CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

بررسی عفونت‌های قارچی پوست و آبشش با استفاده از روش‌های آسیب شناسی، کشت و تعیین توالی ژنوم قارچی به روش مولکولی در ماهی‌های زینتی آب شیرین

مهدی ابراهیمی جعفری[۱]، منصور بیات[۱]، عادل حقیقی خیابانیان اصل[۱]، سید جلال هاشمی هزاوه[۱]

*dr_mansour_bayat@yahoo.com

۱-دانشکده پاتوبیولوژی، دانشکده علوم دامپزشکی تخصصی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۳

چکیده

در صنعت آبزی‌پروری، بیماری‌ها باعث زیان‌های اقتصادی عظیمی می‌شوند و عفونت‌های قارچی یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر و ضررهای اقتصادی در صنایع پرورش ماهیان زینتی و خوراکی هستند. در این مطالعه به جداسازی و شناسایی قارچ‌ها در ماهیان زینتی در مناطق مختلف تهران (ایران) پرداخته شده است. نتایج نشان داد، ازمیان ۹۲ ماهی زینتی مبتلا به علائم بالینی مورد بررسی، ۴۳ نمونه به قارچ‌های کپکی و مخمری آلوده بودند. نتایج آسیب‌شناسی نشان‌دهنده نفوذ عوامل بیماری‌زا به آبشش‌ها، پوست و زیرپوست بود. در ادامه نمونه‌ها با رنگ‌های خاص کشت داده شده و به صورت میکروسکوپی بررسی شدند و سپس با روش PCR توالی ژنی قارچ‌ها تعیین گردید. گونه‌های شناسایی‌شده شامل *کلادوسپوریوم* (۵۳٪)، *کاندیدا* (۱۸.۷٪)، *پنی‌سیلیوم* (۱۲.۵٪) و مخمر *رودوترولا* (۳٪)، بودند. در این مطالعه، اطلاعات توالی‌های به‌دست آمده به‌وسیله ابزار بلاست با داده‌های منتشره قبلی در بانک ژن مقایسه شدند و در ۱۴ مورد (۶۳٪) هیچ نمونه مشابهی در پایگاه NCBI یافت نشد.

کلمات کلیدی: عفونت قارچی، ماهی زینتی، آسیب‌شناسی، PCR، تعیین توالی ژنوم

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

مقدمه

طی دو دهه گذشته بیماری‌های قارچی ماهی‌ها مورد توجه ویژه قرار گرفته و تعداد فزاینده‌ای از قارچ‌های محیطی فرصت‌طلب از ماهیان آلوده گزارش شده‌اند. در میان این قارچ‌ها، *آفانومایسس* و *فوزاریوم* می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌های سیستمیک یا تهاجمی شود که اغلب همراه با تغییرات عوامل محیطی نظیر دما و شوری بروز پیدا می‌کند. سایر قارچ‌ها مانند *ایکتیوفونوس هوفری* می‌توانند به صورت مزمن و پنهان ظاهر شوند و تا حدی شبیه بیماری مایکوباکتریوزیس عمل کنند. به طور کلی، کنترل یا درمان بیماری‌های قارچی پس از وقوع آنها بسیار دشوار است (Yanong, 2003). قارچ‌ها می‌توانند موجب عفونت در ماهیان جوان و بالغ گردیده و تخریب تخم‌ها و از بین رفتن لاروها را به‌دنبال داشته باشند. عفونت‌های قارچی معمولاً عفونت‌های ثانویه هستند که پس از عفونت‌های اولیه انگلی، ویروسی یا باکتریایی رخ می‌دهند. هرچند برخی از قارچ‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های تهاجمی شناخته می‌شوند. منشأ عفونت قارچی در آبزی‌پروری اسپورها هستند. همچنین تولید آنزیم‌هایی نظیر سوبتیلیزین پروتئاز، گلیکوزیل هیدرولاز، کینازها و مهارکننده‌های کیناز از قارچ‌ها می‌توانند به بافت‌های میزبان آسیب وارد کنند (Sarkar *et al*., 2022). قارچ *ساپرولگنیا*، یک قارچ با گسترش جهانی در آبهای شیرین و شور است که به عنوان مشکل اصلی در آبهای شیرین شناخته می‌شود. مشخصه‌های بالینی عفونت‌های سطحی قارچی شامل ضایعات پنبه‌ای سفیدرنگ روی پوست و کمان‌های آبششی است. پس از تهاجم هیف‌ها، ممکن است اروزیون یا اولسرهای کانونی در اپیدرم ایجاد شوند (Sakaguchi *et al*., 2019).

اطلاعات کمی درباره شناسایی و تعریف عفونت‌های قارچی در ماهیان زینتی ایران موجود است درحالی‌که این اطلاعات برای پیشگیری و کنترل بیماری‌ها ضروری است. در این رابطه در مطالعه‌ای در اصفهان، ایران، نشان داده شد که گونه‌های قارچی *آکرومونیوم*، *آسپرژیلوس*، *آلترناریا*، *ساپرولگنسا* و *پنی‌سیلیوم* دارای بیشترین میکروارگانیسم‌های قارچی آلوده‌کننده ماهی‌ها بوده و میزان شیوع در ماهی گورامی کوتوله ۲۳.۳۱٪ و در ماهی گوپی ۶.۶۶٪ است (Shahraki *et al*., 2014). در مطالعه دیگری گونه‌های قارچی *پنی‌سیلیوم*، *موکور*، *آسپرژیلوس*، *ریزوپوس* و *فوزاریوم* از هشت ماهی خوراکی آب شیرین دودی‌شده جداسازی گردید (Fafioye *et al*., 2008).

از آن‌جایی‌که عفونت قارچی به‌سختی درمان می‌شود، تشخیص و اپیدمیولوژی آن چالش‌برانگیز است. بنابراین، هدف این مطالعه ارائه گزارشی از گونه‌های قارچی منطقه‌ای است تا امکان برنامه‌ریزی بهتر برای کنترل این عفونت‌ها فراهم شود. با توجه به آن‌که تشخیص دقیق برخی از عوامل بیماری‌زای قارچی به دلیل شباهت‌های ظاهری میکروسکوپی و حتی کلنی‌ها دشوار است (Ke *et al*., 2010)، استفاده از روش‌های مولکولی برای شناسایی گونه‌های قارچی پیشنهاد شده است. در این رابطه توالی‌های DNA ریبوزومی برای تمایز قارچ‌های بیماری‌زا که در طول تکامل نسبتاً بدون تغییر باقی مانده، شناسایی شده‌اند. یکی از مهم‌ترین آنها توالی ITS ریبوزومی است. بنابراین PCR مبتنی بر ITS برای شناسایی عوامل قارچی کافی است (Hafez, 2016). در این مطالعه نیز تلاش شد تا به صورت تصادفی نمونه‌های مختلفی از ماهیان زینتی بیمار جداسازی شود و با استفاده از محیط‌های کشت و روش‌های PCR، شیوع بیماری‌های قارچی مختلف مورد ارزیابی قرارگیرد.

مواد و روش‌ها

شناسایی موارد

در این مطالعه ۹۲ نمونه ماهی زینتی با علائم بالینی مرتبط با بیماری قارچی مورد بررسی قرار گرفتند که در ۳۲ مورد، عامل قارچی تشخیص داده شد. موارد مبتلا به قارچ از میان فروشندگان ماهیان زینتی، در بازه زمانی تیرماه ۱۴۰۰ لغایت دی ماه ۱۴۰۱ جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری از ماهیان آلوده تا حد ممکن از قسمت‌هایی که بیشترین احتمال جداسازی ارگانیسم وجود داشت، انجام شد. برای مثال، نواحی تغییر رنگ داده به همراه بافت‌های اطراف مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا، اسمیرها تهیه شدند تا ضایعات قارچی از سایر ضایعات تمایز داده شوند. نیمی از نمونه‌های اخذشده از پوست یا آبشش جهت بررسی‌های آسیب شناسی در فرمالین قرار گرفتند و نیمی دیگر برای کشت استفاده شدند.

