magiran.com

بررسی میزان فراوانی و شناسایی عوامل قارچی تخم و لارو تاسماهی ایرانی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سال ۱۳۸۶

جلیل جلیل‌پور[۱]*؛ علیرضا خسروی[۲]؛ حسینعلی ابراهیم‌زاده موسوی[۳] و علیرضا شناور ماسوله[٤]

۱ و ٤- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ٣٤٦٤ - ٤١٦٣٥

۲ و ۳ - دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صندوق پستی: ٦٤٥٣- ١٤١٥٥

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۸

چکیده

در این بررسی از مراحل تخم، لارو با کیسه زرده و لارو پس از تغذیه فعال تعداد ۲۷۰ عدد نمونه در هر مرحله جهت جداسازی عوامل قارچی نمونه‌برداری گردید. به منظور شناسایی و شمارش فلور قارچی نمونه‌های تخم و لارو پس از تهیه سوسپانسیون و رقیق‌سازی، در شرایط استریل بر روی محیطهای کشت سابرودکستروز آگار (SDA) کورن میل آگار(CMA) حاوی کلرامفنیکل و جنتامایسین کشت داده شد. همچنین به منظور جداسازی و شناسایی ساپرولگنیا نیز از روش تهیه گسترش مرطوب و تلقیح بر روی محیط کشت گلوکز پپتون آگار (GP) براساس کلیدهای شناسایی و ساختار اسپورانژیوم استفاده گردید. در تخم قارچهای، پنیسیلیوم، کلادوسپوریوم، فوزاریوم، مخمر، موکور، آسپرژیلوس نایجر و پسیلومایسس و در آب انکوباسیون، قارچهای پنیسیلیوم، کلادوسپوریوم، فوزاریوم، آسپرژیلوس نایجر، موکور، پسیلومایسس و مخمر بترتیب با بیشترین فراوانی جداسازی شدند. همچنین در لارو با کیسه زرده بترتیب قارچهای کلادوسپوریوم، فوزاریوم، آلترناریا و مخمر و در آب پرورشی این لاروها قارچهای کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم و آلترناریا بیشترین فراوانی را داشته‌اند. در لارو پس از تغذیه بیشترین فراوانی قارچها شامل کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم، آلترناریا، مخمر، آسپرژیلوس فومیگاتوس و موکور و در آب پرورشی لاروهای با تغذیه فعال قارچهای کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم، مخمر و آسپرژیلوس نایجر بوده است. در کلیه مراحل فوق قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا از تخم، لارو و آب جداسازی گردید. قارچهای کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم، مخمر و ساپرولگنیا بطور مشترک در هر سه مرحله تخم، لارو با کیسه زرده و لارو با تغذیه فعال مشاهده شده‌اند. بین میانگین شمارش کلی پرگنه‌های قارچی تخم (۳/۵۱± ۱۵/۰۸) و آب (۲/۶۳±۱۵/۹۱) اختلاف معنی‌دار از نظر آماری مشاهده نشد (P>0.05). بین میانگین شمارش کلی پرگنه‌های قارچی لارو با کیسه زرده (۱/۰۵±۵/۳۳) و آب (۲/۳۹±۱۱/۷۷) نیز اختلاف معنی‌دار از نظر آماری مشاهده گردید (P<0.05). همچنین در مرحله لاروی (پس از تغذیه فعال) بین میانگین شمارش کلی پرگنه‌های قارچی لارو (۱۲/۴۶±۳۲) و آب (۱۲/۷۹±۳۱/۱۱) نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

لغات کلیدی: فلور قارچی، تاسماهی ایرانی، تخم، لارو

* نویسندهٔ مسئول: tjalilpoor@yahoo.com

magiran.com

مقدمه

قارچها موجوداتی یوکاریوت بوده و دارای زندگی هتروترفی می‌باشند که این زندگی هتروتروفی به یکی از اشکال ساپروفیتی (Saprophyte)، همسفرگی (Commensalism)، همزیستی (Symbiotic) یا انگلی بروز می‌کند. در کلیه موارد فوق بجز زندگی انگلی دو موجود زنده یا غیرزنده به همدیگر آسیب نمی‌رسانند. اکثر قارچهای بیماریزا به صورت گندروی (Saprophyte) در محیط پراکنده‌اند که بدنبال تاثیر عوامل فرصت طلب (Opportunistic) عفونتهای قارچی را در موجودات ایجاد می‌نمایند (شمس قهفرخی، ۱۳۸۴ و نوروزی، ۱۳۸۱). آبزیان نیز بعنوان گروهی از موجودات زنده خونسرد که بسیاری از اعمال فیزیولوژیک و دفاعی آنان به محیط وابسته است در شرایط نامناسب پرورشی استعداد زیادی برای ابتلا به عفونتهای قارچی دارند. این عفونتهای قارچی در کلیه مراحل زندگی (تخم، لارو، بچه ماهیان و مولدین) به اشکال مختلف عفونتهای جلدی و احشایی و نیز مسمومیت با سموم قارچی موجود در مواد غذایی بروز یافته و موجب بروز تلفات می‌گردد (نوروزی، ۱۳۸۱).

