

بررسی فلور قارچی میگوی ببری سبز پرورشی (*Penaeus semisulcatus*) استان بوشهر

بابک قانندیا^(۱)، فریده زینی^(۲)، محمدرضا مهربانی^(۳)، سید جمال هاشمی^(۴)،

شهرام دادگر^(۵) و مریم میربخش^(۶)

ghaedniab@yahoo.com

۱ و ۶- بخش بهداشت و بیماریهای آبزیان، پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷۴

۲ و ۴- دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه قارچ‌شناسی، تهران

صندوق پستی: ۶۴۴۶/۱۴۱۵۵

۳ و ۵- مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۲

چکیده

قارچ‌ها دسته‌ای از عوامل بیماری‌زا بوده که دارای پراکندگی وسیعی می‌باشند و می‌توان گفت مکانی پیدا نمی‌شود که در آنجا اسپورهای قارچی یافت نگردد. قارچ‌ها بعنوان یکی از عوامل مهم بیماری‌زا در میگو مطرح می‌باشند و بیماری‌هایی مانند بیماری آبشش سیاه (Black Gill) در میگوهای جوان و بالغ و مایکوز لاروی ایجاد می‌نمایند. در این مطالعه ۵۷۸ عدد میگوی ببری سبز پرورشی (*Penaeus semisulcatus*) استان بوشهر (سایت حله) مورد بررسی قرار گرفت. مجموعاً ۷۱۹ مورد کلنی قارچی از سطح خارجی، آبشش، همولف، هیاتوپانکراس و آب استخرهای پرورش میگو جداسازی و شناسایی شد. از این تعداد ۵۲۶ کلنی کبکی (۷۳/۱۵ درصد)، ۱۷۹ کلنی مخمری (۲۴/۸۹ درصد)، ۱۲ مورد مسیلیوم استریل (۱/۶۶ درصد) و ۲ مورد کلنی ناشناخته (۰/۲۷ درصد) شناسایی شد. از بین قارچ‌های جدا شده گونه‌های اسپرژیلوس (۹/۴۵ درصد)، گونه‌های فوزاریوم (۷/۷۸ درصد)، گونه‌های کلاوسپوریوم (۶/۳۵ درصد)، اسپرژیلوس نیجر (۶/۱۱ درصد)، رودوترولا روبرا (۵/۹۸ درصد)، اسپرژیلوس فلاووس (۵/۹۸ درصد)، گونه‌های پنسیلیوم (۵/۸۴ درصد)، آلترناریا آلترناتا (۵/۲۸ درصد)، کانیدیدا البیکنس (۵/۲۸ درصد) و سایر گونه‌های کانیدیدا (۵/۱۴ درصد) بترتیب بیشترین فراوانی را داشتند و ۳۷/۶۰ درصد سایر گونه‌های قارچی بودند. هیچکدام از کلاوسپوریوم‌های جدا شده توانایی هیدرولیز ژلاتین ۱۲ درصد را نداشته، لذا بیماری‌زا نبودند. از بین اسپرژیلوس‌های جدا شده ۲ مورد (۴/۶۵ درصد) توانایی تولید آفلاتوکسین را دارا بودند.