بررسی مستقیم

تهیه اسمیر از نمونه‌های ارسال‌شده سریع‌ترین روش برای تشخیص قارچ در ضایعات است. اسمیر نمونه‌ها از تمامی ۹۲ نمونه بالینی تهیه شد، درحالی‌که فقط هفت مورد قارچ رشته‌ای از طریق روش اسمیر تشخیص داده شد. سپس تمامی نمونه‌های بالینی در محیط‌های کشت مختلف، از جمله آگار سابورو

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]
[DOI: 10.22034/11.4.1]

دکستروز (SDA) کشت داده شدند. برای تهیه اسمیرها از محلول‌های فیزیولوژیک، هیدروکسید پتاسیم، جوهر هند، رنگ کالکوفلور سفید و رنگ لاکتوفنول کاتن بلو استفاده شد.

شناسایی قارچ

در تمامی ۹۲ نمونه بالینی، نواحی ضایعه با الکل ۷۰٪ تمیز شدند تا باکتری‌ها و قطرات چربی حذف شوند. سپس از ابزارهای استریل در نزدیکی شعله و زیر هود استفاده شده تا از رشد میکروارگانیسم‌های غیر مرتبط در پلیت‌های آگار جلوگیری شود. محیط‌های کشت مورداستفاده شامل SDA، آگار مغذی و آگار گلوکز پپتون بودند. برای جداسازی تمامی نمونه‌های بیماری‌زا، ترکیبی از محیط‌های حاوی و فاقد آنتی‌بیوتیک به‌کار گرفته شد. محیط کشت طبق استاندارد و براساس روش Abdulrahman و همکاران (۲۰۲۲) آماده شد. برای این منظور ۶۵ گرم پودر محیط کشت (Invitrogen، ۰۸۳-۳۱۶۰۰) در یک استوانه مدرج یک لیتری با آب مقطر مخلوط شد. سپس در یک ارلن مایر دو لیتری حرارت داده شد تا به جوش برسد و هم‌زمان تکان داده شد. برای افزودن آنتی‌بیوتیک، ۵۰ میلی‌گرم کلرامفنیکل در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل و به محیط کشت ذوب‌شده اضافه شد. سیکلوهگزیمید در این آزمایش‌ها استفاده نشد تا قارچ‌های ساپروفیت نیز جداسازی شوند. سپس با فویل آلومینیومی بسته شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع اتوکلاو شد. در برخی موارد، محیط‌های کشت دوباره‌سازی شدند تا تشخیص بهبود یافته یا جداسازی تکمیل شود. در شرایط استریل، قارچ از محل ضایعه با یک حلقه تلقیح نزدیک شعله کشت و در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته نگهداری شدند و هر سه روز یک‌بار نمونه‌ها از نظر رشد بررسی شدند. در مطالعات اولیه، ویژگی‌های مختلف قارچ‌ها از نظر سرعت رشد، رنگ کلنی، تغییرات پشت کلنی، نوع کلنی و تفاوت رشد در محیط‌های مختلف مورد توجه قرار گرفتند. در طول بررسی کلنی در حال رشد، نمونه‌هایی برای بررسی میکروسکوپی ساختارهای مخصوص قارچ تهیه شد و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× برای قارچ‌های کپک‌زده و بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰× برای مخمر مشاهده شد. ساختارهای تولیدمثلی، انواع هاگ، رنگ میسلیوم، دیواره عرضی و خلوص کلنی مهمترین عوامل در نظر گرفته شده بودند.

تعیین توالی DNA

۳۲ نمونه از نواحی بافت آلوده درمحیط کشت SDA و سایر محیط‌های کشت‌های (در صورت نیاز) کشت داده شدند و DNA قارچ‌های رشته‌ای و مخمرها با استفاده از روش‌های نیتروژن مایع و گوی‌های شیشه‌ای استخراج گردید (Van Burik *et al*., 1998; Kot *et al*., 2020). در این مرحله براساس مطالعات قبلی، توالی‌ها توسعه یافته و مورد استفاده قرار گرفتند (Rupp *et al*., 2019; Mohamed *et al*., 2021). در DNA استخراجی از تمامی ۳۲ قارچ کشت‌داده‌شده، ژن‌های s ۸rRNA با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 برای شناسایی قارچ‌ها تقویت شدند. سایر پرایمرها برای شناسایی گونه‌های آفانومایسس استفاده شدند. مخلوط PCR شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی، ۰.۲ میکرومول از هر پرایمر، ۲۵ میکرولیتر مسترمیکس PCR (پرمیکس ۲×) و ۵۰ میکرولیتر آب مقطر بود. چرخه‌های PCR (۳۰ چرخه) شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (۲ دقیقه)، اتصال در ۵۶ درجه (۲۰ ثانیه) و توسعه در ۷۲ درجه (۳۰ ثانیه) بود که با یک چرخه در ۷۲ درجه (۵ دقیقه) دنبال شد (Wang *et al*., 2017, Armwood *et al*., 2021). نتایج نهایی توالی‌ها با نرم‌افزار مگا- ایکس تحلیل و نتایج با پایگاه داده‌های NCBI مقایسه شدند. بررسی فیلوژنتیک برای هر ایزوله با استفاده از جایگاه ژنی مناسب برای هر گروه قارچی انجام شد. توالی‌های نهایی با نرم افزار مگا- ایکس (نرم افزار BLAST بانک ژن) تجزیه‌وتحلیل شدند تا نشان دهند که توالی ITS تقویت شده نزدیک‌ترین همولوژی را با جنس دارد. تاریخچه تکاملی با استفاده از روش حداکثر درستنمایی و مدل پیشنهادی Tamura و Nei (۱۹۹۳) به‌دست آمد و درختی با بیشترین احتمال ورود به سیستم (۲۱۴۵.۸۶-) نشان داده شد. درخت(های) اولیه ّرای جست و جوی هیوریستیک با استفاده از الگوریتم‌های Neighbor-Join و BioNJ بر ماتریسی از فواصل زوجی که با استفاده از روش احتمال مرکب بیشینه (MCL) تخمین زده شده بودند، به‌دست آمدند و سپس توپولوژی با مقدار برتری از احتمال لوگاریتمی انتخاب شد.

ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی

از ۳۲ نمونه اسمیر مثبت با علت قارچی، نواحی با ضایعات ماکروسکوپی از آبشش و پوست در بافر خنثی فرمالین فسفات ۱۰٪ تثبیت شد، در پارافین جایگذاری شده و برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. این برش‌ها با رنگ‌آمیزی

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]
[DOI: 10.22034/11.4.1]

هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شده و از نظر نکروز سلول‌های اپیتلیال، نفوذ لوکوسیت‌ها، هایپرمی و احتمالاً هایپرپلازی تحلیل شدند (Gjessing *et al*., 2019).

تحلیل تکاملی با روش احتمال بیشینه

در تحلیل نمونه‌های 33F، 21F، 11F و 81F تاریخچه تکاملی با استفاده از روش احتمال بیشینه و مدل Tamura و Nei (۱۹۹۳) استنتاج شد و درخت با بیشترین احتمال لگاریتمی نشان داده شد (۲۱۴۵.۸۶-، ۳۷۹۴.۰۰-، ۱۱۳۰.۱۴- و ۱۴۵۲.۸۱-). برای جستجوی هیورستیک، درخت‌های اولیه به صورت خودکار با استفاده از الگوریتم‌های Neighbor-Join و BioNJ به یک ماتریس فاصله‌های جفتی که با روش احتمال مرکب بیشینه (MCL) تخمین زده شده بود، اعمال و سپس آسیب‌شناسی با بهترین مقدار احتمال لگاریتمی انتخاب شدند. درخت‌ها مقیاس‌بندی شده و طول شاخه‌ها بر اساس تعداد جانشینی‌ها در هر محل اندازه‌گیری شدند. این تحلیل شامل ۱۰ توالی نوکلئوتیدی با ۱۳۳۶ موقعیت در مجموعه داده نهایی بود. تحلیل‌های تکاملی با استفاده از نرم‌افزار مگا- ایکس انجام شدند (Kumar *et al*., 2018).

