفید، کرم مایل به زرد و یا قرمز و پشت کلنی بی‌رنگ بود. دارای

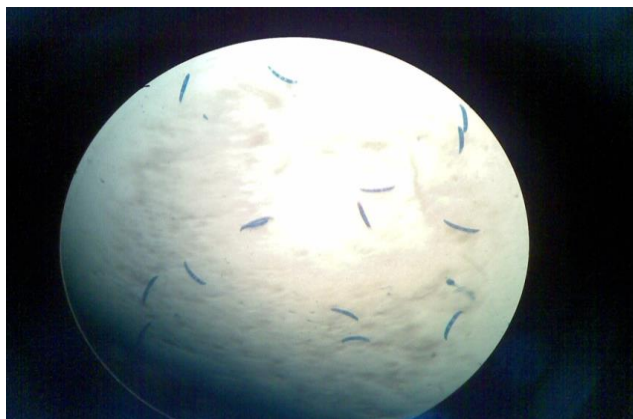
میسلیوم‌های نازک بودند، کونیدیفورهای آن‌ها نیز ساده بوده و انتهای آن‌ها کونیدی‌های توده‌ای و بیضوی کوچک قرار داشتند (شکل ۵).



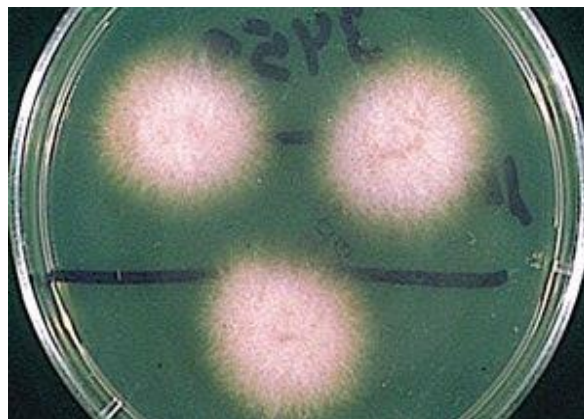
شکل ۵: مشخصات میکروسکوپی *Acremonium* × ۴۰۰

کلامیدوکونیدی میانی و انتهایی آن‌ها نیز قابل مشاهده بود (شکل ۶).

قارچ *Fusarium* دارای رشد سریع و رنگ سفید پنبه‌ای بود و به تدریج صورتی یا ارغوانی می‌شدند و دارای ماکروکونیدی خمیده و داسی شکل واجد ۲ تا ۱۱ دیواره عرضی بودند.



ب



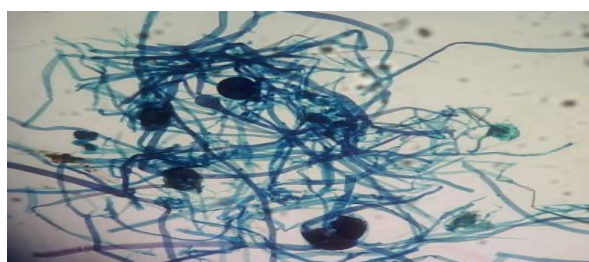
الف

شکل ۶: الف. کلنی *Fusarium* × ۴۰۰، ب. مشخصات میکروسکوپی *Fusarium* × ۴۰۰



شکل ۸: مشخصات میکروسکوپی *Cladosporium* × ۴۰۰

قارچ *Mucor* رشد سریع داشته و به سرعت پلیت را پر می‌کرد. کلنی خاکستری رنگ و پشمنی و پشت آن نیز بی‌رنگ و دارای میسلیم‌های هوایی فراوان بود. دارای میسلیم‌های رویشی عریض و عموماً بدون دیواره عرضی بودند. اسپورانژیوفورهای منشعب آن‌ها به اعضای برجسته‌ای به نام کلوملا ختم می‌شدند. اسپورانژیوم محتوی تعداد زیادی آندوسپور بود. کلوملا نیز در داخل اسپورانژیوم قرار داشته که با بالغ شدن اسپورانژیوم دیواره آن شکسته شده و اسپورها آزاد شدند و کلوملا نیز آشکار شد (شکل ۹).



شکل ۹: مشخصات میکروسکوپی *Mucor* × ۴۰۰

قارچ *Alternaria* دارای رشد سریع و به رنگ خاکستری، قهوه‌ای، سبز مایل به سیاه و کرکی که رنگ پشت کلنی نیز قهوه‌ای مایل به سیاه بود. ماکروکونیدی توتی شکل با دیواره صاف زنجیره‌ای و واجد دیواره عرضی و طولی و کونیدی آن‌ها در یک انتها پهن و در انتهای دیگر باریک، کشیده و نوک تیز بود (شکل ۷).



