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

نیما حسین‌زاده[۱]، حسین خارا[۲*]، سیدمهدی حسینی‌فرد[۳]

۱-گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۵۱۶-۴۱۳۳۵
۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶
۳-گروه قارچ‌شناسی، 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 می‌باشد. این گونه همانند سایر ماهیان در معرض انواع بیماری‌ها بوده و بیماری‌های قارچی از متداول‌ترین بیماری‌های این گونه هستند. این مطالعه با هدف بررسی و شناسایی قارچ‌های پوستی در مزارع پرورش ماهیان زینتی استان مازندران (ساری، آمل و بهشهر) انجام شد. از هر کارگاه تعداد ۱۵ عدد ماهی به‌صورت تصادفی نمونه‌گیری شد. نمونه‌های پوست در محیط سابرو دکستروز آگار (SDA)، گلوکز پپتون آگار (GPA) کشت داده و پس از تشکیل کلنی، گونه‌های قارچی شناسایی شدند. نتایج نشان‌دهنده آلودگی ۲۰ درصدی و وجود قارچ‌های *Saprolegnias* و *Acremonium* در کارگاه‌ساری، آلودگی ۲۶/۶ درصدی و وجود قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Penic*، *Aspergillus flavu*، *illium*، *Rhizopus* و *Cladosporium* در کارگاه آمل و آلودگی ۳۳/۳ درصدی و وجود قارچ‌های *Saprolegnia*، *Aspergillus flavus*، *Fusarium*، *Mucor* و *Alternaria* در کارگاه بهشهر بود. بین ماهیان آلوده در مناطق مختلف نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در مجموع آلودگی نسبتاً بالایی در ماهیان کارگاه‌های مختلف وجود داشت.

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

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

مقدمه

امروزه تجارت ماهیان زینتی یکی از بخش‌های پردرآمد شیلات محسوب می‌شود که رفته رفته به‌صورت 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 پروتوزوآ)، 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 آبزی 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 به‌وجود 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 (شمس‌قهفرخی 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 بقاء ضروری هستند (Le Guellec *et al*., 2004). شناخت هیستولوژیک و مورفولوژیک ساختار پوست ماهی در مراحل مختلف رشد و نموی، احتمالا 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 ساپرولگنیاسه دارای بالاترین فراوانی در میان قارچ‌های بیماری‌زا بوده و این قارچ‌ها عامل ایجاد عفونت‌های مهمی هستند که در صنعت آبزی‌پروری باعث بروز تلفات و ایجاد خسارات اقتصادی در ماهیان و تخم آن‌ها می‌شوند (Ramaiah, 2006). عفونت حاد ساپرولگنیازیس موجب بی‌حالی، از دست دادن تعادل و در نهایت مرگ ماهی می‌شود (West, 2006). قارچ ساپرولگنیا 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 آبزی‌پروران در کشورهای مختلف تلقی می‌شود (Robarts, 2011). بسیاری از گونه‌های ساپرولگنیا به عنوان مهاجمان ثانویه فرصت‌طلب به‌دنبال 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 معمولا به دنبال

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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 ساپرولگینا می‌باشد (Woo and Bruno, 2011). از سایر قارچ‌های بیماری‌زا نیز می‌توان به *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus*، *Penicillium*، *Acremonium*، *Fusarium*، *Alternaria*، *Cladosporium*، *Mucor* و *Rhizopus* اشاره کرد (شادزی، ۱۳۸۷).