کلمات کلیدی: فلور قارچی، میگوی ببری سبز، *Penaeus semisulcatus*، بوشهر، ایران

میگوها گروه بزرگی از سخت‌پوستان هستند که تنوع زیستی زیادی داشته و از توزیع جغرافیایی بسیار متنوعی برخوردارند. ارزش غذایی و جایگاه میگو در اقتصاد شیلاتی بسیاری از کشورها از جمله ایران، انجام تحقیقات در این زمینه را اجتناب‌ناپذیر نموده است. میگو جزء جانوران خونسرد می‌باشد و حیات آن به کیفیت محیط‌زیست آن بستگی دارد. شرایط شیمیایی آب اقیانوس‌ها و دریاها تا حد زیادی ثابت بوده و تغییرات آنها ماهانه و گاهی سالانه صورت می‌گیرد ولی تغییرات فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی استخرهای پرورش میگو، حتی ممکن است روزانه باشد و پارامترهایی مانند اکسیژن، دی‌اکسید کربن، pH و درجه حرارت آب، نوسانات زیادی داشته و می‌توانند منجر به تحمیل اثرات زیان‌آوری بر روی سلامتی میگوهای پرورشی گردند. در شرایط مناسب میگوها می‌توانند در برابر عوامل مضر زنده و غیرزنده تا حد زیادی از خود دفاع نمایند ولی تغییرات ناگهانی در شرایط مناسب فیزیکی و شیمیایی محیط‌زیست این آبی، استرس‌های گوناگونی را به میگوها وارد می‌کند که این امر به کاهش مقاومت میگو در برابر عوامل بیماری‌زا منجر می‌گردد و می‌تواند شیوع بیماری‌های متنوعی را بدنبال داشته باشد. براساس تعریف Brett (۱۹۵۸) استرس حالتی است که توسط عوامل محیطی و یا سایر عوامل خارجی، ایجاد شده و موجب افزایش یا کاهش سازگاری جاندار با محیط پیرامون خود می‌گردد (Brett, 1958). در واقع بیماری در آبزیان و از جمله میگو، نتیجه برهمکنش عوامل ایجادکننده استرس، عوامل بیماری‌زا و سیستم بیولوژیک آنها می‌باشد. قارچ‌ها نیز دسته‌ای از عوامل بیماری‌زای میگو هستند که توانایی ایجاد برخی از بیماری‌ها مثل بیماری آبشش سیاه را دارند. در زمینه عفونت‌های قارچی، در مراحل لاروی میگو، مطالعات نسبتاً بیشتری انجام شده است و عوامل قارچی متعددی مانند گونه‌های لائیدیدیوم (*Lagenidium spp.*)، لائیدیدیوم کالینکتس (*Lagenidium callinectes*)، هالیقتوروس فیلیپینسیس (*Haliphthoros philippensis*) و گونه‌های سیرولیپیدیوم (*Sirolipidium spp.*) به کرات بعنوان عوامل اتیولوژیک عفونت‌های قارچی مراحل لاروی میگوهای خانواده پنائیده مطرح شده‌اند. گونه‌های فوزاریوم (*Fusarium spp.*) خصوصاً فوزاریوم سولانی (*F. solani*) نیز بعنوان عوامل ایجادکننده بیماری آبشش سیاه در میگوهای جوان و بالغ مطرح می‌شوند (راسخی، ۱۳۷۴). بنابراین شناخت هرچه بهتر فلور قارچی میگو، می‌تواند ما را در شناخت هرچه بیشتر عوامل ایجادکننده عفونت‌های قارچی در این موجودات یاری

نماید. متأسفانه در مقایسه با باکتری‌ها و ویروس‌ها، اطلاعات موجود پیرامون فلور قارچی و قارچ‌های بیماریزای میگو بسیار اندک و پراکنده است و لزوم مطالعات و بررسی بیشتر در این زمینه احساس می‌شود.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری از استخرهای پرورش میگو، همزمان با آزاد شدن صید میگو در خلیج فارس، در ۱۸ مرداد ۱۳۷۸ آغاز شد و تا ۲۰ آبان همان سال ادامه یافت. منطقه مورد بررسی در مختصات جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۴ دقیقه طول شرقی و ۲۹ درجه و ۱۳ دقیقه عرض شمالی، در ۱۱۰ کیلومتری شمال غرب شهرستان بوشهر واقع شده است. نمونه‌برداری هر دو هفته یک بار و هر بار به مدت ۳ تا ۴ روز انجام شد. برای تعیین حجم نمونه، بدلیل موجود نبودن میزان شیوع ضایعات قارچی در میگوهای پنائیده منطقه، این میزان ۵۰ درصد در نظر گرفته شد تا بیشترین میزان حجم نمونه برآورد گردد. برای نمونه‌برداری، استخرهای شماره یک، سه، شش و هشت از استخرهای تحقیقاتی واقع در سایت پرورش میگوی حله، بصورت تصادفی انتخاب شدند. پس از نمونه‌برداری از میگوها و آب استخرهای پرورشی، نمونه‌گیری از سطح خارجی، آبشش، همولنف و هیاتوپانکراس انجام گرفت و با رعایت شرایط آسپتیک، به محیط کشت‌های در نظر گرفته شده تلقیح شد.

بمنظور نمونه‌برداری میگو از استخرهای پرورشی ذکر شده، از سینی‌های غذادهی هر استخر استفاده گردید. برای اینکه میگوهای نمونه‌برداری شده کاملاً بصورت تصادفی جمع‌آوری شوند و نماینده جمعیت میگوهای استخر باشند، یک تا دو ساعت قبل از غذادهی و در ساعات اولیه بامداد نمونه‌برداری انجام گرفت. پس از بالا کشیدن سینی‌های غذادهی، میگوهای موجود در سینی با کمک یک پنس استریل به ظروف پلاستیکی ۲۰ لیتری دهان‌گشادی که قبلاً سطح داخلی آن با استفاده از شوینده مناسب شستشو شده و پس از خشک شدن با آب مقطر استریل نیز آبکشی شده بود و به میزان ۱/۳ حجم آنها از آب استخر مورد آزمایش پر شده بود، انتقال یافتند. سپس روی هر ظرف اطلاعات مربوط به نمونه‌برداری ثبت گردید و سریعاً به آزمایشگاه مرکز تحقیقات میگوی ایران منتقل می‌شد.