در این ارتباط مطالعات گسترده‌ای راجع به جداسازی و شناسایی، پیشگیری و درمان گونه‌های مختلف عوامل قارچی در ماهیان پرورشی گرم آبی و سردآبی و سایر آبزیان توسط Olufemi ,(1960) Horter ,(1956) Reichenbach-Klinke (1985), Lightner ,(1987) Ostland ,(1986) Hatai *et al.* Meyer ,(1989) Bruno ,(1989) Muhvich *et al.* ,(1988) Bruno & Wood ,(1994) Hatai & Hoshia ,(1991) (1994) Wolliughby , (1994) Noga ,(2000) در کشورهای مختلف انجام پذیرفته است.

در ایران نیز در زمینه شناسایی عوامل قارچی بررسی‌هایی توسط (Czecauga, 1995)، آذری تاکامی (۱۳۷۶)، شناور ماسوله و همکاران (۱۳۷۹)، حسین خضری (۱۳۷۸) و جلیل‌پور و همکاران (۲۰۰۶) انجام شده است. همچنین در زمینه پیشگیری و درمان آلودگیهای قارچی در آبزیان مطالعاتی توسط سلطانی و همکاران (۱۳۸۰)، وهاب‌زاده (۱۳۸۲) و ابطحی (۱۳۸۴) انجام شده است. تاکنون در ارتباط با ماهیان خاویاری مطالعات محدودی انجام شده است و خلاء اطلاعاتی محسوسی احساس می‌گردد. بطور کلی هدف از این بررسی دستیابی به اطلاعات کلی راجع به نوع و فراوانی فلور قارچی در مراحل تخم و لارو تاسماهی ایرانی و مقایسه با سایر مطالعات به منظور ایجاد زمینه در طراحی مطالعات بعدی در جهت اثبات اثرات بیماریزایی گونه‌های مشکوک بصورت *In vitro* و *In vivo* و شناسایی گونه‌هایی که از اهمیت بیماریزایی برخوردارند از طریق مطالعات مولکولی می‌باشد.

مواد و روش کار

در مرحله انکوباسیون نمونه‌برداری در سه فاز صفر (بلافاصله پس از انتقال و تقسیم تخمها در پاکت‌های انکوباتور)، ۴۸ ساعت و ۹۶ ساعت پس از لقاح در سه تکرار انجام گردید. در این مرحله ۲۷۰ عدد تخم (۲۰ تا ۳۰ عدد در هر مرحله) (۵۱ تا ۵۳ تعداد تخم در گرم) بررسی شد. در مرحله لارو با کیسه زرده از ۲۷۰ عدد لارو (۲۰ تا ۳۰ عدد برای هر تکرار در سه ماه فروردین، اردیبهشت و خرداد) با میانگین وزنی ۱/۴۰±۲۲/۵ میلیگرم ۷۲ ساعت پس از انتقال لاروها از سالن انکوباسیون به حوضچه‌های بتنی بخش ونیرو و در مرحله لارو با تغذیه فعال ۲۷۰ عدد لارو (۲۰ تا ۳۰ عدد برای هر تکرار در سه ماه فروردین، اردیبهشت و خرداد) با میانگین وزنی میلیگرم ۲۱/۳۷±۶۴/۶ پس از گذشت ۵ روز از شروع زمان تغذیه نمونه‌برداری بعمل آمد. در کلیه مراحل فوق نمونه‌های تخم، لارو و آب (۲۵ سی سی) بصورت تصادفی (Random sampling) بداخل ظروف شیشه‌ای در سمباده‌ای استریل منتقل شده و پس از ثبت مشخصات، نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه و در شرایط استریل نمونه‌های تخم و لارو ۳ تا ۵ بار بوسیله آب مقطر استریل شستشو داده شدند. جهت شمارش کلی (تعداد کلنی در میلی لیتر= CFU) پس از تهیه محلول سوسپانسیون از تخمها و لاروها اقدام به رقیق‌سازی (۰/۱، ۰/۰۱) در لوله‌های آزمایش استریل گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت‌های بدست آمده و همچنین آب حوضچه پرورشی توسط پیپت استریل بر روی محیطهای کشت SDA و CMA حاوی کلرامفنیکل ۱ درصد و جنتامایسین ۸۰ میلیگرم کشت داده شدند. پلیتهای کشت شده (از هر رقت دو کشت) به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت به منظور شمارش کلی و ۳ تا ۵ روز به منظور رشد کامل پرگنه‌های قارچی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. شمارش قارچها براساس میانگین حسابی دو شمارش که در ضریب رقت ضرب شده، محاسبه گردید. همچنین به منظور جداسازی و شناسایی قارچ ساپرولگینا پوسته تخم و قطعاتی به ابعاد ۲ تا ۳ میلیمتر از بدن لارو پس از شستشو با آب مقطر

