شناسایی و مقایسه فراوانی عوامل قارچی جدا شده از تخم ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) استان مازندران

مریم قیاسی*[۱]، حجت اله شکری[۲]، محمد بینایی[۳]، سید محمد وحید فارابی[٤]، علی اصغر سعیدی[٥]

۱*، ۳، ۴، ۵ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران، صندوق پستی: ۹۶۱

۲ - دانشکده دامپزشکی دانشگاه مازندران، آمل، ایران، کدپستی: ۴۹۷۶۷ – ۴۶۱۶۸

تاریخ دریافت: ۲ اردیبهشت ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۴ شهریور ۱۳۹۱

چکیده

عفونت‌های قارچی در هچری ماهیان به عنوان یک بیماری مهم به خوبی شناخته شده است. هدف از این بررسی شناسایی عوامل قارچی مسبب بروز تلفات در هچری ماهیان سفید استان مازندران و نیز تاثیر برخی از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب بر فراوانی آن‌ها بود. طی فصول تکثیر سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ از تخم‌های آلوده به هایف قارچی و نیز آب هچری این ماهیان نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌برداری در هر فصل تکثیر در سه مرحله انجام و در نهایت ۱۳۵۰ عدد تخم قارچ زده و ۴۵ نمونه آب در هر فصل تکثیر (در مجموع ۴۰۵۰ عدد تخم و ۱۳۵ نمونه آب) مورد بررسی قرار گرفت. تخم‌ها در محیط‌های YGC آگار و SD آگار کشت داده شده و در دمای منطبق با دمای هچری گرمخانه گذاری شدند. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مورد بررسی آب نیز شامل اکسیژن محلول، دما، pH، نیترات، نیتریت و یون آمونیوم بودند. نتایج نشان داد تنها قارچ آبزی آلوده کننده تخم ماهی سفید طی سه سال بررسی فقط از جنس ساپرولگنیا بوده است. همچنین مهمترین نمونه‌های قارچ‌های ساپروفیت جداسازی شده به ترتیب فراوانی مربوط به جنس‌های فوزاریوم، پنی سلیوم، آسپرژیلوس، موکور، پسیلومایسس و آلترناریا بوده‌اند. همچنین بیشترین درصد فراوانی جنس ساپرولگنیا در سال ۱۳۸۶ و کمترین آن در سال ۱۳۸۷ بوده است. این در حالی است که درصد فراوانی قارچ‌های ساپروفیت کاملاً عکس این نتیجه بود. در بررسی نتایج فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نیز تفاوت معنی داری ($P<۰/۰۵$) بین دما، اکسیژن محلول، نیترات، نیتریت، یون آمونیوم و pH سال ۸۶ و دو سال دیگر مشاهده شد. بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که فراوانی قارچ‌های آبزی و ساپروفیت‌ها می‌تواند ارتباط مستقیمی با فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب داشته باشد.

کلمات کلیدی: استان مازندران، ماهی سفید، تخم، قارچ.

* عهده دار مکاتبات (✉)، ghiasimaryam4@gmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

مقدمه

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* (Kamensky 1901) یکی از ماهیان با ارزش اقتصادی و در عین حال بومی دریای خزر می‌باشد، لیکن با توجه به مشکلاتی که در مسیر تکثیر طبیعی این ماهی وجود دارد از جمله تخریب اراضی جنگلی و کشاورزی، تخریب پوشش گیاهی حاشیه رودخانه‌ها، تخلیه پساب‌های کشاورزی، شهری و صنعتی به منابع آب‌های جاری، صید بی‌رویه و زیان‌بار ماهیان مولد مهاجر در فصل تولید مثل، به خصوص در مصب رودخانه‌ها و مناطق سفلای آن، کاهش مناطق تخم‌ریزی و افزایش رویش گیاهی در مرداب انزلی، کاهش مسیر مهاجرت ماهی سفید (از ۲۵ کیلومتر به ۸ کیلومتر) در رودخانه به دلیل کاهش دبی آب رودخانه ناشی از آبگیری مستمر برای کشاورزی، تاثیرات مضر زیست محیطی سموم حشره‌کش و علف‌کش و همچنین احداث سد و پل (آذری تاکامی و همکاران ۱۳۶۹؛ پیری و همکاران ۱۳۷۸؛ Emadi, 1979 ؛ Bartley and Ranna, 1998) موجب شده هر ساله مولدین این ماهی در استان‌های مازندران و گیلان از طریق رودخانه‌های محل مهاجرت این ماهی صید و تکثیر به صورت مصنوعی انجام گردد.