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

شیوع آلودگی با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

درصد شیوع عفونت قارچی در هر گونه ماهی = تعداد ماهیان آلوده به قارچ / کل تعداد ماهیان بررسی‌شده

نتایج

همه‌گیر شناسی[1]

ماهی‌های بررسی‌شده شامل گونه‌های کپور معمولی، گلدفیش، سیچلاید دهان آتشی، سیچلاید نواری، سیلور دالر، تترای ایکس ری، اسکار، چانا، کوتوله گورامی، گوپی، کوی، ماهی زبرا، رنگین کمانی، گرین‌ترور و دم‌شمشیری سبز بودند. در جدول ۱، تعداد ماهی‌های با علائم بالینی، تعداد ماهی‌های با اتیولوژی قارچی و درصد شیوع برای هر گونه ارائه داده شده است.

شناسایی موارد

ارزیابی ۹۲ نمونه نشان داد که در ۸۰ مورد از آن‌ها، هیچ‌گونه هیف قارچی از طریق روش اسمیر شناسایی نشد. با این‌حال، در ۳۲ نمونه (۳۴.۷٪)، رشد پاتوژن‌های قارچی در محیط کشت مشاهده گردید (شکل ۳: ب و ج). روش PCR گونه‌های تمامی ۳۲ مورد مثبت را شناسایی کرد. شیوع موارد مثبت کشت داده‌شده برای قارچ‌ها در گونه‌های ماهی به شرح زیر بود: ماهی زبرا (۲۹٪)، گوپی (۱۸٪)، گلدفیش (۳۳٪)، سیچلاید دهان آتشی (۱۰۰٪)، کوتوله گورامی (۳۰٪)، سیلور دالر (۳۳٪)، کوی (۶۶٪)، دم‌شمشیری سبز (۲۸.۵٪)، اسکار (۵۰٪)، سیچلاید نواری (۵۰٪)، گرین‌ترور (۵۰٪)، چانا (۵۰٪) و تترای ایکس ری (۵۰٪) (جدول ۱).

شناسایی قارچ با روش PCR

پس از کشت ۳۲ قارچ در محیط‌های کشت، آن‌ها با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج توالی‌یابی نشان داد که گونه‌های شناسایی‌شده عبارت بودند از *کلادوسپوریوم* (۵۳٪)، *کاندیدا* (۱۸.۷٪)، *پنی‌سیلیوم* (۱۲.۵٪)، *اورئوبازیدیوم پولولانس* (۳٪) و مخمر *رودوترولا* (۳٪). هیچ قارچ متعلق به گونه *آفانومایسس* در محیط کشت و روش PCR شناسایی نشد (شکل ۳: د، جدول ۲).

شناسایی توالی DNA

از آن‌جایی‌که ویژگی‌های فیزیکی و روش PCR برای تمایز و شناسایی گونه‌های قارچی کافی نبودند، از ۴۰ آزمایش PCR انجام شده، برای نمونه‌های زیر، توالی‌سازی ژنی انجام شد و نتایج آن در پایگاه داده NCBI ثبت گردید. آزمایش‌های توالی‌سازی ژنی نتایج مشابهی برای نمونه‌های کپور معمولی و ماهی رنگین کمانی نشان نداد، اما یکی یا هر دو توالی ITS1 (F) و ITS4 (R) در سایر نمونه‌ها پاسخ قابل شناسایی داد. یک خلاصه از نتایج توالی‌سازی ژن در جدول ۳ ارائه داده شده است.

توالی قارچ‌ها در درخت تکاملی ژن‌های نوکلئوتیدی

پس از توالی‌سازی ژن و ثبت آن در سیستم NCBI، مقایسه بین توالی‌های ثبت‌شده و نزدیک‌ترین قارچ‌های معرفی‌شده در پایگاه داده انجام شد. سپس با کمک نرم‌افزار درخت تکاملی مگا- ایکس، توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های آن‌ها در جدول ۳ ارائه و در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

[1] Epidemiology

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

جدول ۱: شیوع بیماری قارچی در گونه‌های ماهیان بررسی‌شده (۹۲ مورد بالینی)

گونه ماهی	تعداد ماهی با علائم	تعداد ماهی با اتیولوژی قارچی بالینی	درصد شیوع
کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)	۲	۰	۰
گلدفیش (*Carassius auratus*)	۹	۳	۳۳
سیچلاید دهان آتشی (*Thorichthys meeki*)	۳	۳	۱۰۰
سیچلاید نواری (*Heros severus*)	۲	۱	۵۰
سیلور دالر (*Metynnis argenteus*)	۶	۲	۳۳
تترای ایکس ری (*Pristella maxillaris*)	۲	۱	۵۰
اسکار (*Astronotus ocellatus*)	۲	۱	۵۰
چانا (*Clupisoma garua*)	۲	۱	۵۰
کوتوله گورامی (*Trichogaster lalius*)	۱۰	۳	۳۰
گوپی (*Poecilia reticulata*)	۲۲	۴	۱۸
کوی (*Cyprinus rubrofuscus*)	۳	۲	۶۶
ماهی زبرا (*Danio rerio*)	۲۴	۷	۲۹
رنگین کمانی (*Melanotaeniidae*)	۲	۰	۰
گرین‌ترور (*Andinoacara rivulatus*)	۴	۲	۵۰
دم‌شمشیری سبز (*Xiphophorus hellerii*)	۷	۲	۲۸.۵
تعداد کل	۹۲	۳۲	۳۴/۷

جدول ۲: شیوع گونه‌های قارچی در ۳۲ مورد

گونه قارچ	ارگان	گونه ماهی	تعداد
کلادوسپوریوم	آبشش و پوست	زبرا	۷
گونه‌های *کلادوسپوریوم*	آبشش و پوست	کپور معمولی	۲
کلادوسپوریوم پرانگوستوم	پوست	سیچلاید دهان آتشی	۱
گونه‌های *کلادوسپوریوم*	آبشش و پوست	سیچلاید نواری	۱
کلادوسپوریوم کلمبیائی	پوست	سیلور دالر	۱
کلادوسپوریوم سینوسوم	آبشش و پوست	کوتوله گورامی	۲
کلادوسپوریوم	آبشش و پوست	دم‌شمشیری سبز	۱
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	آبشش و پوست	گلدفیش	۲
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	آبشش و پوست	گرین‌ترور	۱
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	پوست	سیچلاید نواری	۱
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	پوست	سیچلاید دهان آتشی	۱
اورئوبازیدیوم پولولانس	آبشش و پوست	گلدفیش	۱
تریکوفیتون تونسورانس	آبشش و پوست	اسکار	۱
آلترناریا آلترناتا	آبشش و پوست	گوپی	۲
گونه‌های *کاندیدا*	آبشش و پوست	گوپی	۲
گونه‌های *کاندیدا*	آبشش و پوست	گرین‌ترور	۱
کاندیدا پالمیولئوفیلا	آبشش و پوست	کوتوله گورامی	۱
کاندیدا زیلانوئیدس	پوست	سیلور دالر	۱
گونه‌های *کاندیدا*	آبشش و پوست	چانا	۱
مخمر *رودوترولا*	پوست	تترای ایکس ری	۲