magiran.com

استریل و به منظور القا و ایجاد زئوسپور در لوله‌های آزمایش دربدار حاوی آب مقطر استریل و آنتی بیوتیک پس از ۱ تا ۲ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتیگراد، به محیط GP حاوی آنتی‌بیوتیک تلقیح و در حرارت ۱۵ تا ۱۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از رشد کلنی در کشت اولیه (معمولاً پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت) و خالص‌سازی در محیط SDA و تهیه لام و رنگ‌آمیزی، توسط میکروسکوپ مورد بررسی و براساس کلیدهای شناسایی و ساختار اسپورانژیوم شناسایی شدند. لازم به توضیح است که بدلیل شرایط ویژه ایزولاسیون اوومایست‌ها و نیاز به امکانات خاص و زمان لازم تعیین شمارش کل اوومایستها انجام نگردید.

به منظور شناسایی قارچهای ساپروفیت، پس از رشد پرگنه‌های قارچی، در مرحله نخست خالص‌سازی صورت گرفت و در پاساژ دوم، گسترش تهیه گردید. پس از تشکیل ساختمان اسپورزائی، بوسیله یک قطر الکل متیلیک نمونه تثبیت شده و بوسیله رنگ لاکتوفنل کاتن بلو رنگ‌آمیزی شد. پس از این مراحل قارچها براساس ساختار میسیلیوم و اندامهای زایشی بوسیله میکروسکوپ معمولی و با بزرگنمائی × ۱۰ و ×۴۰ مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند. کلیه مطالعات قارچ‌شناسی براساس روش Willoughby در سال ۱۹۹۴ و شریف‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت.

به منظور مقایسه میزان شمارش کلی پرگنه‌های قارچی در سه فاز زمانی در مرحله انکوباسیون (تخم و آب انکوباسیون) و همچنین پرورش لارو (لارو با کیسه زرده، لارو پس از تغذیه فعال و آب پرورشی آنها) از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و آزمون توکی استفاده گردید. داده‌ها از طریقآزمون کولموگراف اسمیرنوف و رسمنمودار هیستوگرام نرمال شدند. جهت مقایسه شمارش کل قارچی تخم با آب انکوباسیون و لارو با آب پرورشی از آزمون t-test و به منظور بررسی همبستگی آنها از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات توسط نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۴ انجام شد.

نتایج

براساس نتایج بدست آمده نوع، تعداد و فراوانی قارچها بترتیب در تخم، لارو با کیسه زرده، لارو پس از تغذیه فعال و آب آنها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ : فلور قارچی جداسازی شده (تعداد و درصد فراوانی پرگنه‌های قارچی) در مراحل تخم، لارو و آب پرورشی تاسماهی ایرانی

گونه‌های قارچی	آب پرورش تخم		تخم		آب پرورش لارو		لارو با کیسه زرده		آب پرورش لارو		لارو		تعداد درصد	کل فراوانی
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد		
Penicillium spp.	۴۳	۱۷	۳۹	۱۲	۲۵	۲	۲۲	۲	۲۷	۳	۳۳	۵	۴۱	۳۶/۲۸
Cladosporium sp.	۱۸	۷	۲۶	۸	۳۷	۳	۴۵	۴	۲۸	۳	۳۲	۵	۳۰	۲۶/۵۵
Fusarium spp.	۱۸	۷	۱۰	۳	۲۵	۲	۱۱	۱	۱۸	۲	۷	۱	۱۶	۱۴/۱۶
Yeasts	۳	۱	۱۰	۳	–	–	۱۱	۱	۱۸	۲	۷	۱	۸	۷/۰۸
Aspergilus Niger	۸	۳	۶	۲	–	–	–	–	۹	۱	–	–	۶	۵/۳۰
mucor spp.	۵	۲	۶	۲	–	–	–	–	–	–	۷	۱	۵	۴/۴۳
Alternaria sp.	–	–	–	–	۱۳	۱	۱۱	۱	–	–	۷	۱	۳	۲/۶۶
Paecilomyces sp.	۵	۲	۳	۱	–	–	–	–	–	–	–	–	۳	۲/۶۶
Aspergilus fumigatu	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۷	۱	۱	۰/۸۸
تعداد گونه	۷		۷		۴		۵		۵		۷			