تاکنون مطالعاتی در زمینه بیماری‌های قارچی ماهیان انجام شده است که می‌توان به مطالعه روی ساپرولگنیا پارازیتیکا و آفانومایسس در تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (قیاسی و همکاران، ۱۳۸۳)، ساپرولگنیا پارازیتیکا و فوزاریوم سولانی در تخم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (شریف‌روحانی، ۱۳۸۴)، جداسازی و شناسایی قارچ‌های ساپروفیت از آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان 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 ساپرولگنیا 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 پروش 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 به‌صورت یک بار در ماه بود که در مجموع از هر مزرعه ۱۵ عدد و در کل ۴۵ عدد ماهی به صورت تصادفی و توسط سوآپ برداشته شد. میانگین درجه حرارت آب در ماه‌های نمونه‌گیری در این استخر ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ppm ۷ و pH ۷/۶-۷/۵ بود. خوراک مورد استفاده در این مزرعه غذای کنستانتره بیومار (ساخت فرانسه) بود. پس از جمع‌آوری نمونه توسط سوآپ، نمونه‌ها به لوله‌های درپیچ‌داری 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 درپیچ‌دار، 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 استرپتومایسین 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 آسپتیک 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.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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 نرمالیته داده‌ها توسط تست نرمالیته Kolmogrov-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 اوراتوس 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 ($p<۰/۰۵$). همچنین، درصد آلودگی در بین ماهیان کارگاه آمل نیز به‌طور معنی‌داری بالاتر از کارگاه ساری بود ($p<۰/۰۵$). 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 flavus*، *Fusarium*، *Mucor* و *Alternaria* در سیچلاید ماهیان کارگاه بهشهر مشاهده شدند. در مجموع، قارچ‌های *Saprolegnia* و *Aspergillus flavus* دارای بیشترین فراوانی در میان قارچ‌های جداسازی شده بودند. اطلاعات مربوط به گونه‌های قارچی جدا شده در سیچلاید ماهیان اوراتوس در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۲: گونه‌های قارچی جدا شده از سیچلاید ماهیان

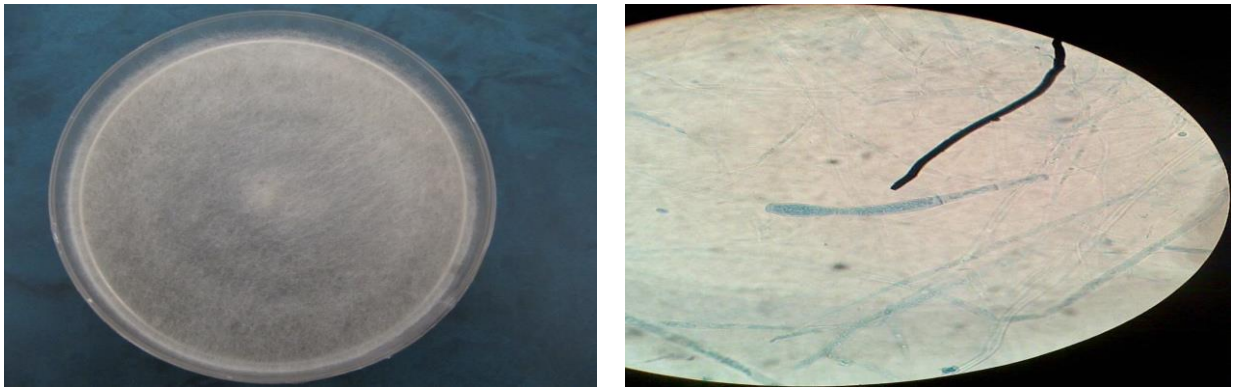
نوع قارچ / فراوانی	ساری	آمل	بهشهر
Saprolegnia	۱	۰	۱
Aspergillus niger	۰	۱	۰
Aspergillus flavus	۱	۰	۱
Penicillium	۰	۱	۰

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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