پس از انجام لقاح مصنوعی، تخم‌ها برای چند روز در انکوباتورهای سس‌گرین واقع در رودخانه نگهداری و سپس به مراکز تکثیر انتقال و در انکوباتورهای ویس در دمای ۱۶-۱۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. دوره تکامل جنینی ۱۵-۱۰ روز در دمای ۱۶- ۸ درجه سانتی‌گراد و ۶ – ۵ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به طول می‌انجامد (اصلان پرویز ۱۳۷۳؛ رضوی صیاد ۱۳۷۴)، لیکن یکی از مهمترین مشکلات در مسیر تکثیر مصنوعی قارچ‌زدگی تخم‌ها در مرحله انکوباسیون است. عفونت‌های قارچی از هچری تعداد زیادی از ماهیان با ارزش اقتصادی شامل آزاد ماهیان، کپور ماهیان، ماهیان خاویاری و گربه ماهیان گزارش شده‌اند (Bangyeekhun, *et al*., 2001; Czeczuga and Muszynska., 1999a; Czeczuga and Muszynska., 1998; Czeczuga, *et al*., 1995). مطالعات نشان داده است که خسارات ناشی از این نوع عفونت‌ها موجب کاهش راندمان تولید لارو در هچری‌ها می‌شود که میزان آن بسته به درجه حرارت آب، طول دوره انکوباسیون و نوع ماهی از ۱۰ – ۹۰٪ متغیر است (Kitancharoe and Hatai, 1997; Czeczuga and Muszynska., 1998; Bangyeekhun, *et al*., 2001; Van west, 2006). با توجه به درصد بالای تلفات تخم در هچری‌ها و خسارات اقتصادی ناشی از آن‌ها مهمترین مساله کنترل و پیشگیری از بروز این عوامل قارچی است. لذا شناسایی این عوامل و نیز فاکتورهای موثر بر بروز آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. چنین بررسی‌هایی در کشورهای مختلف از جمله اسکاتلند، کشورهای اسکاندیناوی، شیلی، ژاپن، کانادا، لهستان و ایالت متحده در هچری ماهیان مختلف از جمله آزاد ماهیان، کپور ماهیان، ماهیان خاویاری، رفتگر ماهیان (*Cobitid*)، شگ ماهیان (*Clupeide*)، سفید ماهیان (*Corogonid*)، گربه ماهیان و سوف ماهیان انجام شده است (Czeczuga and Muszynska., 1995; Czeczuga, *et al*., 1996; Czeczuga and Muszynska, 1997a; Czeczuga and Muszynska, 1997b; Czeczuga and Muszynska, 1999b; Bangyeekhun, *et al*., 2001; Czeczuga, *et al*., 2001; Chukanhom and Hatai, 2004). در ایران نیز مطالعات متعددی در خصوص جداسازی و شناسایی عوامل قارچی از هچری ماهیان مختلف نظیر قزل آلای

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

رنگین کمان، ماهیان خاویاری و ماهی سفید انجام شده است (شهباز زاده، ۱۳۶۶؛ سادات اخوی، ۱۳۷۲؛ قیاسی و همکاران ۱۳۸۳؛ حسینی ۱۳۸۵؛ قیاسی ۱۳۸۷؛ جلیل پور و همکاران ۱۳۸۸؛ Ghiasi, *et al*., 2007).

مطالعات نشان داده است که عواملی چون ساختار غشای تخم و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نظیر دما، pH، میزان اکسیژن محلول، نیتریت، نیترات و یون آمونیوم، دی اکسید کربن، یون فسفات، کلرید، کلسیم، منیزیم و آهن از عواملی هستند که تاثیر آن‌ها بر فعالیت و دوام قارچ در محیط را نمی‌توان از نظر دور داشت (Czeczuga and Muszynska., 1995; Czeczuga, *et al*., 1996; Czeczuga and Muszynska., 1997a; Czeczuga and Muszynska., 1997b; Czeczuga, *et al*., 2001). استان مازندران به خاطر داشتن دو رودخانه تجن و شیرود و نیز مجتمع تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی یکی از مهمترین مراکز تکثیر این ماهی در حاشیه دریای خزر است. طی مطالعات بر روی آمار این کارگاه در مورد میزان استحصال تخم و تولید لارو مشخص گردیده که ۳۵–۳۰٪ تخم‌های موجود در هچری در اثر بروز عفونت‌های قارچی از بین می‌روند. لذا از آن‌جایی اطلاعات دقیقی از نوع قارچ‌های پاتوژن رایج وجود نداشت و نیز بررسی جامعی در جهت شناسایی عوامل قارچی عامل تلفات در هچری‌ها و نیز فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب صورت نگرفته بود، طی فصل تکثیر سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ از هچری ماهیان سفید این مرکز نمونه‌برداری به عمل آمد. این مطالعه با این رویکرد برای اولین بار انجام شده و برای بررسی تاثیرات عوامل محیطی بر فراوانی و گسترش عوامل قارچی تلفات تخم در این مرکز نیاز به تحقیقات بیشتری وجود دارد.

مواد و روش‌ها

۱- آزمایش‌های قارچ شناسی

۱-۱- نمونه برداری: نمونه برداری طی سه مرحله هر ۲۰ روز یکبار با آغاز فصل تکثیرانجام شد. در هر مرحله تعداد ۱۵ ویس (حاوی ۴۰۰ – ۳۰۰ گرم تخم) به صورت تصادفی انتخاب و از هریک تعداد ۳۰ عدد تخم قارچ زده برداشت گردید و به ظروف پلاستیکی حاوی آب مقطر استریل انتقال داده شد.

۱-۲- جداسازی و تخلیص: پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، ابتدا تخم‌ها از ظروف پلاستیکی خارج و سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس نمونه ها در پلیت‌های حاوی Yeasr extract glucose chloramphenicol agar (YGC) کشت داده شده و به مدت ۷–۵ روز در گرمخانه در حرارت ۱۷–۱۵ درجه سانتی‌گراد (هم دما با محیط هچری در زمان نمونه‌برداری) نگهداری شدند. پس از این مرحله پرگنه‌های قارچی رشد یافته در اطراف پوسته هر تخم شمارش و جهت خالص‌سازی از خارجی‌ترین بخش هر پرگنه با استفاده از آنس استریل بخشی از میسلیوم برداشت شده و مجددا به داخل محیط Sabouraud 4% dexterose agar (SD) حاوی آنتی‌بیوتیک کشت داده شد و در همان درجه حرارت گرمخانه گذاری گردید. طی دوره گرمخانه گذاری کشت مرحله دوم (خالص سازی) خصوصیات ماکروسکوپی پرگنه‌ها (رنگ و قوام) روزانه مورد بررسی قرار گرفت تا از آلودگی ثانویه جلوگیری شود.