magiran.com

براساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه بین شمارش کلی پرگنه‌های قارچی (تعداد کلنی در میلی‌لیتر = CFU) در سه فاز صفر، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از لقاح در آب (P>0.05) و تخم (P>0.05) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید. براساس آزمون t-test بین شمارش کل قارچی آب (CFU ۵۶ -۲، ۲/۶۳±۱۵/۹۱) و تخم (CFU ۸۶- ۴، ۳/۵۱±۱۵/۰۸) نیز اختلاف معنی‌داری آماری مشاهده نگردید (جدول ۲)، اما براساس آزمون ضریب همبستگی بین شمارش کل قارچی آب و تخم همبستگی مستقیم و مثبت مشاهده گردید (P<0.01 ;r =0.52).

براساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه بین میزان شمارش کلی پرگنه‌های قارچی در سه فاز مورد مطالعه (فروردین– اردیبهشت و خرداد) در آب (P<0.05) و لارو با کیسه زرده (P<0.05) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید و براساس آزمون دانکن میزان شمارش کل فلور قارچی لارو و آب پرورشی بترتیب در خرداد و اردیبهشت نسبت به فروردین ماه از میزان بیشتری برخوردار بوده است.

همچنین براساس آزمون t-test بین میانگین شمارش کل قارچی لارو با کیسه زرده (CFU ۸ - ۲، ۱/۰۵± ۵/۳۳) و آب (CFU ۲۴ - ۲، ۲/۳۹± ۱۱/۷۷) نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (P<0.05) و براساس آزمون ضریب همبستگی بین شمارش کل قارچی آب و لارو با کیسه زرده همبستگی مستقیم و مثبت مشاهده نگردید (P>0.05 ;r = 0.58) (جدول ۲). براساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه بین میزان شمارش کلی پرگنه‌های قارچی در سه فاز مورد مطالعه (فروردین، اردیبهشت و خرداد) در آب (P<0.05) و لارو پس از تغذیه فعال اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (P<0.05). براساس آزمون دانکن میزان شمارش کل فلور قارچی لارو و آب پرورشی بترتیب در خرداد و اردیبهشت نسبت به فروردین ماه از میزان بیشتری برخوردار بوده است. همچنین براساس آزمون t-test بین میانگین شمارش کل قارچی لارو (CFU ۹۶- ۴، ۱۲/۴۶±۳۲) و آب (CFU ۹۰-۲، ۱۲/۷۹±۳۱/۱۱) اختلاف معنی‌داری آماری مشاهده نگردید (P>0.05) (جدول ۳). براساس آزمون ضریب همبستگی بین شمارش کل قارچی آب و لارو با کیسه زرده همبستگی مستقیم و مثبت مشاهده گردید (P<0.01 ;r = 0.98)

جدول ۲ : میزان شمارش کل قارچی در مرحله تخم و آب پرورشی تاسماهی ایرانی

	تخم میانگین± خطای معیار	آب پرورشی تخم میانگین± خطای معیار
فاز صفر	۲۰/۸۸± ۸/۵۷ ns	۱۶/۴۴±۶/۳۵ ns
فاز ٤٨ ساعت	۸ ±۱/۶۳ ns	۱۵/۱۱±۲/۰۳ ns
فاز ۹٦ ساعت	۱۷±٤/۲۸ ns	۱٦/۳۳±٤/٥٧ ns
جمع	۱۵/۰۸±۳/۵۱	۱۵/۹۱±۲/۶۳

ns: نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (P>0.05).

جدول ۳ : میزان شمارش کل قارچی در مراحل لارو، لارو با کیسه زرده و آب پرورشی تاسماهی ایرانی

	آب پرورشی لارو با کیسه زرده میانگین±خطای معیار	لارو با کیسه زرده میانگین±خطای معیار	آب پرورشی لارو میانگین±خطای معیار	لارو میانگین±خطای معیار
فروردین	٤/٦٦±۱/۳۳ a	٤±۱/۱۵ a	۵/۳۳±۱/۷٦ a	۸±٤ a
اردیبهشت	۱۳/۳۳±۳/۵۰ b	٤/٦٦±۰/٦٦ a	٦ ±۱/۱۵ a	۷/۳۳±۳/۳۳ a
خرداد	۱۷/۳۳±۳/۵۲ b	۷/۳۳±۰/٦٤ b	۸۲±٤/۱٦ b	۸۰/٦٦±۷/۸۵ b
جمع	۱۱/۷۷±۲/۳۹	۵/۳۳±۱/۰۵	۳۱/۱۱±۱۲/۷۹	۳۲±۱۲/٤٦

* اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<0.05).

magiran.com

بحث

در این مطالعه که به منظور شناسایی فلور قارچی تخم، لارو و لارو با کیسه زرده تاسماهی ایرانی (*Acipenser Persicus*) انجام گردید در مرحله تخم و آب قارچهای پنیسیلیوم، کلادوسپوریوم، فوزاریوم، مخمر، موکور، آسپرژیلوس نایجر و پسیلومایسس جداسازی و مورد شناسائی قرار گرفتند.

Jalilpour و همکاران در سال ۲۰۰۶، قارچهای پنیسیلیوم، فوزاریوم، مخمر، موکور و ساپرولگنیا را از تخم تاسماهی ایرانی جدا نمودند. بر این اساس قارچهای کلادوسپوریوم و پسیلومایسس برای نخستین بار از تخم تاسماهی ایرانی جداسازی شدند. با توجه به یکسان بودن تنوع و فراوانی فلور قارچی جداسازی شده از تخم و آب انکوباسیون (جدول ۱) و همچنین همبستگی مثبت و مستقیم بین شمارش کل قارچی تخم و آب، می‌توان بیان کرد که احتمالاً افزایش فلور قارچی تخم تابعی است از افزایش میزان فلور قارچی آب انکوباسیون. نواقص موجود در سیستم فیلتراسیون، افزایش میزان رسوبات حاوی بقایای گیاهی، جانوری، مواد آلی و آلودگیها El-Hissy *et al.*, (2001) در استخر رسوبگیر طی سالهای اخیر، تغییرات دمایی و عدم رعایت نکات فنی بهداشتی در مراحل آماده‌سازی مولدین، لقاح و انکوباسیون تخمها و همچنین ساختار نامناسب سالن انکوباسیون (آذری تاکامی، ۱۳۷۶ و کیوان، ۱۳۸۲) می‌توانند از جمله عوامل احتمالی افزایش تنوع فلور قارچی در تخم تاسماهی ایرانی باشند.

در مرحله لارو با کیسه زرده قارچهای کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم، آلترناریا و مخمر و در آب پرورشی این لاروها قارچهای کلادوسپوریوم، پنیسیلیوم، فوزاریوم و آلترناریا جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفتند

نتایج نشان می‌دهد که میزان شمارش کل قارچی در لارو با کیسه زرده، لارو با تغذیه فعال و آب پرورشی بترتیب در ماههای خرداد و اردیبهشت بواسطه افزایش دما نسبت به فروردین ماه از میزان بیشتری برخوردار بوده است. در تغییرات محیطی ایجاد شده به سبب تزریق غذای زنده (کرم سفید، آرتمیا و دافنی) در مرحله تغذیه فعال اولاً بدلیل انتقال آلودگیهای احتمالی قارچی از محیط پرورشی خاص آنها (مانندکود گاوی و اسبی در پرورش دافنی) و ثانیاً باقی ماندن بقایای حاصل از مازاد آنها در محیط بعنوان منابع تغذیه‌ای مناسب جهت رشد و تکثیر قارچها براساس ماهیت هتروتروفیک شان (نوروزی، ۱۳۷۹) می‌توانند بعنوان عوامل موثر احتمالی در افزایش شمارش کل و تنوع فلور قارچی در مرحله پرورش لارو با تغذیه فعال مطرح باشند. در این ارتباط همبستگی مستقیم و مثبت بین شمارش کل قارچی آب و لارو مشاهده می‌گردد. نتایج نشان می‌دهد که قارچهای کلادوسپوریوم، فوزاریوم، مخمر و ساپرولگنیا، پنیسیلیوم بطور مشترک در هر سه مرحله تخم، لارو با کیسه زرده و لارو با تغذیه فعال مشاهده شده‌اند (جدول ۱). در ارتباط با اثرات بیماریزایی برخی از قارچهای جداسازی شده در این بررسی لازم بذکر است که قارچ کلادوسپوریوم بترتیب با فراوانی۲۶ و ۱۸ درصد در مرحله تخم و آب، ۴۵ و ۳۷ درصد در لارو با کیسه زرده، و آب پرورشی، ۳۲ و ۲۸ درصد در لارو با تغذیه فعال و آب پرورشی جداسازی شدند. قارچ *Cladosporium sp.* از عفونتهای زیر جلدی و عمقی در ماهی کاد آتلانتیک توسط Reichenbach-Klinke در سال ۱۹۵۶، گزارش گردید. در این مطالعه فوزاریوم بترتیب با فراوانی ۳ و ۱۸ درصد در مرحله تخم و آب، ۱ و ۲۵ درصد در لارو با کیسه زرده و آب پرورشی، ۱ و ۱۸ درصد در لارو با تغذیه فعال و آب پرورشی جداسازی شد. در کانادا Ostland (۱۹۸۷) و در مریلند آمریکا Muhvich و همکاران (۱۹۸۹) قارچ فوزاریوم سولانی در ماهی تایگر و ماهی شارک را از التهاب مزمن احشایی گزارش نمودند. همچنین این قارچ عامل قارچ زدگی میگو یا بیماری آبشش سیاه معرفی شده است (شمس قهفرخی، ۱۳۸۴). Hatai و همکاران (۱۹۸۶) قارچ *Fusarium oxysporum* را نیز از عفونت احشایی ماهی سیم دریای سرخ گزارش نمودند. در این ارتباط Horter (۱۹۶۰) نیز از عفونتهای جلدی و چشمی در ماهی کپور معمولی قارچ *Fusarium culmorum* را گزارش نمود. قارچ پسیلومایسس بترتیب با فراوانی ۱ و ۵ درصد در مرحله تخم و آب جداسازی شد. در این ارتباط Bruno (۱۹۸۹) قارچ *Paecilomyces farinosus* را از خونریزی مخرج، تورم شکمی و عفونت کیسه شنای ماهی سالمون آتلانتیک گزارش نمود.