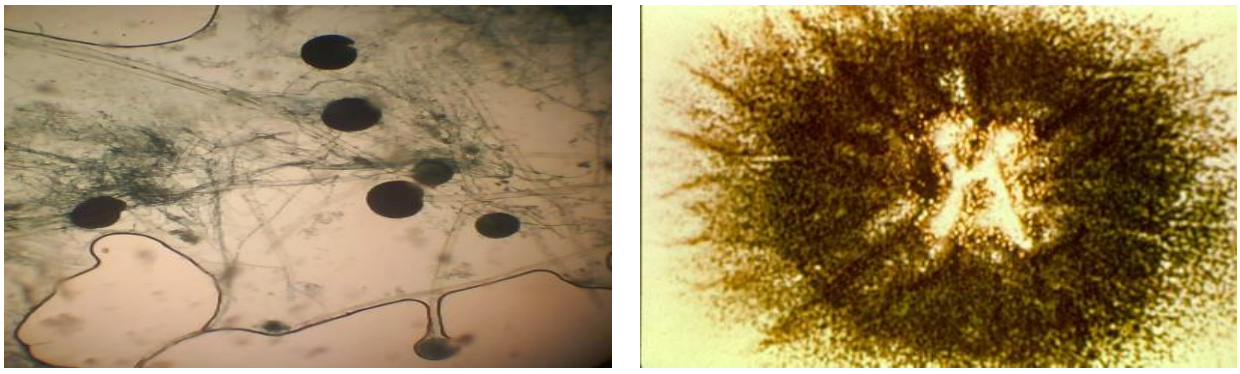
بررسی میکروسکوپی قارچ‌های ساپرولگنیا در محیط کشت گلوکز پپتون آگار نشان داد که کلنی‌ها پس از رشد کامل قوام پرزی کوتاه داشته و میسلیوم‌های قارچی به آسانی با آنس قابل برداشت نبودند. رنگ کلنی در سطح و پشت سفید مرمری و حالتی شفاف داشت. کلنی‌های قارچ بعد از حدود یک هفته پنبه‌ای و سفید شدند. پس از تهیه تیزمان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



الف ب

شکل ۱: الف. هایف و زئوسپورانژیوم ساپرولگنیا ×۴۰۰، ب. کلنی ساپرولگنیا در محیط گلوکز پپتون آگار ×۴۰۰

بررسی میکروسکوپی قارچ *Aspergillus niger* نشان داد که میسلیوم‌های زایشی یا کونیدیفورها بلند، قهوه‌ای تیره یا سیاه رنگ بودند که به وزیکول بزرگ کروی که دور تا دور آن فیالاید همراه با زنجیره‌ای از کونیدی سیاه، با دیواره خشن پوشانده شده بود ختم می‌شدند (شکل ۲).

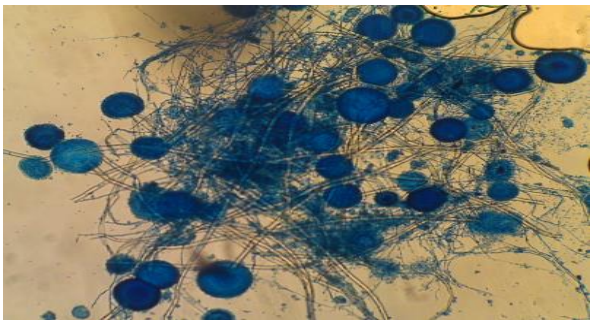


الف ب

شکل ۲: الف. کلنی *Aspergillus niger* × ۴۰۰، ب. مشخصات میکروسکوپی *Aspergillus niger* × ۴۰۰

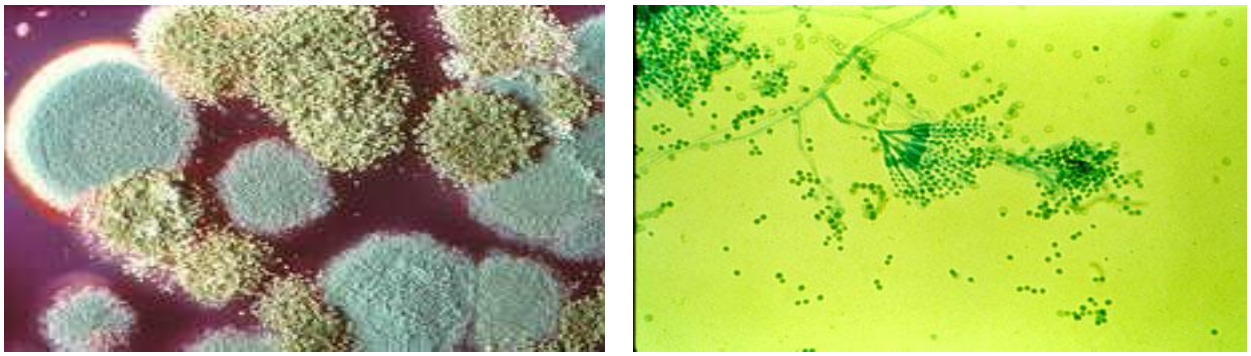
[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