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

جدول ۳: نتایج توالی‌های ژنی ثبت شده در پایگاه داده NCBI

مشابه ترین ساختار ژنی	NCBIشماره پیوست در	کد	ساختار مشابه	درصد شباهت نوکلئوتید
کلادوسپوریوم پرانگوستوم	MZ201310	R 6	GU065571	۹۵
کلادوسپوریوم کلمبیائی	MZ202361	9 F	MG975642	۹۵
کلادوسپوریوم کلمبیائی	MZ197779	R 9	MK722299	۹۷
کاندیدا زیلانوئیدس	MZ161202	11 F	FR676936	۹۳
کاندیدا زیلانوئیدس	MZ161827	11 R	KY102089	۹۸
کاندیدا زیلانوئیدس	OL964278	11 F-2	NR_163770	۹۸
گونه‌های قارچی	OL831172	11 R-2	NR_163770	۹۸
گونه‌های قارچی	OL944303	13 F	JF289129	۹۵
گونه‌های قارچی	OL831192	13 R	MT236941	۸۶
کاندیدا پالمیولئوفیلا	MZ272342	R 17	MK394112	۹۶
گونه‌های قارچی	OL891804	21 F	MT298917	۸۴
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	OL912958	21 R	KY552628	۹۰
گونه‌های *پنی‌سیلیوم*	OL912959	33 F	MG025872	۹۸
گونه‌های *کاندیدا*	OL912960	49 R	LC534379	۸۳
گونه‌های قارچی	OL990026	F 49	MH545914	۸۱
گونه‌های *کاندیدا*	OL912961	50 F	KY102539	۹۳
گونه‌های *کاندیدا*	OL912962	50 R	KY102539	۹۱
گونه‌های *کاندیدا*	OL912963	53 R	KY102539	۹۲
کلادوسپوریوم سینوسوم	MZ272063	68 F	EU167591	۹۹
کلادوسپوریوم سینوسوم	MZ272062	68 R	MH863132	۹۹
گونه‌های *کلادوسپوریوم*	MZ270536	81 F	NR_158360	۱۰۰
کلادوسپوریوم کلادوسپوریئیدس	MZ166573	81 R	AY362000	۹۹

F= پیشرو، R= معکوس

شکل ظاهری

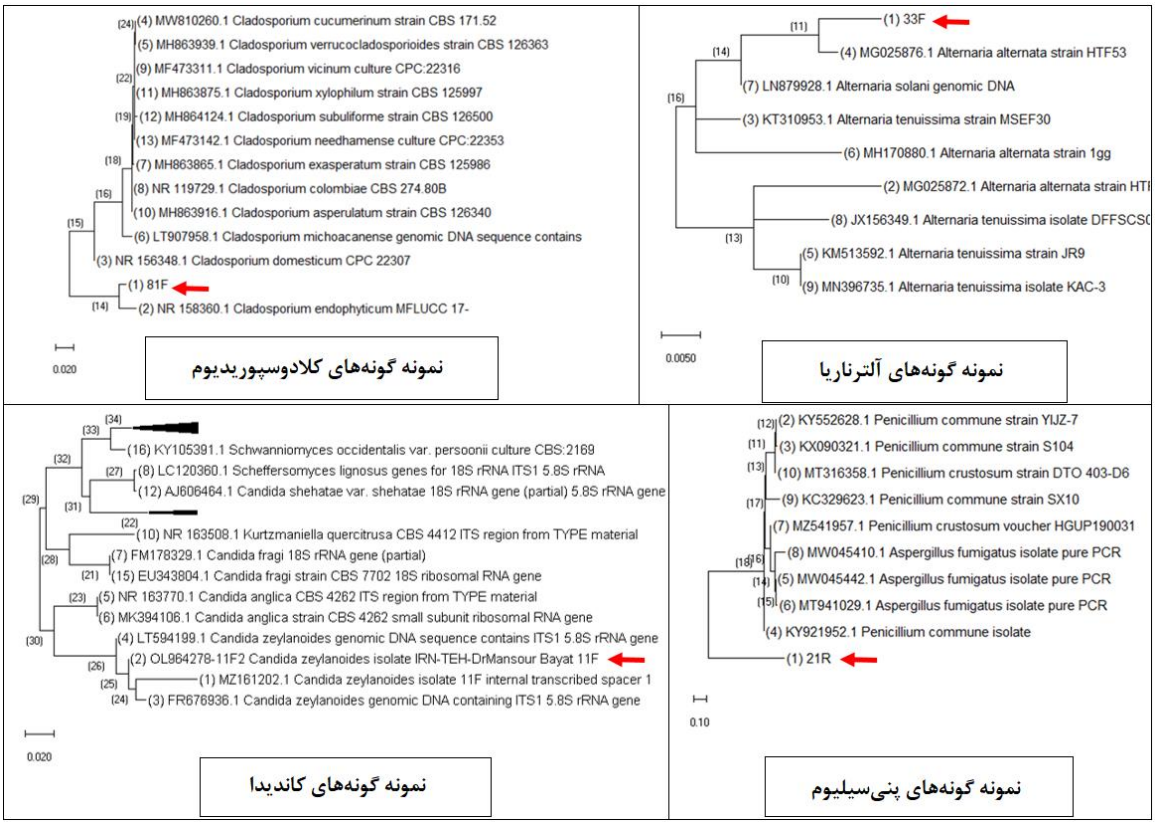
مشخص‌ترین ویژگی‌های یافته‌شده در پس از مرگ ماهیان، پوست بخشی از ماهی بود که دچار زخم جزئی اطراف آبشش‌ها یا باله‌ها شده بود. مقیاس‌ها در همه جا به‌ویژه از دمی به شکمی افتاده بودند. آبشش‌ها به طور جزئی با هیف‌های قارچی آلوده شده بودند، باله‌های سینه‌ای و شکمی نیز ممکن بود، آسیب ببینند (شکل‌های ۳ و ۴).

علایم میکروسکوپی

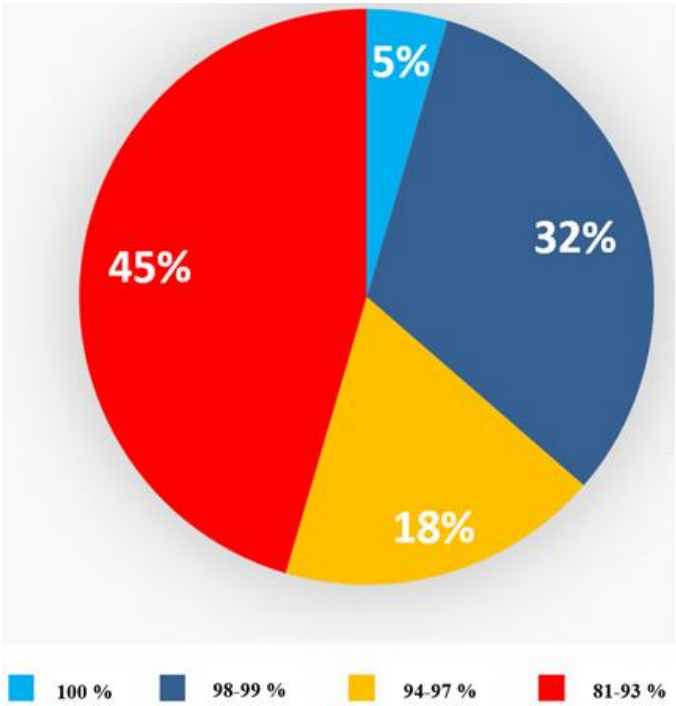
ضایعات در آبشش‌ها عمدتاً هایپرمی بودند و تعداد زیادی لوکوسیت در داخل فیلامنت‌ها و سینوزوئیدها نفوذ کرده بودند. سایر ضایعات شامل ریزش شدید سلول‌های اپیتلیال بودند. در ضایعات شدید، هایپرپلازی مشاهده نشد (شکل ۵، الف، ب، ج). درماتیت حاد با اولسر و نفوذ لوکوسیت‌ها به درم در حال گسترش بود (شکل ۵، د).