در آمریکا، Lightner (۱۹۸۸) قارچ *Paecilomyces marquandii* را از عفونت کلیه در ماهی تیلاپیای هیبرید قرمز جداسازی نمود. در این بررسی قارچ آسپرژیلوس نایجر بترتیب با فراوانی ۲ و ۸ درصد در مرحله تخم و آب و ۹ درصد از آب پرورشی لارو با تغذیه فعال جداسازی شد. همچنین قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس با فراونی ۷ درصد از لارو با تغذیه فعال جداسازی گردید. در این ارتباط Olufemi (۱۹۸۵) قارچهای *Aspergilus niger* و *Aspergilus flavus* را از آلودگی غذایی در ماهی تیلاپیا گزارش نمود.

magiran.com

در این بررسی ساپرولگنیا در کلیه مراحل شامل تخم، لارو با کیسه زرده، لارو با تغذیه فعال و آبهای پرورشی جداسازی شد. ساپرولگنیا از کلاس اوماسیتها که به کپکهای آبی معروفند و بطور گسترده در چرخهٔ طبیعت منتشرند، از شایعترین عفونتهای قارچی ماهیان آب شیرین بوده و بویژه عامل بروز تلفات سنگین در تخم ماهیان بشمار می‌آیند (Noga, 2000).

مخمر نیز بترتیب با فراوانی ۳ و ۳ درصد در مرحله تخم و آب، ۱ درصد در لارو با کیسه زرده، ۱ و ۱۸ درصد در لارو با تغذیه فعال و آب پرورشی جداسازی شد. در این ارتباط برخی از مخمرها از آبهای شور و شیرین و از زخمهای جلدی و ماهیچه‌ای نیز جداسازی شده‌اند (Noga, 2000).

در این بررسی قارچ پنیسیلیوم بترتیب با فراوانی ۱۲ و ۴۳ درصد در مرحله تخم و آب، ۲ و ۲۵ درصد در لارو با کیسه زرده و آب پرورشی، ۵ و ۲۷ درصد در لارو با تغذیه فعال و آب پرورشی جداسازی شد. قارچ پنیسیلیوم از جمله قارچهای ساپروفیت محسوب شده و گزارشی از آن مبنی بر بیماریزایی در ماهی در دست نیست و بطور فراوان در طبیعت، خاک، مواد گیاهی و مواد غذایی در حال فساد مشاهده می‌شود. قارچ آلترناریا نیز بعنوان یک قارچ ساپروفیت عمدتاً از خاک و مواد غذایی و گیاهی جداسازی شده است.