۱-۳- شناسایی: پس از کامل شدن رشد پرگنه‌ها جهت بررسی میکروسکوپی، قسمتی از پرگنه‌های به دست آمده بر روی لام حاوی لاکتوفنل – کاتن بلو قرار داده شد و با لامل سطح آن پوشیده گردید و در

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (Kitancharoen and Hatai, 1997; Dayal, 2001; Roberts, 2001). شناسایی قارچ‌ها با استفاده از کلید شناسایی و منابع موجود صورت گرفت (Samson, *et al*., 2000; Dayal, 2001).

۲- آزمایش‌های مربوط به فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

۲-۱- نمونه برداری: برای اندازه گیری اکسیژن محلول آب هچری ۲۵۰ میلی لیترآب برداشت و به روش وینکلرتثبیت گردید و برای بقیه پارامترها در ظروف پلاستیکی با حجم یک لیتر نمونه‌های آب اخذ گردید.

۲-۲- سنجش پارامترهای مختلف: برای اندازه‌گیری درجه حرارت آب ترمومتر جیوه‌ای به مدت یک دقیقه در داخل آب نگهداری و درجه حرارت برحسب سانتی‌گراد ثبت گردید. پس از نمونه‌برداری از آب pH با استفاده از دستگاه پرتابل pH meter MP120FK قرائت و ثبت گردید. اکسیژن محلول آب با استفاده از روش وینکلر، نیترات با استفاده از روش ستون کاهشی کادمیوم، نیتریت با استفاده از روش برن اشنایدر رابینسون و یون آمونیوم با استفاده از روش هپتا مولیبدات اندازه‌گیری و مقدار آن‌ها بر حسب میلی‌گرم در لیتر قرائت و ثبت گردید (Clesceri, *et al*., 2005).

۳ - تجزیه و تحلیل آماری

این بررسی در سه سال مختلف (۱۳۸۵، ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷) به انجام رسید. جهت زیر پوشش قرار دادن مرکز تکثیر شهید رجایی از ۱۰٪ کل ویس های موجود (تعداد ۱۵ عدد) نمونه‌برداری به عمل آمد. بدین ترتیب که در هر سال (در سه فاصله زمانی ۲۰ روزه) ۴۵ نمونه (هر نمونه حاوی ۳۰ عدد تخم قارچ زده) از هر ویس(انکوباتور شیشه‌ای) برداشت گردید. تعداد کل تخم‌های قارچ زده در هر سال ۱۳۵۰ عدد بود. شناسایی و شمارش قارچ‌ها در هر سال انجام شد و درصد فراوانی هر گونه قارچی نسبت به کل قارچ‌های شناسایی و شمارش شده، محاسبه گردید. همچنین از آب انکوباتورها در هر مرحله نمونه‌برداری و فاکتورهای pH، دمای آب، اکسیژن محلول، نیترات، نیتریت و آمونیوم تعیین شد. از آن‌جا که داده‌های مربوطه از توزیع نرمال برخوردار بودند (Shapiro-Wilk)، از روش پارامتریک استفاده شد. جدول آنالیز واریانس تهیه و مقایسه میانگین‌ها تحت آزمون دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت (NIST/ SEMATECH, 2010).

نتایج

نتایج نشان داد گونه‌های ساپرولگنیا، فوزاریوم سولانی، فوزاریوم کولموروم، گونه‌های فوزاریوم، پنی سلیوم، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس نایجر، گونه‌های آسپرژیلوس، پسیلومایسس، موکور و آلترناریا عمده عوامل قارچی موجود در هچری ماهیان سفید هستند. در جدول ۱ فراوانی عددی و نسبی هریک از عوامل فوق به تفکیک نشان داده شده است.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

جدول ۱: فراوانی عوامل قارچی جداسازی شده از تخم ماهیان سفید طی سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷

سال / گونه قارچی	۱۳۸۵		۱۳۸۶		۱۳۸۷	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Saprolegnia sp.	۱۰۱۲	۷۵	۱۱۷۴	۸۷	۹۳۱	۶۹
F. culmorum	۴۰	۳	۱۳	۱	۳۵	۲/۶
F. solani	۱۲۲	۹	۳۲	۲/۵	۱۵۵	۱۱/۵
Fusarium sp.	۱۸	۱/۴	۱۴	۱	۴۷	۳/۵
Paeciliomyces sp.	۳۰	۲/۱	۲۳	۱/۷	۳۵	۲/۶
Penicillium sp.	۵۸	۴/۳	۵۱	۳/۸	۶۴	۴/۷
A.flaus	۱۴	۱	۱۱	۰/۸	۲۳	۱/۷
A. niger	۱۳	۱	۸	۰/۵	۱۰	۰/۷
Aspergilus sp.	۱۰	۰/۷	۳	۰/۲	۱۷	۱/۳
Mucor sp.	۲۰	۱/۵	۱۴	۱	۱۹	۱/۴
Alternaria sp.	۱۴	۱	۷	۰/۵	۱۴	۱
جمع	۱۳۵۰	۱۰۰	۱۳۵۰	۱۰۰	۱۳۵۰	۱۰۰