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]



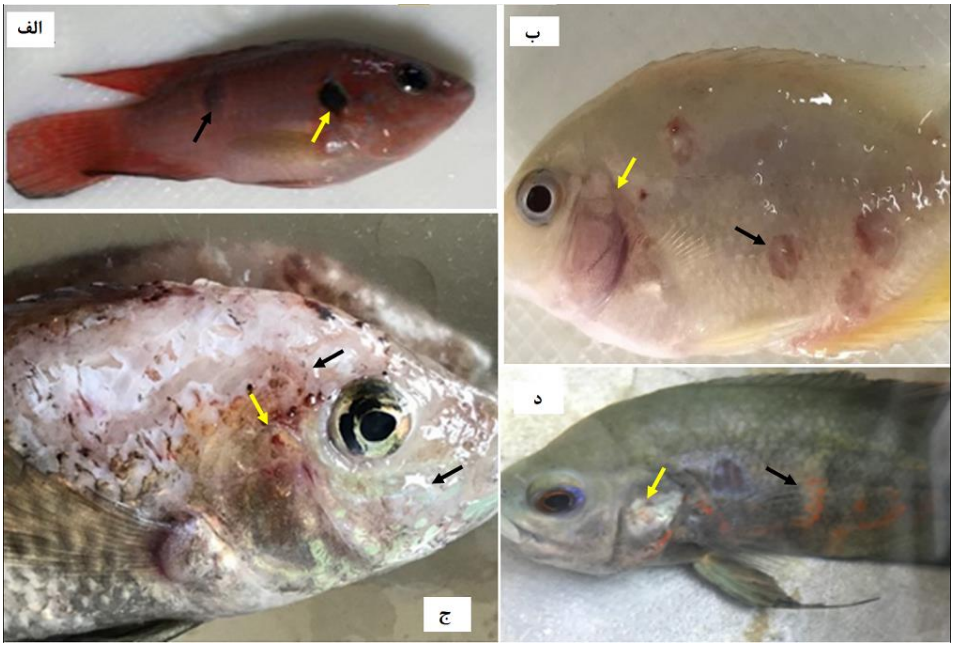
شکل ۱: فیلوگرام حداکثر احتمال با استفاده از ITS برای نشان دادن رابطه بین برخی از نمونه‌ها و گروه‌های نماینده متعلق به جنس‌های مختلف



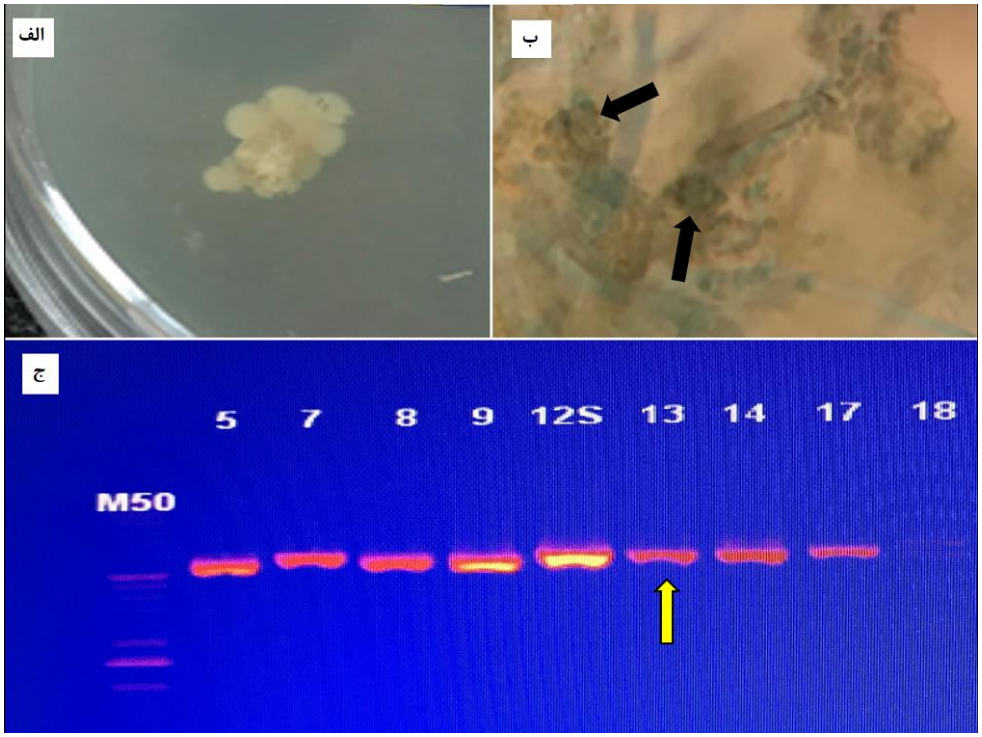
شکل ۲: مقایسه درصد تطابق نمونه‌های توالی یابی‌شده با ژن‌های قبلاً معرفی‌شده در پایگاه داده NCBI.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

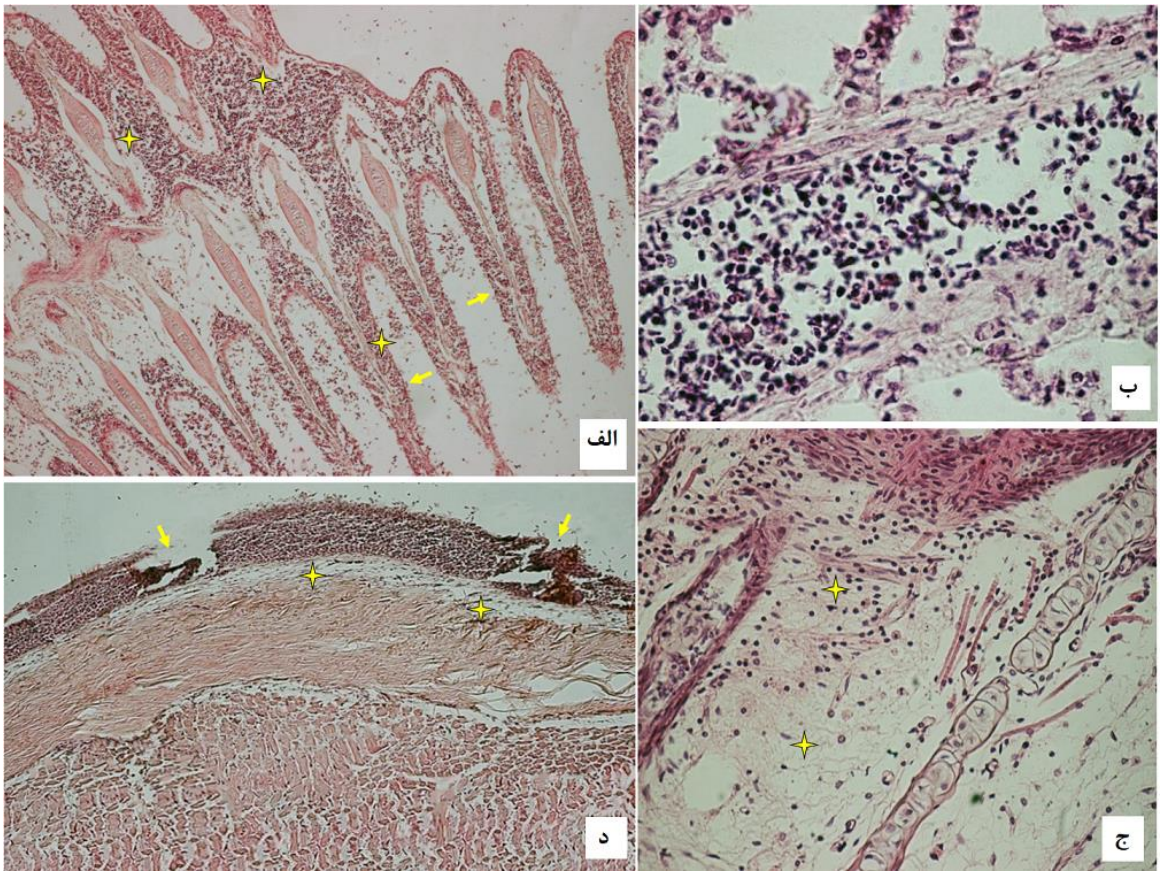


شکل ۳: **اولسر و ریزش فلس‌ها در روی پوست و آبشش‌های برخی از ماهیان زینتی. الف) سیچلاید دهان آتشی و ب) سیچلاید نواری که هر دو دچار** *کلادوسپوریدیوم* **بودند؛ ج) گرین‌ترور که به** *کاندیدا* **مبتلا بود؛ د: اسکار که به** *تریکوفیتون* **مبتلا بود. فلش زرد: زخم آبشش؛ فلش سیاه تیره: زخم پوست**