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و ماهیت بیماریزایی برخی از آنها در مراحل مختلف تکثیر و پرورش پیشنهاد می‌گردد که مطالعات گسترده‌تری در زمینهٔ تشخیص مولکولی و بررسی عفونتهای تجربی آنها صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، جناب آقای دکتر بهمنی معاونت وقت تحقیقاتی انستیتو و مهندس طلوعی ریاست محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی به جهت فراهم نمودن امکان این بررسی قدردانی و تشکر می‌نماییم. از کارشناسان محترمی که از نظرات علمی ارزشمند آنها در انجام و نگارش این مقاله بهره گرفته شده است، مهندس حسین محمدی پرشکوه، دکتر مهدی معصوم‌زاده، مهندس سهیل بازاری مقدم، مهندس مهدی علیزاده، رحمانعلی صیقلی، خانم دکتر سمیه حقیقی کارسیدانی و خانم بهاره یونس حقیقی صمیمانه تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

آذری تاکامی، ق. ، ۱۳۷۶. مدیریت بهداشتی و روشهای پیشگیری و درمان بیماریهای ماهی. انتشارات پریور، صفحات ۱۳۱ تا ۱۳۳.

ابطحی، ب. ، ۱۳۸۴. مقایسه شاخص درمانی داروهای ضد قارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاسماهی ایرانی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۶۷، صفحات ۴۲ تا ۴۹.

حسین خضری، پ. ، ۱۳۷۸. بررسی وضعیت مدیریت پرورش میگو در سایت حله- بوشهر. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقاتی شیلاتی استان بوشهر. ۸۵ صفحه.

سلطانی، م. ؛ کلباسی، م. ؛ نظری، ر.م. و مصطفوی، ح. ، ۱۳۸۰. مطالعه اثر درمانی فرمالین بر میزان تفریخ تخم ماهی کپور معمولی در شرایط کارگاهی ایران (مرکز شهید رجایی ساری). مجله دامپزشکی دانشگاه تهران ، شماره ۵۶ ، صفحات ۶۹ تا ۷۱.

شریف‌پور، ع. ؛ ذریه‌زهرا، ج. ؛ معصومیان، م. ؛ پازوکی، ج. ؛ قیاسی، م. ؛ سعیدی، ع. ؛ کارگرموخر، ر. ؛ فلاحی، ر. ؛ اسماعیلی، ف. و نظری، ع. ، ۱۳۸۵. روشهای آزمایشگاهی بیماریهای ماهی. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۰۷ صفحه.

شمس قهفرخی، م. ؛ علی‌نژاد، س. و رزاقی ابیانه، م. ، ۱۳۸۴. قارچ‌شناسی و بیماریهای قارچی آبزیان. انتشارات آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی. صفحات ۱ تا ۵.

شناور ماسوله، ع. ؛ معصومیان، م. ؛ سلطانی، م. ؛ زارع گشتی، ق. ؛ کوچکیان صبور، ا. ؛ سیف زاده، م. ؛ وهابی، ی. ؛ عفت‌پناه، ا. و درویشی، ف. ، ۱۳۷۹. بررسی فلور باکتریایی مراحل تخم، لارو، انگشت قد و فون انگلی بچه ماهیان خاویاری در کارگاه تکثیر و پرورش شهید بهشتی. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۳۳ صفحه.

کیوان، ا. ، ۱۳۸۲. ماهیان خاویاری ایران. انتشارات نقش مهر، ۴۰۰ صفحه.

نوروزی، ح. ، ۱۳۸۱. اپیدمیولوژی بیماری‌های قارچی مشترک انسان و آبزیان. ۱۹۳ صفحه.

وهاب‌زاده، ح. ، ۱۳۸۲. ارزیابی کارآیی پراکسید هیدورژن و لوامیزول هیدروکلراید در تیمار تخمها و نوزاد تاسماهی ایرانی و کپور ماهیان چینی. ۱۰۵ صفحه.

magiran.com

Bruno W., 1989. Observation on a swim bladder fungal infection of farmed Atlantic salmon, *salmo salar*. Bulletin of Europe Association of Fish Pathology, 9:7-8.

Bruno D.W. and Wood B.P., 1994. Saprolegnia and other Bomycetes. *In*: (P.T.K. Wood and D.W. Bruno eds.). Fish Diseases and Disorders. volume 3, viral, bacterial and fungal infections. CABI Publiahing, Wallingford, Oxford, United Kingdom. pp.599-659.

Czecauga B.M., Vosoughi G.H., Damaly A. and Kizicwicz B., 1995. Aquatic growing on the eggs several species of Acipenseridae Rishes. ACTA Ichthyolohica et piscatoria.

El-Hissy F.T., Mortada S.M.N., Khalil A.M. and Fatma F.A.M., 2001. Aquatic fungi recovered from water and submerged mud polluted with industrial effluents. Online Journal of Biological Sciences, Vol. 1, No. 9, pp.854–858.

Hatai K., Fujimaki Y., Egusa S. and Jo, Y., 1986. A visceral mycosis in ayu fry, plecoglossus. Altivelis Temminck & Schlegel, caused by a new species of pboma. Journal of fish Diseases, 9:111-116.