شکل ۷: مشخصات میکروسکوپی *Alternaria* × ۴۰۰

قارچ *Cladosporium* رشد نسبتاً سریعی و حالت مخملی تا پشمنی داشته و به رنگ سبز خاکستری تا سیاه بودند. پشت کلنی نیز سیاه بود. کونیدیفور تیره و دارای دیواره عرضی که در انتها منشعب می‌شد. کونیدی آن‌ها نیز ۱ تا ۴ سلولی و قهوه‌ای رنگ بود و زنجیره‌های با انشعابات فرعی و در محل اتصال نشانه یا اسکار وجود داشت (شکل ۸).

داشته و قارچ‌های مختلفی از این مزارع خالص‌سازی گشتند که شاید دلیل بروز این حالت نگهداری ماهیان پرورشی در محیطی محدود و با ترکم بالا باشد که منجر به افزایش رشد قارچ‌ها شده است. در مطالعه‌ای مشابه عامل بیماری ساپروولگنیا از ۱۰ مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی که بیش از ۵۰ درصد از تولید آن‌ها به سیچلاید ماهیان اختصاص داشت جداسازی شد. می‌توان گفت که بیماری‌های قارچی در سیچلاید ماهیان از مهم‌ترین و متداول‌ترین بیماری‌ها هستند (Bertolini and Rohovec, 1992). در مطالعه حاضر آلودگی ۲۰، ۲۶/۶ و ۳۳/۳ درصدی به ترتیب در کارگاه‌های مورد بررسی در شهرهای ساری، آمل و بهشهر ثبت گردید. به‌طور طبیعی، در پرورش ماهی به شیوه نیمه متراکم در محیط بسته و آب‌های داخلی به دلیل تراکم بالا، تغییرات فیزیکیوشیمیایی آب، تحمل محیط اسارت، تغذیه اجباری از غذاهای دستی و عدم بهره‌برداری از منابع آبی کاملاً مناسب، ماهیان پرورشی در معرض ابتلا به انواع و اقسام بیماری‌ها هستند و از آنجا که اسپوره‌های قارچ‌ها در تمام آب‌های شیرین و لب‌شور به‌طور طبیعی وجود دارند، با حصول شرایط مناسب به عنوان عامل بیماری‌زای ثانویه عمل کرده و ماهیان را آلوده می‌نمایند. از طرفی، ساپروولگنیا دارای دامنه وسیع تحمل دمایی از ۳ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که در مطالعه حاضر میانگین درجه حرارت ۲۶ درجه سانتی‌گراد بود که این دما برای زیست ساپروولگنیا و بسیاری از قارچ‌های دیگر ایده‌آل است. بنابراین، شرایط متراکم پرورشی، حضور اسپوره‌های قارچ‌ها به‌صورت طبیعی در آب و نیز شرایط دمایی مزارع مورد بررسی در این تحقیق می‌تواند از عوامل عمده مشاهده نسبتاً بالای ماهیان آلوده به بیماری‌های قارچی در شهرهای آمل، ساری و بهشهر باشد. فراوانی نسبی قارچ‌های شناسایی شده در مزارع مختلف نیز نشان داد که مزرعه بهشهر با جداسازی ۵ نوع قارچ و مزرعه ساری با ۳ نوع قارچ جداسازی شده به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فراوانی نسبی به لحاظ تنوع قارچی و درصد آلودگی را داشتند. این نتایج حاکی از وجود تنوع گونه‌ای میان قارچ‌های خالص‌سازی شده از سیچلاید ماهیان اوراتوس مزارع نمونه‌برداری شده می‌باشد. به‌طور کلی، اختلافات اکولوژیکی در مکان‌های مختلف جغرافیایی مختلف نقش مهمی را در توسعه گونه‌های متنوع قارچی روی ماهی ایفا می‌کند. همچنین، تاثیر عوامل و شرایط متغیر محیطی و مدیریتی مزارع مختلف بر رشد، تولیدمثل و شدت آلودگی قارچ‌ها امری انکارناپذیر است (West, 2006). در مطالعه حاضر، قارچ‌های *Saprolegnia* و *Aspergillus flavus*

قارچ *Rhizopus* رشد سریع داشته و رنگ آن خاکستری و پشت آن بی‌رنگ بود. همانند موکور واجد میسلیم‌های فراوان بودند و به سرعت محیط کشت را پر می‌کردند. اسپورانژیوم آن‌ها کروی شکل و مملو از آندوسپور بود. اسپورانژیوفورهای آن‌ها غیرمنشعب بوده و در نقطه مقابل ریزوئید واقع شده بود. کلوملا آن‌ها بیضی شکل بود (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: مشخصات میکروسکوپی قارچ *Rhizopus* × ۴۰۰

بحث

این بررسی با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌ها و جنس‌های مختلف آن‌ها از پوست سیچلاید اوراتوس (*Melanochromis auratus*) در مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران انجام گردید.