با توجه به آن‌چه که در جدول ۱ آمده است مشخص می‌گردد که از قارچ‌های آبزی از خانواده ساپرولگنیاسه تنها جنس ساپرولگنیا شناسایی شد و جنس‌های دیگر از این خانواده مانند آفانومایسس و آکلیا مشاهده نشدند. همچنین این جنس بیشترین درصد عامل قارچی جداسازی شده را در هر سال به خود اختصاص داده است. بعد از جنس ساپرولگنیا، جنس فوزاریوم فراوانترین عامل قارچی جداسازی شده است و در بین گونه‌های شناسایی شده بیشترین سهم به ترتیب مربوط به فوزاریوم سولانی و فوزاریوم کولموروم است. بعد از گونه‌های فوزاریوم به ترتیب گونه‌های پنیسلیوم، آسپرژیلوس، پسیلومایسس، موکور و آلترناریا بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. در مقایسه بیشترین میزان جداسازی جنس ساپرولگنیا در سال ۱۳۸۶ و کمترین آن در سال ۱۳۸۷ بوده است. این درحالی است که میزان جداسازی عوامل ساپروفیت در سال ۸۷ بیشترین فراوانی را داشته‌اند. در بررسی میکروسکوپیک ۳۵٪ نمونه‌های ساپرولگنیا، هایف‌های پهن، منشعب و بدون دیواره عرضی مشاهده شد که در انتها به اسپورانژیوم‌های بیضی کشیده در اندازه‌های مختلف منتهی می‌شدند. لیکن در ۴۵٪ نمونه‌های ساپرولگنیا جدا شده در انتهای هایف‌های موجود گامه‌های متعدد و متوالی (catenulated gammae) در تعداد حداقل ۲ تا حداکثر ۴ گامه مشاهده شد. همچنین مشخص گردید با این‌که بیشترین درصد فراوانی مربوط به قارچ ساپرولگنیا است، بیشترین میزان جداسازی این قارچ در مرحله اول و یا دوم نمونه‌برداری بود و در مراحل آخر نمونه‌برداری معمولاً بیشترین پرگنه‌های قارچی جداسازی شده مربوط به نمونه‌های ساپروفیت بود.

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در جدول ۲ آورده شده است. نتایج حاصل از

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

بررسی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نشان می‌دهد که میانگین pH، نیتریت، نیترات، یون آمونیوم و حرارت ثبت شده در سال ۱۳۸۶ به طور معنی‌داری کمتر از دو سال ۱۳۸۵ و ۱۳۸۷ بوده است (P<۰/۰۵). ولیکن میزان اکسیژن محلول در سال ۸۶ به طور معنی‌داری از مقدار ثبت شده این فاکتوردر سال‌ها ۱۳۸۵ و ۱۳۸۷ بیشتر بوده است (P<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه میانگین فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب هچری ماهیان سفید طی سال‌های ۱۳۸۷ – ۱۳۸۵

سال / فاکتور	۱۳۸۵	۱۳۸۶	۱۳۸۷
O2 (mg l^{-1})	^{b}۹/۶ ± ۰/۲	^{b}۱۰/۱ ± ۰/۲	^{a}۸/۸ ± ۰/۱
pH	^{b}۷/۸ ± ۰/۰۳	^{a}۷/۷۱ ± ۰/۰۲	^{b}۷/۹۱ ± ۰/۰۸
NO2-(mg l^{-1})	^{b}۰/۵۷ ± ۰/۰۰۹	^{a}۰/۰۲ ± ۰/۰۰۶	^{b}۰/۰۷ ± ۰/۰۰۶
NO3-(mg l^{-1})	^{b}۰/۶۷ ± ۰/۰۱	^{a}۰/۸۴ ± ۰/۰۴	^{b}۰/۶۳ ± ۰/۰۲
NH4+(mg l^{-1})	^{b}۰/۲۳ ± ۰/۰۱	^{a}۰/۱۲ ± ۰/۰۱	^{b}۰/۲۴ ± ۰/۰۱
حرارت(C°)	^{b}۱۷/۵ ± ۰/۶	^{a}۱۶ ± ۰/۳	^{b}۱۸/۴ ± ۰/۲

a→b معنی دار است

بحث

قارچ‌زدگی تخم در شرایط تکثیر مصنوعی یکی از بزرگترین معضلات در مسیر تولید لارو و بچه ماهی است. حساسیت تخم ماهیان به عفونت‌های قارچی اغلب بستگی به کیفیت آب، طول دوره انکوباسیون، نوع ماهی و میزان تراکم و ساختار تخم دارد (Post, 1983; Kitancharoen and Hatai, 1997; Czeczuga and Muszynska, 1999b; Bangyeekhun, *et al*., 2001). طی این بررسی مشخص گردید که جنس ساپرولگنیا مهمترین سهم را در آلوده نمودن تخم ماهیان سفید داشته است. این موضوع دقیقا با نظریه دیگر محققین مطابقت دارد که قارچ‌های متعلق به جنس ساپرولگنیا بیشترین عفونت را در تخم ماهیان در آب شیرین ایجاد می‌کنند (Neish and Hughes, 1980; Yuasa and Hatai, 1995; Bruno and Wood, 1999; Hussien and Hatai, 2002). از مهمترین فاکتورهای مستعد کننده بروز عفونت‌های ناشی از ساپرولگنیا در تخم می‌توان به درجه حرارت اشاره نمود. معمولاً بروز ساپرولگنیازیس در حرارت‌های کمتر از ۱۸ درجه سانتی‌گراد روی می‌دهد و بیشترین بروز آن در درجه حرارت ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد چراکه تولید زئواسپور با افزایش درجه حرارت کاهش می‌یابد (Yuasa and Hatai, 1995; Roberts, 2001; Espeland and Hansen, 2004). این مساله کاملاً یافته‌های ما در این تحقیق را تایید می‌کند چراکه جداسازی این قارچ عمدتاً در اوایل فصل تکثیر که درجه حرارت آب پایین‌تر بود و نیز در سال ۱۳۸۶ که متوسط حرارت در زمان نمونه‌برداری به طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) کمتر از دو سال دیگر بوده است، مشاهده شد. همچنین کمترین میزان ساپرولگنیا جداسازی شده متعلق به سال ۱۳۸۷ است که فصل تکثیر در مقایسه با دو سال دیگر کمی با تاخیر آغاز و از همان ابتدا در درجه حرارت آب بالاتر