شکل ۴: الف) کلنی گونه‌های *کلادوسپوریوم* در پلت آگار YGC. ب) گونه‌های *کلادوسپوریوم* دارای رنگدانه بسیار تیره سبز مایل به سیاه یا آبی مایل به سیاه. د) ژل الکتروفورز PCR برای تشخیص قارچ از موارد مختلف. به عنوان مثال، گونه‌های *کلادوسپوریوم* در ماهی سیچلاید نواری در خط شماره ۱۳ (پیکان) شکل گرفته است. خطوط دیگر متعلق به موارد دیگر است. فلش سیاه: رنگدانه سبز مایل به سیاه یا آبی مایل به سیاه. فلش زرد: مربوط به پاتوژن گرفته شده از ماهی شکل۳، ب

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]
[DOI: 10.22034/11.4.1]



شکل ۵: **پوست و آبشش برخی از ماهیان زینتی آلوده به قارچ (H&E). الف) اپیتلیوم ترابکولار که به‌شدت ریزش کرده و با نفوذ لوکوسیت‌ها همراه است (×۱۰۰). ب) ورید هایپرسمیک در ترابکولای آبشش (×۱۰۰۰). ج) ادم شدید و نفوذ لوکوسیت‌ها در ترابکولا (×۴۰۰). د) اولسر پوست با سلول‌های ریزش کرده بر روی درم. ستاره: نفوذ لوکوسیت‌ها و ادم، فلش: نکروز سلول‌های اپیتلیال**

بحث

تنظیم اسمزی می‌تواند از عفونت‌های قارچی خطرناک و تهدیدکننده جلوگیری کند. تهیه نمونه از ناحیه ضایعه یک روش سریع برای تشخیص افتراقی است. بیماری‌های قارچی دریایی نادر هستند، مگر در موارد بیماری کاغذ سمباده‌ای ناشی از *ایکتیوفونوس هوفری* (Storesund *et al*., 2022). ضایعات ظاهری آنها شامل رنگ‌پریدگی‌های متعدد با پاپول‌های سفید با یا بدون التهاب گرانولوماتوزی پوست است. پوست به طور معمول با تومورهای کیستی گرانولوماتوزی درم قابل مشاهده است. درمان عفونت‌های قارچی به‌ویژه در گرانولوم‌ها، پیچیده و غیرممکن است (LaDouceur *et al*., 2020, Özcan and Arserim, 2022). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که موش‌های تحت مواجهه با گونه‌های *کلادوسپوریوم* دچار احتقان گلومرولی، احتقان کبدی و نوکلئومگالی شدند (Abdallah *et al*., 2020). اسپیسرهای رونویسی داخلی، نواحی در رونویسی RNA ریبوزومی هستند که در حین بلوغ قارچ‌ها قطع می‌شود و برای تحقیقات فیلوژنتیکی جهت شناسایی گونه‌ها استفاده می‌شود (Wang *et al*., 2017).

شناسایی سویه‌های قارچی که وارد پوست، آبشش‌ها و سایر بافت‌های ماهی‌ها می‌شوند، برای درمان‌های ضدقارچی ضروری است. استفاده از کشت‌ها به دلیل شناسایی نادرست بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک، زمان رشد طولانی، حساسیت پایین و نتایج مثبت کاذب، مناسب نیست. بررسی‌های آسیب‌شناسی با استفاده از رنگ‌آمیزی PAS می‌تواند ضایعات قارچی را در نمونه‌های بافتی نشان دهد. با این‌حال، گونه‌های میکروارگانیسم‌ها نمی‌توانند به طور دقیق از طریق آسیب‌شناسی شناسایی شوند. بنابراین، این نتایج برای انجام درمان ضدقارچی مفید نیستند. آزمایش‌های سرولوژیک و PCR از بافت‌ها یا خون برای تشخیص، بدون وجود یک استاندارد حساس، ممکن است دشوار باشند. نمونه‌های PCR منفی می‌توانند با استفاده از

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]
[DOI: 10.22034/11.4.1]

آزمایش هیبریداسیون فلورسانس درجا شناسایی شوند. استفاده از روش‌های مولکولی برای شناسایی عوامل بیماری‌زای قارچی از بافت‌های تثبیت شده در فرمالین و جاسازی‌شده در پارافین ممکن است به تشخیص ضایعات قارچی کمک کند و درمان‌های ضدقارچی مناسب را تسهیل نماید. عوامل قارچی به عنوان بیماری‌های نوظهور در میزبان‌های حیوانی مختلف تحت شرایط همه‌گیر شناسی متفاوت شناخته می‌شوند. در میان سیستم‌های طبیعی و آکواریومی آب شیرین، موارد بیماری در شرایط طبیعی بیشتر از ماهی‌های نگهدای شده در آکواریوم‌ها مشاهده شده است. در برخی از مطالعات قبلی، اکثر موارد قارچ‌ها از پوست، آبشش، کبد و کلیه ماهی‌ها جداسازی شده‌اند که نشان‌دهنده وجود گونه‌های *آسپرژیلوس* به‌عنوان رایج‌ترین قارچ‌ها و سپس گونه‌های *کلادوسپوریوم*، *آلترناریا آلترناتا* و گونه‌های *پنی‌سیلیوم* هستند. همچنین مخمرهای *کاندیدا* بیشترین تعداد عفونت‌های قارچی را از آبشش‌ها و پوست ماهی‌ها نشان داده‌اند (Tartor *et al*., 2018).