بیماری‌های عفونی و قارچی از جمله مشکلات صنعت آبی‌پروری است که با افزایش پرورش متراکم آبزیان باعث بروز خسارات فراوان به تولیدکننده‌ها می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi, 2006). قارچ‌های آبی از جمله عوامل آسیب‌رسان به صنعت تکثیر و پرورش آبزیان به شمار رفته و باعث مرگ و میر وسیعی در آبزیان می‌شود (Forneris et al., 2003). از جمله بیماری‌های قارچی می‌توان به بیماری‌های ساپروولگنیازیس، برانشیومی‌کوزیس، ایکتیواسپوری‌دیوزیس اشاره کرد که عمده‌ترین و شناخته شده‌ترین آن‌ها بیماری ساپروولگنیازیس است. پوست ماهی اندامی در جهت مقابله با پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها می‌باشد (Le Guellec et al., 2004). در ماهیان، کوتیکول وجود ندارد که این نقصان به‌وسیله ترشح موکوس از سلول‌های بافت پوششی جبران می‌شود (Campinho et al., 2007). تفاوت پوست ماهی از پوست سایر مهره‌داران به‌طور برجسته در سطح آن می‌باشد، جایی که سلول‌های اپیدرمی زنده در تماس با محیط آب و فاقد ترشح کوتیکول، اما حاوی موکوس هستند (Zaccone, 2001; Zuchelkowski et al., 2005).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که بیماری‌های قارچی در سه کارگاه تکثیر و پرورش سیچلاید ماهیان وجود

این مطالعه همواره در محیط‌های آبی و اندام‌های سطحی آبزیان یافت می‌شوند و از شدت بیماری‌زایی کمتری برخوردار هستند.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که از نظر وجود آلودگی قارچی در سیچلاید ماهیان اوراتوس کارگاه‌های مورد مطالعه (ساری، آمل و بهشهر)، کارگاه بهشهر و ساری به ترتیب دارای بیشترین و کمترین نرخ آلودگی و نیز تنوع قارچی بودند. در میان قارچ‌های شناسایی شده نیز *Saprolegnia* و *Aspergillus flavus* بیشترین فراوانی نسبی را داشتند. بنابراین، می‌توان عنوان کرد که بیماری‌های قارچی در مزارع مطالعه شده در این پژوهش به میزان نسبتاً بالایی وجود داشتند و چندین گونه از قارچ‌های بیماری‌زا نیز در آن‌ها شناسایی گشت، که این امر موید الزام اعمال مدیریت مناسب‌تر در این مزارع می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه تمامی دوستانی که در به ثمر نشستن این تحقیق تلاش نموده‌اند ابراز می‌دارند.

منابع

- ابراهیم‌زاده‌موسوی، ح.ع.، حسینی‌فرد، س.م.، خسروی، ع.ر.، سلطانی، م. و یوسفیان، م.، ۱۳۸۶. جداسازی و شناسایی قارچ‌های ساپروفیت از آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مزارع تکثیر استان مازندران. مجله تحقیقات دامپزشکی، شماره ۳، صص ۱۶۸-۱۶۳.
- آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم، ۴۰۶ ص.
- ارجینی، م.، ۱۳۸۴. راهنمای کامل آکواریوم ماهیان آب شیرین. نشر نگار نور. ۱۵۶ ص.
- بلوچ، ا.، ۱۳۸۴. بررسی آسیب‌شناسی اثرات التیامی سولفات روی به روش حمام در ضایعه جلدی ماهی کپور. پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد. ۷۰ ص.
- حسینی‌فرد، م.، ۱۳۸۵. جداسازی و شناسایی گونه‌های ساپروولگنیا از تخم‌های آلوده به قارچ قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع استان مازندران. پایان‌نامه دکترای تخصصی