قارچ *Aspergillus flavus* رشد نسبتاً کندی داشت و کرکی بود. دارای کونیدیفور بلند، بی‌رنگ با دیواره ضخیم و خاردار بود که پس از کشت به‌صورت 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

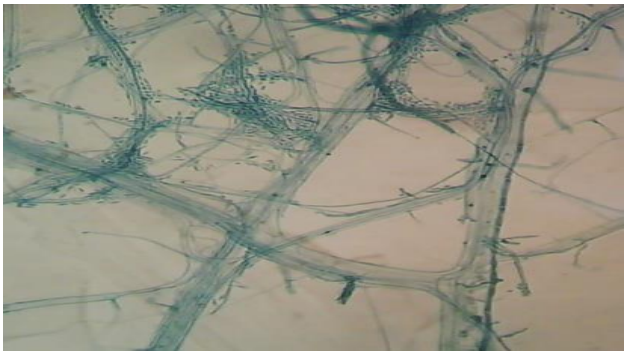
قارچ *Penicillium* رشد سریع داشت و به صورت پودری، صاف و سبز مایل به آبی که تدریجاً به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای تبدیل گردید. رنگ پشت کلنی نیز بی رنگ بود. کونیدیوفورهای آن منشعب یا غیرمنشعب بودند. فیالاید آن نیز بطری شکل بود و روی متولا قرار داشت و حالتی شبیه به جارو داشت. کونیدی‌های آن نیز بی‌رنگ یا سبز بودند (شکل ۴).



الف ب

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

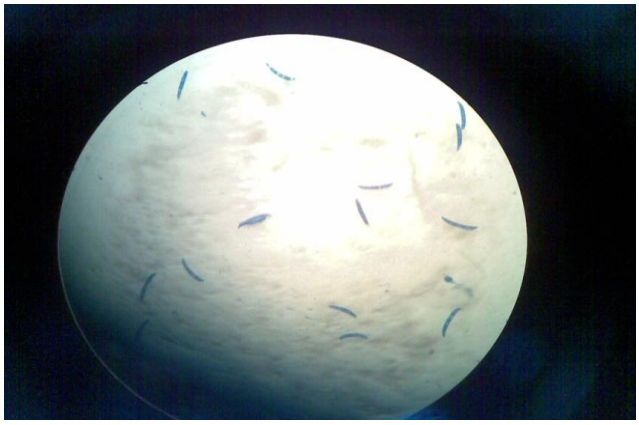
[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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



الف



ب

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

قارچ *Alternaria* دارای رشد سریع و به رنگ خاکستری، قهوه ای، سبز مایل به سیاه و کرکی که رنگ پشت کلنی نیز قهوه‌ای مایل به سیاه بود. ماکروکونیدی توتی‌شکل 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

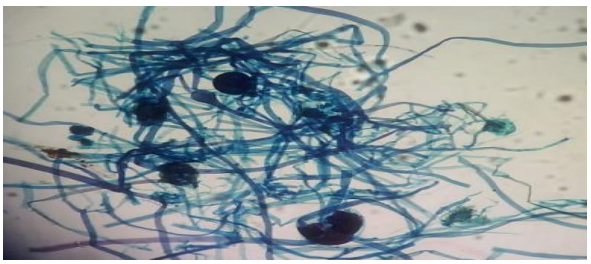
قارچ *Cladosporium* رشد نسبتاً سریعی و حالت مخملی تا پشمی داشته و به رنگ سبز خاکستری تا سیاه بودند. پشت کلنی نیز سیاه بود. کونیدیفور تیره و دارای دیواره عرضی که در انتها منشعب می‌شد. کونیدی آن‌ها نیز ۱ تا ۴ سلولی و قهوه‌ای رنگ بود و زنجیره‌های با انشعابات فرعی و در محل اتصال نشانه یا اسکار وجود داشت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