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

بود. البته این به این معنی نیست که این قارچ قادر به رشد در حرارت‌های بیش از ۱۸ درجه سانتی‌گراد نباشد چرا که گزارش‌های متعددی از بروز عفونت‌های قارچی تاشی از ساپرولگنیا در ماهیان پرورشی مناطق گرمسیری و تخم آن‌ها مانند تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و دروم قرمز(*Sciaenops ocellatus*) وجود دارد که درجه مطلوب رشد قارچ ۳۰ – ۲۵ درجه سانتی‌گراد عنوان گردیده است (Leano, *et al*., 1999; Panchi, 2010). لیکن در بررسی که قیاسی (۱۳۸۷) در مورد خصوصیات ژنتیکی و فیزیولوژیکی گونه‌های ساپرولگنیا جداسازی شده از تخم ماهی قره برون، قزل‌آلا و ماهی آزاد دریای خزر داشت، مشخص شد هرچند برخی نمونه‌های ساپرو-لگنیا جدا سازی شده از هچری این ماهیان از یک گونه بوده و ساختار ژنتیکی یکسانی دارند لیکن درجه حرارت مطلوب برای رشد آن‌ها کاملاً با یکدیگر متفاوت و کاملاً منطبق با حرارت مناسب برای هچری هر ماهی است. به عبارت دیگر ساپرولگنیا برای رشد قادر به عادت پذیری به شرایط حرارتی محیطی است که در آن رشد می‌کند (Chukanhom and Hatai, 2004). Hatai و Hoshiai (۱۹۹۳) نشان دادند که ارتباطی بین قدرت بیماری‌زایی و خصوصیات مورفولو-ژیکی در گونه‌های ساپرولگنیا وجود دارد به طوری که قدرت بیماری‌زایی ساپرولگنیا پارازیتیکا به خاطر داشتن زئواسپورهای پوشیده از موهای بلند در مقایسه با ساپرولگنیا دیکلینا که فاقد چنین زئواسپورهایی است در ماهیان کوهو سالمون بیشتر است. در بررسی دیگری که توسط Yuasa و همکاران (۱۹۹۵) بر روی قدرت بیماری‌زایی نمونه‌های مختلف ساپرولگنیا پارازیتیکا انجام شد، مشخص گردید نمونه‌هایی که قادر به تولید گامه‌های متعدد و متوالی (catenulated gammae) هستند بیماری‌زایی بیشتری داشته و در عفونت تجربی در لارو قزل‌آلای رنگین کمان ۱۰۰ – ۹۳٪ ایجاد تلفات می‌کنند. این گامه‌ها در واقع بخشی از تکثیر غیر جنسی قارچ هستند که به سرعت موجب انتشار آن می‌گردند و حضور آن‌ها در دیگر گونه‌های ساپرولگنیا کمتر مشاهده شده است. چنین نمای میکروسکوپی در ۴۵٪ از نمونه‌های ساپرولگنیا اخذ شده از تخم ماهیان سفید مشاهده گردید. با توجه به این‌که در مطالعات قبلی در جداسازی و شناسایی قارچ‌های آبزی از تخم ماهیان سفید ساپرولگنیا پارازیتیکا جداسازی و شناسایی گردیده است (Ghiasi, *et al*., 2007)، لیکن از آنجایی که آزمایشات تایید کننده در این بررسی انجام نگردید نمی‌توان با قاطعیت نمونه‌های فوق را ساپرولگنیا پارازیتیکا قلمداد نمود.

Czeczuga و همکاران (۱۹۹۸، ۱۹۹۹b، ۲۰۰۱، ۲۰۰۴) مطالعات متعددی در خصوص تاثیر فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب از جمله pH، اکسیژن محلول، میزان نیتریت، نیترات و آمونیوم بر فراوانی قارچ‌های آبزی خصوصاً گونه‌های ساپرولگنیا در تخم آزاد ماهیان، کپور ماهیان و سوف ماهیان انجام دادند. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد آب‌هایی که pH خنثی‌تر، اکسیژن محلول و یون نیترات بیشتر و نیز یون نیتریت و آمونیوم کمتری دارند برای رشد این گروه از قارچ‌ها مناسب‌تر هستند. نتایج بررسی این فاکتورها در این مطالعه نیز نشان می‌دهد که کمترین میزان pH، بیشترین میزان اکسیژن محلول و یون نیترات و نیز کمترین میزان یون نیتریت و آمونیوم نیز مربوط به سال ۸۶ است که بیشترین جداسازی ساپرولگنیا در آن بوده است.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