دارای فراوانی بیشتری نسبت به سایر قارچ‌های خالص‌سازی شده بودند. قارچ‌های متعلق به خانواده *Saprolegnia* بیشترین عفونت قارچی را در ماهیان آب شیرین ایجاد می‌کنند (Willoughby, 1994) که نتیجه این پژوهش از نظر فراوانی نسبی این قارچ نیز موید این موضوع می‌باشد. با توجه به این‌که در این مطالعه و بسیاری از مطالعات دیگر عمده قارچ جدا شده از مزارع مختلف جمعیتی از *Saprolegnia* را نشان می‌دهد، می‌توان گفت که خانواده ساپروولگنیا سه‌آ قارچ‌های اولیه‌ای هستند که در عارضه قارچ‌زدگی ماهیان حضور دارند. ساپروولگنیاسیس از مشکلات عمده دوره انکوباسیون تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به حساب می‌آید و تاکنون مؤثرترین روش برای درمان این بیماری را مدیریت صحیح بهداشتی و استفاده از مواد شیمیایی دانسته‌اند (Akhlaghi and Bahaodini, 2012). علاوه بر *Saprolegnia* از بین قارچ‌های جدا شده از سیچلاید ماهیان اوراتوس در مزارع شهرستان‌های آمل، ساری و بهشهر گونه‌های دیگری نیز وجود داشتند که به عنوان عوامل بیماری‌زای احتمالی در آبزیان گزارش شده‌اند. قارچ *Fusarium* یکی از قارچ‌های با اهمیت در آبزیان می‌باشد که می‌تواند بیماری‌های مهمی را ایجاد نمایند (Alderman, 1982). علاوه بر تاثیر مستقیم *Fusarium* و ایجاد عفونت‌های جلدی، احشایی و چشمی در آبزیان، نقش توکسین‌زایی آن‌ها نیز کاملاً شناخته شده است. در ایران نیز گونه‌های مختلف *Fusarium* از ماهیان گوناگون جداسازی شده است (Firouzabakhsh et al., 2005). در این پژوهش نیز قارچ *Fusarium* از پوست سیچلاید ماهیان اوراتوس مزارع مورد بررسی شهر آمل جداسازی شد. قارچ *Aspergillus* از دیگر قارچ‌های با اهمیت در آبزیان می‌باشد که به عنوان عوامل مهم بیماری‌زا به‌ویژه در مناطق حاره مطرح هستند. *Aspergillus flavus* از قارچ‌های مهم توکسین‌زا است که می‌تواند تحت شرایط حرارت و رطوبت مناسب سم آفلاتوکسین تولید نماید (Alderman, 1982). در مطالعه حاضر، این قارچ از مزارع ساری و بهشهر جداسازی شده و به همراه *Saprolegnia* دارای بیشترین فراوانی در بین قارچ‌ها بود. همچنین قارچ *Aspergillus niger* نیز تنها از کارگاه آمل جداسازی شد. قارچ *Cladosporium* به عنوان یکی از قارچ‌های آلوده‌کننده کیسه شنا می‌باشد. در مطالعه حاضر، این قارچ در مزرعه آمل جداسازی شد. همچنین، وجود این قارچ در دلقک‌ماهی نیز گزارش شده است (Silphaduang et al., 2000). سایر قارچ‌های جدا شده در