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



شکل ۸: مشخصات میکروسکوپی *Cladosporium* × ۴۰۰

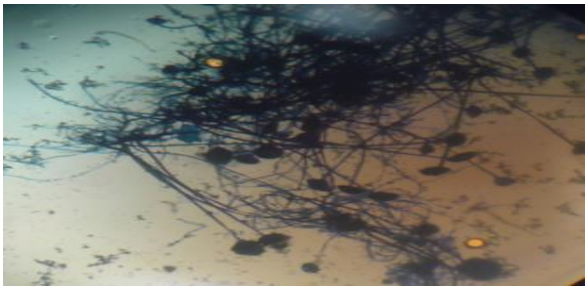
قارچ *Mucor* رشد سریع داشته و به سرعت پلیت را پر می‌کرد. کلنی خاکستری رنگ و پشمی و پشت آن نیز بی‌رنگ و دارای میسلیوم‌های هوایی فراوان بود. دارای میسلیوم‌های رویشی عریض و عموماً بدون دیواره عرضی بودند. اسپورانژیوفورهای منشعب آن‌ها به اعضای برجسته‌ای به نام کلوملا ختم می‌شدند. اسپورانژیوم محتوی تعداد زیادی 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

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

قارچ *Rhizopus* رشد سریع داشته و رنگ آن خاکستری و پشت آن بی‌رنگ بود. همانند موکور واجد میسلیوم‌های 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 آبزی‌پروری است که با افزایش پرورش متراکم آبزیان باعث بروز خسارات فراوان به تولیدکننده‌ها می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi, 2006). قارچهای آبزی 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 می توان به بیماری‌های ساپرولگنیازیس، برانشیومایکوزیس، ایکتیواسپوریدیوزیس اشاره کرد که عمده‌ترین و شناخته شده‌ترین آن‌ها بیماری ساپرولگنیازیس 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، جایی‌که 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 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 ساپرولگنیا از ۱۰ مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی که بیش از ۵۰ درصد از تولید آن‌ها به سیچلاید ماهیان اختصاص داشت جداسازی شد. می توان 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 به‌ترتیب 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، تغیرات فیزیکوشیمیایی 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 اسپورهای 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، ساپرولگنیا 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 ساپرولگنیا و بسیاری از قارچهای دیگر ایده‌آل است. بنابراین، شرایط متراکم پرورشی، حضور اسپورهای 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 به‌ترتیب 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*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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 ساپرولگنیاسه‌آ قارچ‌های اولیه‌ای هستند که در عارضه قارچ‌زدگی ماهیان حضور دارند. ساپرولگنیاسیس 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 به‌عنوان 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 آبریان، نقش توکسین‌زایی آن‌ها نیز کاملاً شناخته شده است. در ایران نیز گونه‌های مختلف *Fusarium* از ماهیان گوناگون جداسازی شده است (Firouzbakhsh *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 فروانی 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 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 به‌ترتیب 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 قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در مزارع تکثیر استان مازندران. مجله تحیقات 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 ساپرولگنیا از تخم‌های آلوده به قارچ قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع استان مازندران. پایان‌نامه دکترای تخصصی

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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.

شادزی، 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 ۲۶-۱.

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.

شمس‌قهفرخی، 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 تحیقات دامپزشکی، شماره ۴، صص ۲۹۵-۲۹۱.

قیاسی، م.، خسروی، ع. و یوسفیان، م.، ۱۳۸۳. اولین گزارش از عفونت قارچی ناشی از ساپرولگنیا پارازیتیکا و آفانومایسس در هچری ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان رودخانه هراز. مجموعه مقالات اولین کنگرهٔ 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 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 *Saprolegniacea 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

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]

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 Blackewell, 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.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1397.5.1.5.8]