در این بررسی قارچ‌های دیگری از گروه ساپروفیت‌ها نیز جداسازی شد که مهمترین آن‌ها فوزاریوم سولانی، فوزاریوم کولموروم و گونه‌های فوزاریوم بود. Monayama (۱۹۸۷) و Czeczuga و Muszynska (۱۹۹۹b) فوزاریوم کولموروم را به ترتیب از تخم میگوی ژاپنی (*Penaeus japonicus*) و نیز تخم گروهی از آزاد ماهیان (*Coregonus*) جداسازی و شناسایی نمودند. در ایران نیز حضور گونه‌های فوزراریوم از هچری تاسماهی ایرانی (*Acipencer persicus*) و فوزاریوم سولانی، پوئه و اکسیسپاروم از هچری قزل‌آلای رنگین کمان گزارش شده است (حسینی ۱۳۸۵؛ جلیل پور ۱۳۸۸؛ Shahbazian, *et al*., 2010). این در حالی است که فوزاریوم کولموروم به عنوان عامل مایکوز جلدی در کپور معمولی (جلیل پور، ۱۳۸۸) و فوزاریوم سولانی به عنوان عامل عفونت در کانال خط جانبی کوسه سرچکشی صدفی (*Sphyma lewini*) (Crow, *et al*., 1995) جداسازی و شناسایی شده‌اند. علاوه بر این دو گونه فوزاریوم، گونه‌های دیگر این قارچ به عنوان عامل عفونت در کیسه شنای گونه‌هایی از آزاد ماهیان (*Salmonids*) (جلیل پور، ۱۳۸۸) و نیز عامل عفونت کلیوی در بچه ماهیان سیم قرمز(*Pagrus* sp.) (Hatai and Kubata, 1986) گزارش شده است. در این تحقیق مشاهده شد که ساپرولگنیا در محیط‌های آلوده به فوزاریوم از رشد کمتری نسبت به محیط‌های مشابه برخوردار است هر چند که رابطه بین فوزاریوم و ساپرولگنیا به درستی مشخص نیست ولی در تحقیقات مشابهی مشاهده شده که در محیط آب فوزاریوم از رشد ساپرولگنیا می‌کاهد (Muller and Whisler, 1994) که این مساله یافته ما را در این تحقیق تایید می‌کند.

از دیگر ساپروفیت‌های جداسازی شده در این بررسی می‌توان به گونه‌های آسپرژیلوس و پسیلومایسس اشاره نمود. لازم به ذکر است که حضور گونه‌های این دو جنس در هچری ماهیان خاویاری و قزل‌آلای رنگین کمان در ایران نیز گزارش شده است (حسینی ۱۳۸۵؛ جلیل پور ۱۳۸۸؛ Shahbazian, *et al*., 2010). در عین حال بعضی از گزارشات بیماری‌زایی گونه‌های این دو قارچ را در ماهیان مختلف نشان داده است که در این خصوص به مایکوز کلیوی ناشی از پسیلومایسس در یک تیلاپیای قرمز هیبرید (Lightner, *et al*., 1988)، عفونت سیستمیک ناشی از پسیلومایسس در تیلاپیای آبی (*Tilapia aurea*) و تیلاپیای موزابیک (*T. mossambica*) (Rand, 2000) و مایکوز جلدی ناشی از گونه‌های آسپرژیلوس و پسیلومایسس در نمونه‌های از ماهیان پرورشی آب شیرین، گونه‌های *Oreochromis* و *Clarias gariepinus* (Refai, *et al*., 2010) می‌توان اشاره نمود. گونه‌های پنیسیلیوم، موکور و آلترناریا نیز از گروه قارچ‌های ساپروفیت جداسازی شده در این بررسی بودند که حضور آن‌ها در مطالعات قبلی نیز از هچری ماهیان خاویاری و استخوانی در این گزارش شده است (حسینی، ۱۳۸۵؛ جلیل‌پور، ۱۳۸۸؛ Shahbazian, *et al*., 2010)، لیکن گزارشی مبنی بر بیماری‌زا بودن این قارچ‌ها در ماهیان تاکنون ثبت نگردیده است. نکته دیگری که در این بررسی مشاهده گردید آن بود که همانند فوزاریوم، پنیسلیوم نیز در محیط کشت قادر به به ممانعت رشد ساپرولگنیا بود ولی تاکنون گزارشی در این خصوص مشاهده نشده

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

است و لازم است جهت بررسی اثرات آنتاگونیستی این قارچ بر رشد ساپرولگنیا بررسی‌های دقیق‌تری صورت گیرد.

با توجه به نتایج این بررسی به نظر می‌رسد مهمترین قارچ عامل تلفات در هچری ماهیان سفید گونه‌های ساپرولگنیا بوده و سایر عوامل قارچی نقش کمتری در این زمینه داشته و بیشتر فلور آب هستند.

این بررسی برای اولین بار و به این ترتیب در خصوص عوامل قارچی بیماری‌زا در هچری ماهیان سفید در مجتمع تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی انجام شده است. لذا جهت مطالعه دقیق‌تر در خصوص عوامل مستعد کننده و روش‌های کنترل قارچ زدگی در تخم ماهی سفید نیاز به تحقیقات جامع و گسترده‌تری وجود دارد.

سپاسگزاری

در اینجا لازم از است از کلیه همکاران شاغل در بخش تکثیر ماهیان استخوانی مجتمع شهید رجایی خصوصاً جناب آقای مهندس مخدومی که ما را صمیمانه در انجام این امر یاری نمودند تقدیر و تشکر بنماییم.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، رضوی، ب.، حسین پور، ن.، ۱۳۶۹. مطالعه تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی سفید در ایران. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره چهل و پنجم، شماره۱، ۹۰ – ۶۹ .

۲. اصلان پرویز، ح .، ۱۳۷۳. تکثیر مصنوعی ماهی سفید دریای خزر Rutilus frissii kutum. مجله آبزیان، سال چهارم، شماره دوازدهم، صفحات ۲۹ – ۲۸.

۳. پیری، م.، نظامی، ش.، اردق، و.، ۱۳۷۸، تاثیر دیازینون و مالاتیون منطقه مصبی و ساحلی روی مرگ و میر بچه ماهیان سفید. مجله علمی شیلات، دوره هفتم، شماره چهارم، صفحات ۱۸ – ۹.