Hatai K. and Hoshiai G.I., 1994. Pathegenicity of Saprolegnia parasitica Coker. *In*: (G.J. Muller ed.). Salmon saprolegniasis. U.S. Department of Energy. Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. pp.87-98.

Horter R., 1960. [Fusarium als Erreger einer Hautmykose bei Karpfen]. zentralblatt Fur Parasit enkunde 20:355-358. (in German).

Jalilpour J., Shenavar Masouleh A. and Masoumzadeh M., 2006. Fungal flora in *Acipenser persicus* eggs with particular emphasis on *Saprolegnia sp.*(Oomycetes) and mortality caused by it during incubation at the Shahid Beheshti Hatchery. Journal of Applied Ichthyology, Vol. 22, Suppl. 1, pp.265–268.

Lightner D., 1988. Arenal mycusis of an adult hybrid red tilapia *Oreochromis mossambigue* × *O. bonorum*, caused by the imperfect fungus *Paecilomyces marquandii*. Journal of Fish Diseases, 11:437-444.

Meyer F.P., 1991. Aquaculture disease and health management. Journal of Animal Science, 69:4201-4208.

Muhvich A.G., Reimschuessel R., Lipsky M.M. and Bennet R.O., 1989. *Fusarium solani* isolation from new bronnethead sharks *Sphyrana tiburo* (L.). Journal of Fish Diseases, 12:57-62.

Noga E.J., 2000. Fish disease diagnosis and treatment. Mosby Yearbook Inc. St. Louis, USA. 367P.

Ostland V.E., 1987. Case report: Granulomatous peritonitis fish associated with *fusarium solani*, Veterinary Research, 121:595-596.

Olufemi B., 1985. The aspergillis as pathgenes of cultured fishes. Research Advance Aquaculture, 2:193-218.

Reichenbach-Klinke H.H., 1956. Uber einige bisher ubekannte Hypho myceten bei verscheidenen suswasser und meeresfischen. Mycopathmycol Applied, 7:333-368.

Willoughby I.G., 1994. Fungi and Fish Diseases. Pisces Press. Stirling, Scotland. 57P.

magiran.com

Identification and abundance of fungal flora in egg, and larvae of *Acipenser persicus* in Shahid Beheshti Sturgeon Rearing Center (2007)

Jalilpour J.[(1)*]; Khosravi V.[(2)]; Ebrahimzadeh Mousavi H.[(3)] and Shenavar Masouleh A.[(4)]

1, 4- International Sturgeon Research Institute, P. O. Box: 41635-3464, Rasht, Iran

2, 3- Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, P. O. Box: 14155-6453, Tehran, Iran

Received: March 2008 Accepted: October 2009

Keywords: Fungal, *Acipencer percicus*, Egg, Larvae

Abstract

Fungal flora in egg, yolk sac larvae and larvae of *Acipenser persicus* were identified and studied. Totally, 270 specimens from Shahid Beheshti Sturgeon Rearing Center were examined. A heterogeneous solution from samples was prepared and inoculated on culture media SDA+C and CMA+C in lines under sterile conditions. Wet mounts were prepared for the identification of *Saprolegnia sp.* and the inoculants were cultured on culture media GP containing gentamycin and chloramphenicol. We found *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, Yeast, *Mucor sp.*, *Aspergillus niger* and *Paecilomuces* on egg samples in order of frequency and in water samples we observed *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, Yeast, *Mucor sp.*, *Aspergillus niger*, and *Paecilomyces*. Fungal species identified in yolk sac larvae included *Penicilliium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* ,*Alternaria sp.*, Yeast and in water samples we found *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, and Yeast, while in larvae we saw *Cladosporium sp.*, *Penicilliium sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Aspergilus fumigatus*, Yeast and *Mucor spp.* In water samples containing larvae we were able to identify *Cladosporium sp.*, *Penicilliium sp.*, *Fusarium sp.*, Yeast and *Aspergilus niger*. Fungal species such as *Cladosporium sp.*, *Penicillium*, *Fusarium*, Yeast *and Saprolegnia* were detected in all four sampling mediums. T-test indicated no significant differences in total counts (colonies/2 plates in all samples) in eggs (15.08±3.51 colony forming unit; CFU) and in water (15.91± 2.63) samples. However, t-test indicated significant differences in total counts in yolk sac larvae (5.33±1.05) and in water (11.77±2.39) samples. T-test showed no significant differences in total counts of larvae (32 ±12.46) and water (31.11±12.79) samples.

* Corresponding author: tjalilpoor@yahoo.com