ساپرولگنیا قارچ جهانی است که در آب شیرین و شور رشد می‌کند و به‌عنوان مشکل اصلی در آب‌های شیرین شناخته می‌شود. *ساپرولگنیا* در دما و pH پایین و در حضور موجودات یا گیاهان در حال فساد رشد می‌کند. *ساپرولگنیا* در پوست و آبشش‌های ماهیان زندگی می‌کند و به بافت‌های عمقی عضلات نفوذ نمی‌کند. سیستم ایمنی می‌تواند از نفوذ هیف‌های تهاجمی جلوگیری کند (Sarkar *et al*., 2022). در مقابل، هیف‌ها به بافت‌های ماهی‌های مرده آسیب‌دیده وارد می‌می‌کنند. سد مخاطی در جلوگیری از نفوذ قارچ‌های اوومیست به بافت‌های سالم اهمیت زیادی دارد. اسپورهای *ساپرولگنیا* بر روی پوست سالم نمی‌توانند زنده بمانند و از بین می‌روند. کاهش دمای آب، آلودگی با مواد آلی، حمل‌ونقل، تغذیه ضعیف و مدیریت نادرست از عواملی هستند که باعث کاهش توانمندی‌های ایمنی ماهی و در نتیجه تشکیل و نفوذ کلنی‌های قارچی می‌شوند. با وجود تلاش‌های نگارندگان هنوز *ساپرولگنیا* در ماهی‌های آلوده در سطح شهر مشاهده نشد. تنوع قارچ‌های شناسایی‌شده در این تحقیق نسبتاً محدود بود، زیرا دقت نتایج به دلیل استفاده از روش تعیین توالی ژنی افزایش یافته است. در این مطالعه، چهار نمونه از *کلادوسپوریوم*، چهار نمونه از *کاندیدا*، دو نمونه از *پنی‌سیلیوم* و دو نمونه از قارچ‌ها با کمک توالی ژنی معکوس شناسایی شدند و ویژگی‌های آنها در بانک ژن جهانی ثبت شد. این موضوع در تکمیل اطلاعات همه‌گیر شناسی عفونت‌های قارچی ماهیان زینتی و پرورشی اهمیت زیادی دارد. از میان ۴۰ نمونه مورد بررسی در این مطالعه، تقریباً ۸۰٪ از آنها به‌طور قابل‌تشخیصی توالی‌یابی شدند و در بانک ژن ثبت گردیدند. در برخی از موارد، باوجود ضایعات مشابه به *ساپرولگنیا* اولسراتیو، نمونه قارچی جداسازی نشد یا از نظر ژنتیکی تایید نگردید. در نمونه شماره 11F، آزمایش توالی‌سازی در دو مرحله انجام شد و نمونه‌های OL964278 و MZ161202 به عنوان *کاندیدا زیلانوئیدس* در بانک NCBI معرفی شدند. توالی این مخمر ۹۸٪ مشابه با FR676936 و NR-163770 بود که پیش‌تر ثبت شده‌اند. نمونه 21R به عنوان گونه *پنی‌سیلیوم* با کد OL912958 در NCBI ثبت شد که ۹۰٪ مشابه KY552628 بود، که نوعی از *پنی‌سیلیوم* است. به همین ترتیب، نمونه 33F با کد OL912959 به‌عنوان گونه *پنی‌سیلیوم* معرفی شد، اما بیشترین شباهت را به کد MG025872 در NCBI داشت که ۹۸٪ مشابه به *آلترناریا* بود نمونه 81F به‌عنوان گونه *کلادوسپوریوم* معرفی شد که ۱۰۰٪ با نمونه NR-158360 مطابقت داشت. عدم شناسایی دقیق گونه‌های عامل بیماری قارچی در نمونه‌های توالی‌شده شماره‌های ۱۱، ۲۱، ۳۳، ۴۹ و ۵۰ نشان‌دهنده وجود شکاف‌های علمی در تشخیص دقیق عوامل بیماری‌زا و تنوع وسیع این موجودات زنده است. در این رابطه، یافته‌های نگارندگان با گزارش‌های محققانی که اعلام کرده‌اند قارچ *ساپرولگنیا* دارای بیشترین شیوع در ماهی‌های زینتی است، همخوانی ندارد. *کلادوسپوریوم* یک قارچ جهانی، مقاوم و ساپروفیت است. این قارچ می‌تواند در محیط مناسب رشد یابد و پوست، آبشش‌ها، اولسرها و زخم‌ها را آلوده کند. این در حالی است که بهبود زخم در محل‌هایی که هیف‌ها از طریق عروق پوستی حمله کنند، متوقف می‌شوند (Polglase, 2019). در مطالعه دیگری *آسپرژیلوس*، *موکور*، *پنی‌سیلیوم*، *ساپرولگنیا*، *اسکوپولاریوپسیس*، *فوزاریوم*، *کرولاریا* و *ریزوپوس* در دو ماهی زینتی گرمسیری شناسایی شدند (Iqbal and Sajjad, 2013). محققان ایرانی گونه‌های *آلترناریا*، گونه‌های *آسپرژیلوس*، گونه‌های *پنی‌سیلیوم*، *ساپرولگنیا* و سایر گونه‌های قارچ جداسازی شده از تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان را مورد مطالعه قرار دادند (Shahbazian *et al*., 2010). برخی از کپک‌های فرصت‌طلب مانند گونه‌های *فوزاریوم*، *موکور*، *ساپرولگنیا* و *پنی‌سیلیوم* می‌توانند باعث عدم لقاح و مرگ ۲۲ درصد از تخم‌های ماهی استرلیاد شوند (Novakov *et al*., 2018; Magray *et al*., 2020). شیوع بالا در کپور معمولی، گلدفیش،

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]
[DOI: 10.22034/11.4.1]

سیچلاید دهان آتشی، دم شمشیری سبز، گرین ترور، سیلور دالر، اسکار و گوپی احتمالاً با توجه به حجم کم نمونه‌ها اغراق آمیز است. در نتیجه، اندازه نمونه بزرگتر امکان تعیین دقیق‌تر میزان شیوع گونه‌های قارچی را فراهم می‌کند. بسیاری از قارچ‌ها مانند گونه‌های *کلادوسپوریوم* ، *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* فلور قارچی طبیعی هستند که باعث بیماری قارچی می‌شوند. همچنین بیشتر قارچ‌ها پاتوژن‌های فرصت‌طلب در نظر گرفته می‌شوند که به‌ندرت باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند *آسپرژیلوزیس* و عفونت *پنی‌سیلیوم* می‌شوند (Seyedmousavi *et al*., 2013). این عوامل قارچی احتمالاً از طریق محیط زیست و عمدتاً از طریق خوراک ماهی پخش می‌شوند (Saleem *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری

عوامل قارچی در عفونت‌های آکواریومی به عنوان عامل مهمی در تشخیص ضایعات مزمن ماهیان زینتی مطرح هستند. اگرچه گونه‌های *کاندیدا* در این مطالعه بیشتر دیده شدند، اما چندین جنس دیگر از قارچ‌ها نیز نقش مهمی در عفونت‌های فرصت‌طلب دارند. به دلیل تنوع این قارچ‌ها و محدودیت‌های روش‌های شناسایی سنتی، روش‌های تشخیصی مولکولی جامع و کمی، مؤثرترین و کارآمدترین راه‌ها برای شناسایی و شفاف‌سازی عفونت‌های قارچی پیچیده هستند. با بررسی بیشتر ضایعات با استفاده از این تکنیک‌های تشخیصی، ارگانیسم‌هایی که قبلاً با عفونت‌های بالینی ارتباط داده نشده بودند، گزارش خواهند شد و قارچ‌هایی که قبلاً ناشناخته و غیرقابل‌شناسایی بودند، شناسایی خواهند شد. گونه‌های قارچی که در حال حاضر به عنوان عوامل بیماری‌زا شناخته نمی‌شوند، ممکن است در آینده به عنوان عوامل مهم در عفونت‌های پوست یا آبشش ماهیان شناسایی شوند. این بررسی میکروبی نشان می‌دهد که قارچ‌ها به عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب اهمیت بیشتری نسبت به آنچه که قبلاً گزارش شده‌اند، دارند و مطالعه حاضر تأثیر این عوامل بیماری‌زا کمتر گزارش‌شده را نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه، تعیین این مساله بود که هر قارچ بیشتر کدام ماهی‌های تهران را تحت تاثیر قرار می‌دهد و در این رابطه تفاوتی ندارد که عامل جزو فلور یا عامل بیماریزای اولیه باشد. همچنین در این مطالعه در نظر بود که گونه و جنس‌های جدید قارچی شناسایی و معرفی گردند. همچنین مشاهدات نشان داد که بیماری‌های قارچی در مراکز فروش ماهیان زینتی بیشتر ناشی از سوء مدیریت است تا یک عامل بیماری‌زای خاص، زیرا بیشتر عوامل عفونی ناشی از استرس‌های مختلف بوده است. این گزارش هشداری ضروری به صنعت پرورش ماهیان زینتی تهران بود.

منابع

Abdallah, M.T., Khalaf, H.M. and Muhsin, A.H., 2020. Histopathological study of *Cinnamomum zeylanicum equeous* extract and *Cladosporium* sp. Extract on different albino male mice organs. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 928(6), 062007. https://doi.org/10.1088/1757-899X/928/6/062007

Abdulrahman, M.S., Hefny, H.M., Mansy, M.S. and Mekawey, A.A., 2022. Genetic Diversity Of Cladosporium Species Isolated From Air Of Cairo, Egypt Using Microsatellite Primed Pcr (Mp-pcr) And Universally Primed Pcr (Up-pcr) Techniques. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*, 60(1), 7-21. https://doi.org/10.54634/2090-9101.1028

Armwood, A.R., Cañete-Gibas, C.F., Dill-Okubo, J.A., Wiederhold, N.P. and Camus, A.C., 2021. Retrospective study of phaeohyphomycosis in aquarium-housed fish, with first descriptions of *Exophiala lecanii-corni* and *Neodevriesia cladophorae* in fish. *Journal of fish diseases*, 44(10), 1563-1577. https://doi.org/10.1111/jfd.13477

Fafioye, O.O., Fagbohun, T.R. and Olubanjo, O.O., 2008. Fungal infestation and nutrient quality of traditionally smoke-dried freshwater fish. *Turkish Journal of fisheries and Aquatic sciences*, 8(1), 7-13.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

Gjessing, M.C., Steinum, T., Olsen, A.B., Lie, K.I., Tavornpanich, S., Colquhoun, D.J. and Gjevre, A.G., 2019. Histopathological investigation of complex gill disease in sea farmed Atlantic salmon. *PLoS One*, 14(10), e0222926. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222926

Hafez, E., 2016. Saprolegniosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Identification, molecular characterization and phylogenetic analysis of two novel pathogenic *Saprolegnia* spp. strains. *Journal of Aquatic Animal Health*, 29, 43-49. https://doi.org/10.1080/08997659.2016.1259691

Iqbal, Z. and Sajjad, R., 2013. Some pathogenic fungi parasitizing two exotic tropical ornamental fishes. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15 (30).