- trout. Veterinary Journal (Research and Development), 94, 18-24 (In Persian).
- Alderman, D.J., 1982.** Fungal disease of aquatic animal. In: microbial disease of fish. (Ed. by Robert, R.J.), pp: 189-242, Academic press, London. UK.
- Arellano, J.M., Storch, V. and Sarasquet, C., 2004.** Ultrastructural and histochemical study on gills and skin of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. Journal of Applied Ichthyology, 6, 452-460.
- Bertolini, J.M. and Rohovec, J.S., 1992.** Electrophoretic detection of proteases from different *Saprolegniaceae* strains and assessment of their variability. Diseases of Aquatic Organisms, 12(2), 121-128.
- Campinho, M.A., Silva, N., Sweeney, G.E. and Power, D.M., 2007.** Molecular, cellular and histological changes in skin from a larval to an adult phenotype during bony fish metamorphosis. Cell and Tissue Research, 327, 267-284.
- Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., 2006.** Evaluation of eucalyptus essential oil in controlling fungal contamination of eggs of rainbow trout. Journal of Plant Research, 20, 42-47 (In Persian).
- Firouzbakhsh, F., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A. and Khosravi, A.R., 2005.** Isolation and identification of pathogenic and saprophytic fungi from gill lesions in cultivated cyprinids. Journal of Veterinary Faculty, University of Tehran, 60, 15-19.
- Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G.B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L. and Zoccarato, I., 2003.** The use of ozone in trout hatchery to reduce Saprolegniasis incidence. Aquaculture, 221(1), 157-166.
- Le Guellec, D., Morvan-Dubois, G. and Sire, J.Y., 2004.** Skin development in bony fish دامپزشکی در رشته بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات. ۸۳ ص.
- سادات‌اخوی، ر.، ۱۳۷۲.** بررسی آلودگی‌های قارچی تخم تاس‌ماهیان کارگاه پرورش ماهی شهید بهشتی. پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۲۲۲۵.
- شادی، ش.، ۱۳۸۷.** قارچ‌شناسی پزشکی: قارچ‌ها و اکتینومیست‌های بیماری‌زا تشخیص و درمان (با تجدیدنظر در مباحث) همراه با ضمیمه راهنمای تشخیص بیماری‌های قارچی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد اصفهان. ۳۶۸ ص.
- شریف‌پور، ع.، ۱۳۸۳.** مطالعه تجربی بافت‌شناسی کیفیت روند بهبود زخم در ماهی کپور. مجله علمی شیلات ایران، سال سیزدهم، شماره ۲، صص ۱-۲۶.
- شریف‌روحانی، م.، ۱۳۸۴.** بررسی کاربرد برخی اسانس‌های گیاهی در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌عنوان جایگزین احتمالی مالاشیت‌گرین در شرایط کارگاهی. رساله دکتری تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۲۹۴۵.
- شمس‌قهرخی، م.، علی‌نژاد، س. و رزافی‌ابیانه، م.، ۱۳۸۴.** قارچ‌شناسی و بیماری‌های قارچی آبزیان. موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی. ۱۹۲ ص.
- فیروزبخش، ف.، کاظمی، ر.، کاظمی، م.، خسروی، ع.ر.، جلیل‌پور، ج. و ابراهیم‌زاده‌موسوی، ح.ع.، ۱۳۸۸.** بررسی قارچ‌های سطحی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر. مجله تحقیقات دامپزشکی، شماره ۴، صص ۲۹۵-۲۹۱.
- قیاسی، م.، خسروی، ع. و یوسفیان، م.، ۱۳۸۳.** اولین گزارش از عفونت قارچی ناشی از ساپروولگنیا پارازیتیکا و آفانومایسس در هجری ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان رودخانه هراز. مجموعه مقالات اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. صص ۵۵۳-۵۵۲.
- مخیر، ب.، ۱۳۸۵.** بیماری‌های ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ پنجم. ۶۴۲ ص.
- نوروزی، ح.، مجدی‌نسب، ف. و علوی، ش.، ۱۳۸۱.** اپیدمیولوژی بیماری‌های قارچی مشترک انسان و آبزیان. انتشارات شهر آب. چاپ اول. ۱۹۳ ص.
- Akhlaghi, M. and Bahaodini, A.A., 2012.** Compare several treatments to combat Saprolegniasis in fertilized eggs of rainbow

- with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebra fish (*Danio rerio*). The International Journal of Developmental Biology, 48, 217 – 231.
- Noga, E.J., 2010.** Fish disease: diagnosis and treatment. 2nd Edition, Willey Blackwell, 536P.
- Ramaiah, N., 2006.** A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and corals. Indian Journal of Marine Sciences, 34(5), 380-387.
- Robarts, J.R., 2011.** Fish pathology. Third Edition, chapter 12, 380-412, Sunders, UK.
- Shahbazian, N., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Soltani, M., Khosravi, A.R., Mirzargar, S.S. and Sharifpour, I., 2010.** Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(1), 151-160.
- Silphaduang, U., Hatai, K., Wada, S. and Noga, E., 2000.** Cladosporiosis in a tomato clownfish, *Amphiprion frenatus*. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 31, 259-261.
- West, P.V., 2006.** *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem. Mycologist, 20, 99-104.
- Woo, P.T.K. and Bruno, D.W., 2011.** Fish diseases and disorders. Volume 3: viral, bacterial and fungal infections. CAB international publication, 930 P.
- Willoughby, L.G., 1994.** Fungi and fish diseases. Pisces Press, Sterling, Scotland, 57 P.
- Zaccone, G., 2001.** Structure, histochemical and functional aspects of the Epidermis of fishes. Advances in Marine Biology, 40, 253-348.
- Zuchelkowski, E.M., Pinkstaff, C.A. and Hinton, D.E., 2005.** General histology and cytology mucosubstance histochemistry in control and acid-stressed epidermis of brown bullhead catfish, *Lctalurus nebulosus* (LeSueur). The Anatomical Record, 212, 327-335.