۴. جلیل پور، ج.، خسروی، ع. ل.، ابراهیم زاده موسوی، ح. ع.، شناور ماسوله، ع. ر.، ۱۳۸۸، بررسی میزان فراوانی و شناسایی عوامل قارچی تخم و لارو تاسماهی ایرانی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سال ۱۳۸۶، مجله علمی شیلات ایران، دوره هجدهم، شماره سوم، صفحات ۴۲ – ۳۵.

۵. حسینی، س. م.، ۱۳۸۵. جداسازی و شناسایی گونه‌های ساپرولگنیا از تخم‌های آلوده به قارچ قزل آلای رنگین کمان مزارع استان مازندران، پایان نامه دکترای تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات، ۱۸۰ ص.

۶. رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۴. ماهی سفید(Rutilus frisii kutum)، موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران.

۷. سادات اخوی، ر.، ۱۳۷۲، بررسی آلودگی‌های قارچی تخم تاس ماهیان کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شهید بهشتی، پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲۲۲۵، ۱۱۰ ص.

۸. شهباز زاده، د.، ۱۳۶۶، بررسی آلودگی با قارچ ساپرولگنیا در تخم ماهیان کارگاه‌های پرورش قزل آلای رنگین کمان جاجرود، پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۷۱۹، ۱۱۷ ص.

۹. قیاسی، م.، خسروی، ع. ر.، یوسفیان، م.، ۱۳۸۳. اولین گزارش از عفونت قارچی ناشی از ساپرولگنیا و آفانومایسس در هچری ماهیان قزل آلای رنگین کمان رودخانه هراز، مجموعه مقالات اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه نهران، صفحات ۵۲۳ - ۵۲۲ .

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

۱۰. قیاسی، م.، ۱۳۸۷. تعیین الگوی مولکولی و پروتئینی قارچهای آبزی بیماریزا (ساپرولگنیا) جدا شده از تخم آلوده ماهیان خاویاری و استخوانی مراکز تکثیر و پرورش استان مازندران، پایان نامه دکترای تخصصی دامپزشکی در رشته قارچ شناسی، دانشگاه تهران، شماره ۳۴۳، ۱۲۰ ص.

۱۱. کازرونی، م.، ۱۳۷۶. بررسی نرماتیو تکثیر ماهی سفید در رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران، اداره کل آموزش و ترویج، ۴۱ ص.

12. Bangyeekhun, E., Quiniou, S. M. A., Bly, J. E., Cerenius, L., 2001. Characterisation of Saprolegnia sp. Isolates from channel catfish. Diseases of aquatic organisms, vol.45, pp. 53 -59.
13. Bartley, D. M., Rana, K., 1998. Evaluation of artificial rehabilitation of the Caspian Sea fisheries and genetic resource management in aquaculture and fisheries of the Islamic Republic of Iran. Report prepared for Shilat (Fisheries Department), Ministry of Jihad-e-Sazandagi, Islamic Republic of Iran, Food and Agriculture Organization, Rome, pp. 35.
14. Bruno, D. W., Wood, B. P., 1999. Fish Diseases and Disorder, Vol. 3, CAB International, UK, pp. 599 – 659.
15. Clesceri, L. T., Greenbery, A. E., Eaton, A. D., 2005., Standard Methods for the examination of water and waste water, 21th edition, American Public Health Association, Portcity Press, Baltimor, Maryland, USA, pp. 2800.
16. Chukanhom, K., Hatai, K., 2004. Freshwater fungi isolated from eggs of the common carp (Cyprinus carpio) in Thailand. Mycoscience, Vol. 45, pp. 42 - 48.
17. Crow, G. L., Brock, J. A., Kaiser, S., 1995. *Fusarium solani* fungal infection of the lateral line canal system in captive scalloped hammerhead sharks (*Sphyma lewini*) in Hawaii, Journal of Wildlife Diseases, Vol. 31, No. 4, pp. 562 – 565.
18. Czeczuga, B., Muszynska, E., Wossughi, G. H., Kamaly, A. G., Kiziewicz, B., 1995. Aquatic fungi growing on the eggs of several species of Acipenserid fishes. ACTA Icthyologica Et Piscatoria, Vol. XXV, No.2, pp. 71 – 79
19. Czeczuga, B., Muszynska, E., 1996. Growth of zoosporic fungi of the eggs of north Pasific salmon of the genus *Oncorhynchus* in laboratory condition. ACTA Icthyologica Et Piscatoria, Vol. XXVI, No. 1, pp. 26 – 37.
20. Czeczuga, B., Muszynska, E., Tryggvadottir, S. V., 1996. Aquatic fungi growing on the eggs on nine *salmonid* species of the genus *Huco*, *Salmo* and *salvelinus*, Acta Icthyologica Et Piscatoria, Vol. XXVI, No.2, pp.113 – 121.
21. Czeczuga, B., Muszynska, E., 1997a. Aquatic fungi growing on the eggs of polish Cobitid fish species, Acta. hydrobiol, Vol.39, No.3 / 4, pp. 67–75.
22. Czeczuga, B., Muszynska, E., 1997b. Aquatic fungi growing on the eggs of some anadromus fish species of the family *Clupeidae*. ACTA Icthyologica Et Piscatoria. Vol. XXVII, No.1, pp. 83 – 93.
23. Czeczuga, B., Muszynska, E., 1998. Aquatic fungi growing on *Corogonid* fish eggs, ACTA Icthyologica Et Piscatoria. Vol. XXIX, No.2, pp. 53 – 72.
24. Czeczuga, B., Muszynska, E., 1999a. Aquatic fungi growing on the eggs of 33 Cyprinid Taxa (*Cyprinideae*) in laboratory condition, ACTA Icthyologica Et Piscatoria, Vol. XXIV, No. 2, pp. 53 – 72.
25. Czeczuga, B, Muszynska, E., 1999b. Aquatic fungi growing on Percid fish eggs (*Percidae*) in Poland. Polish Journal Environmental Studies, Vol. 8, No. 1. pp. 31–34.
26. Czeczuga, B., Pietrucha, M., Muszynska, E., 2001. Zoosporic fungi growing on the eggs of *Coregonus lavaretus maranea* (Block 1779) from Leak Miedwie in Pomernia. Acta Ichthol. Piscat. Vol. 31, No. 1, pp. 141 – 150.
27. Czeczuga, B., Kiziewicz, B., Godlewska, A., 2004. Zoosporic fungi growing on eggs of *Coregonus lavaretus holsatus* Thienemann, 1916 from Lake Wdzydze in Kaszby, Polish Journal of Environmental studies. 13 (4), pp. 355 – 359.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