Ke, X., Wang, J., Li, M., Gu, Z. and Gong, X., 2010. First report of *Mucor circinelloides* occurring on yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) from China. *FEMS Microbiology Letters*, 302(2), 144-150. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01841.x

Kot, A.M., Gientka, I., Bzducha-Wróbel, A., Błażejak, S. and Kurcz, A., 2020. Comparison of simple and rapid cell wall disruption methods for improving lipid extraction from yeast cells. *Journal of Microbiological Methods*, 176, 105999. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105999

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K., 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096

LaDouceur, E.E., Leger, J.S., Mena, A., Mackenzie, A., Gregg, J., Purcell, M., Batts, W. and Hershberger, P., 2020. *Ichthyophonus* sp. Infection in Opaleye (*Girella nigricans*). *Veterinary Pathology*, 57(2), 316-320. https://doi.org/10.1177/0300985819900015

Magray, A.R., Ganai, B.A. and Ahmad, F., 2020. Isolation, identification and pathogenicity patterns of *Mucor hiemalis* in cultured *Cyprinis carpio* communis using challenged system. *Aquaculture*, 518, 734837. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734837

Mohamed, O.G., Khalil, Z.G. and Capon, R.J., 2021. N-Amino-l-Proline Methyl Ester from an Australian Fish Gut-Derived Fungus: Challenging the Distinction between Natural Product and Artifact. *Marine Drugs*, 19(3), 151. https://doi.org/10.3390/md19030151

Novakov, N., Mandić, V., Kartalović, B., Vidović, B., Stojanac, N., Kovačević, Z. and Plavša, N., 2018. Comparison of the efficacy of hydrogen peroxide and salt for control of fungal infections on brown trout (*Salmo trutta*) eggs. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46, 5. https://doi.org/10.22456/1679-9216.82813

Özcan, F. and Arserim, N.B., 2022. Fungal Diseases in Fish. *Black Sea Journal of Agriculture*, 5(1), 48-52. https://doi.org/10.47115/bsagriculture.983345

Polglase, J.L., 2019. Cephalopod Diseases Caused by Fungi and Labyrinthulomycetes. In: GESTAL, C., PASCUAL, S., GUERRA, Á., FIORITO, G. & VIEITES, J. M. (eds.) *Handbook of Pathogens and Diseases in Cephalopods*, 113-122.

Rupp, M., Pilo, P., Müller, B., Knüsel, R., von Siebenthal, B., Frey, J., Sindilariu, P.D. and Schmidt-Posthaus, H., 2019. Systemic infection in European perch with thermoadapted virulent *Aeromonas salmonicida* (*Perca fluviatilis*). *Journal of Fish Diseases*, 42(5), 685-691. https://doi.org/10.1111/jfd.12970

Sakaguchi, S.O., Ogawa, G., Kasai, H., Shimizu, Y., Kitazato, H., Fujikura, K. and Takishita, K., 2019. Molecular identification of water molds (oomycetes) associated with chum salmon eggs from hatcheries in

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

Japan and possible sources of their infection. *Aquaculture International*, 27, 1739-1749 .

Saleem, M.J., Hannan, A. and Qaisar, T.A., 2012. Occurrence of Aflatoxins in Maize Seed under Different Conditions. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(3), 473-476.

Sarkar, P., Raju, V.S., Kuppusamy, G., Rahman, M.A., Elumalai, P., Harikrishnan, R., Arshad, A. and Arockiaraj, J., 2022. Pathogenic fungi affecting fishes through their virulence molecules. *Aquaculture*, 548, 737553. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737553

Seyedmousavi, S., Guillot, J. and De Hoog, G.S., 2013. Phaeohyphomycoses, Emerging Opportunistic Diseases in Animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 19-35. https://doi.org/10.1128/cmr.00065-12

Shahbazian, N., Ebrahimzadeh, M.H., Soltani, M., Khosravi, A.R., Mirzargar, 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 .

Shahraki, M.M., Asgari, M.R., Khamesipour, F. and Raissy, M., 2014. Prevalence of *Argulus foliaceus* and fungal infections in some ornamental fishes [discus (*Symphysodon discus*), dwarf gourami (*Trichogaster lalius*) and guppy (*Poecilia reticulata*)] in Isfahan City of Iran. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 20, 817-820. https://doi.org/10.9775/kvfd.2014.10844

Storesund, J.E., da Silva Nylund, C., Karlsbakk, E., Giulietti, L., Bao, M., Cipriani, P. and Levsen, A., 2022. High prevalence of Ichthyophonus sp. infections in Northeast Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of Fish Diseases*, 45(8), 1243. https://doi.org/10.1111/jfd.13652

Tamura, K. and Nei, M., 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023

Tartor, Y., Taha, M., Mahboub, H. and El Ghamery, M., 2018. Yeast species associated with diseased fish: Occurrence, identification, experimental challenges and antifungal susceptibility testing. *Aquaculture*, 488, 134-144. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.033

Van Burik, J.A., Schreckhise, R.W., White, T.C., Bowden, R.A. and Myerson, D., 1998. Comparison of six extraction techniques for isolation of DNA from filamentous fungi. *Medical Mycology*, 36(5), 299-303. https://doi.org/10.1080/02681219880000471

Wang, M.M., Shenoy, B. D., Li, W. and Cai, L., 2017. Molecular phylogeny of Neodevriesia, with two new species and several new combinations. *Mycologia*, 109(6), 965-974. https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1415075

Yanong, R.P., 2003. Fungal diseases of fish. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 6(2), 377-400. https://doi.org/10.1016/s1094-9194(03)00005-7

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]

Evaluation of the various fungal infection of the skin and gills using pathology, culturing, and molecular fungal DNA sequencing of the freshwater ornamental fish

Ebrahimi Jafari M.[1]; Bayat M.[1*]; Haghighi Khiabanian Asl A.[1]; Hashemi Hazaveh S.J.[1]

*dr_mansour_bayat@yahoo.com

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Specialized Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

In aquaculture, diseases cause tremendous economic losses, and fungal infections are one of the main factors responsible for mortality and economic losses among the ornamental and food fish farming industries. This study focuses on isolating and identifying fungi from different parts of Tehran (I.R. of Iran). The 92 ornamental fish from some pet fish supply stores with clinical signs were selected. The study demonstrated that only 43 of those 92 samples were infected with mold and yeast. The histopathological results revealed that the pathogen established initial infection on and inside the gills, cutaneous and subcutaneous. The special stains were cultured and microscopically examined, followed by PCR and sequencing to detect the fungi. They identified *Cladosporium* spp. (53%), *Candida* spp. (18.7%), *Penicillium* spp. (12.5%), *Aureobasidium pullulans* (3%), and *Rhodotorula* yeast (3%). The sequence data were compared with previously published data for identification with the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) via GenBank. According to the presented study, in 14(63%) cases, there was no similar sample in the NCBI.

Keywords: Mycotic infection, Ornamental fish, Pathology, Culturing, PCR, DNA Sequencing

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-01-08]

[DOI: 10.22034/11.4.1]