28. Dayal, R., 2001. A manual of aquatic fungi, Chawla offset printers, Dehli, India, pp. 96 – 205.
29. Emadi, H., 1979. The state of the fishing and reproduction of the kutum, Rutilus frisii kutum, in the Caspian Sea of Iran, Journal of Ichthyology, Vol. 19. No. 4, pp.151-154.
30. Espeland, S., Hansen, P., 2004. Prevention Saprolegnia onRainbow trout eggs, Bsc thesis, natturuvisindadeildin faroe, Island
31. Ghiasi, M., Khosravi, A.R., Farabi, M.V., 2007. Isolation and identification Saprolegnia parasitica from southern Caspian kutum hatcheries in Mazandaran province. Aquaculture Europe, vol.9, 217p.
32. Hatai, K., and Hoshiai, G., 1993. Characteristics of two *Saprolegnia* species isolated from coho salmon with saprolegniasis. Journal Aquatic Animal Health. 5, pp. 115 – 118.
33. Hatai, K. and Kubota, 1986. *Fusarium oxysporum* in red sea bream (*pagrus* sp.). Journal of Wildlife Diseases. 22(4), 570–571.
34. Hussien, M. M. A., Hatai, K., 2002. Pathogenicity of *Saprolegnia* species associated with outbreaks of salmonid saprolegniasis in Japan, Fisheries Science, 68: pp. 1067 – 1072.
35. Kitancharoen, N., Hatai, K., 1997. Aquatic fungi developing on eggs of salmonids, Journal of Aquatic Animal Health, pp. 314-316.
36. Leano, E., Vrijmode, L. P., Jones, E. B. G., 1999. *Saprolegnia diclina* isolated frompond cultured red drum (*Scianeops ocellatus*) in Hong Kong, Mycology Recerch. 103 (6), pp. 701 – 706.
37. Lightner, D. L., Redman, R. M., Mohney, L., 1988. A renal mycosis of an addalt hybrid red tilapia, *Oreochromis mossambicus* × *O. Hornorum*, caused by the imperfect fungus, *Paecilomyces marquandii*.
38. Mueller, G. J., Whisler, H. C., 1994. Fungal parasites of salmon from the Columbia River watershed. Salmon Saprolegniasis. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration Portland, Oregon, pp. 163 - 187.
39. Neish, G. A., Hughes, G. C., 1980. Disease of fish, Book 6, Fungal disease of fish, T.W.F publication, Neptun, New jersey, pp. 159.
40. NIST/SEMATECH., 2010. Statistical Methods, e-Handbook . http://www.itl.nist.gov/ div898/handbook/, date. The National Institute of Standards and Technology (NIST) is an agency of the U.S. Commerce Department. Date created: September 12, 2008 | Last updated: November 11, 2010.
41. Panchai, K., Hanjavanit, C., Kitancharoen, N., 2010. http://ablogware.info/2011/ts-5-characteristics-of-saprolegnia-diclina-isolated-from-eggs-of-tilapia-oreochromis-niloticus-linn-hngx/.
42. Post, G. W., 1983. Texbook of fish health, TFH publication, Neptune city, NJ, pp. 265.
43. Rand, T. G., 2000. A Hyphomycet fungus, Paecilomyces lilacinus, associated with wasting disease in two species of tilapia from Puerto Rico, Journal of Aquatic Animal Health, 12, pp. 149 – 156.
44. Refai, M. K. L, Laila, A., Mohamed2, Amany, M., Kenawy2, Shimaa, El-S. M. A., 2010. The Assessment Of Mycotic Settlement Of Freshwater Fishes In Egypt. Journal of American Science, 6(11), pp. 595-602.
45. Roberts, R. Y., 2001. Fish pathology, third edition, sunders,UK, Chapter 12, pp. 380-412.
46. Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., Filtenborg, O., 2000. Introdaction to food and airborn fungi, 6 edition, centraalbureau voor schimmelculture publication, Wageningen, Netherlans, pp. 389.
47. Shahbazian, N., Ebrahimzadeh Mosavi, H. A., Soltani, M., Khosravi, A. R., Mirzargar, S., Sharifpour, I., 2010. Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah Province with emphasis on Saprolegniaceae. Iranian journal of Fisheries Science. Vol. 9, No.1, pp.151 – 160.
48. Van west, P., 2006. *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]

fish appetite: new challenges for an old problem. Mycologist, Vol. 20, pp. 99 – 104.
49. Yuasa, K., Hatai, K., 1995. Relationship between pathogenicity of saprolegnia sp. isolates to Rainbow trout and their biological characteristics. Fish pathology, Vol.2, No. 30, pp. 101-106.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1391.6.1.6.8]