بمنظور جلوگیری از آلوده شدن نمونه‌ها و محیط‌های کشت با اسپورهای قارچی موجود در هوا، قبل از

Archive of SID

آغاز فعالیت‌های آزمایشگاهی، هواکش و کولر خاموش شده و همچنین در هنگام تلقیح نمونه‌ها از ماسک نیز استفاده می‌شد. قبل از خارج کردن میگوها از درون ظروف پلاستیکی، چگونگی شنا کردن آنها مورد توجه قرار می‌گرفت، زیرا شنا کردن نامنظم و نامتعادل می‌تواند دال بر بیمار بودن میگو باشد. سپس هر یک از میگوها با کمک یک پنس استریل، در کنار شعله، به یک پتری دیش استریل انتقال پیدا می‌کرد و با استفاده از پنس و اسکالپل استریل به بررسی و معاینه وضعیت ظاهری میگو مثل رنگ میگو، زخم‌ها و ضایعات سطحی، نرم‌شدگی پوسته و تغییر رنگ آبشش‌ها پرداخته می‌شد.

پس از بررسی وضعیت ظاهری سطح میگو، برای نمونه‌گیری از سطح خارجی، براساس روش Lightner (۱۹۸۸)، ابتدا با استفاده از آب دریای استریل شده میگوها چندین بار شستشو داده شدند. برای جداسازی عوامل قارچی از شش محیط کشت جهت تلقیح اولیه استفاده شد. این محیط‌ها عبارت بودند از: محیط کشت سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل نرمال (Normal SC)، محیط کشت سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و ۲/۵ درصد کلرید سدیم (Salty SC)، محیط کشت سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزاماید نرمال (Normal SCC)، محیط کشت سابوردکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزاماید و ۲/۵ درصد کلرید سدیم (Salty SCC)، محیط کشت عصاره جو آگار (MEA)، محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) و کاز آمینو اسید آگار. برای افزایش امکان جداسازی گونه‌های اسپریبلوس و همچنین برخی از گونه‌های اگزوفیالا از محیط عصاره جو آگار (Roberts & Olufemi, 1983) و همچنین برای افزایش امکان جداسازی گونه‌های فوما از محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (Van Hyning & Scarborough, 1973) استفاده شد. علاوه بر محیط‌های معمولی از محیط‌های حاوی ۲ تا ۳ درصد (W/V) کلرید سدیم نیز استفاده گردید (Austin & Austin, 1989).

بعد از آماده شدن محیط‌های کشت از تمامی قسمت‌های خارجی، آبشش‌ها، هیاتوپانکراس و همولف با استفاده از پنس استریل قسمتهایی برداشته می‌شد و در محیطها تلقیح می‌گردید.

پس از نمونه‌برداری از میگوهای هر استخر، اقدام به نمونه‌برداری از آب آن استخر می‌شد. برای این منظور، یک بطری استریل بصورت واژگون، وارد آب می‌شد. پس از رسیدن به عمق ۳۰ سانتی‌متری درب بطری به آرامی باز می‌شد. با پر شدن بطری درب آن را بسته و برای جلوگیری از رسیدن نور از فویل

آلومینیوم استفاده می‌گردید (امتیازی، ۱۳۷۵). در آزمایشگاه پس از همگن کردن نمونه‌های آب جمع‌آوری شده، در شرایط آسپتیک، تلقیح به محیط‌های مذکور صورت می‌گرفت. برای شناسایی کلنی‌های جداسازی شده بر روی محیط‌های کشت، پس از ثبت اطلاعات لازم، محیط‌های کشت به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال می‌یافت. شناسایی کلنی‌های کپکی و مخمری، طبق اصول رایج در آزمایشگاه قارچ‌شناسی صورت گرفت (زینی و همکاران، ۱۳۷۷).

برای تعیین بیماریزا بودن یا نبودن کلادوسپوریوم‌ها علاوه بر تست ژلاتین ۱۲ درصد، توانایی رشد در حرارت‌های ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد و ۴۲ تا ۴۷ درجه سانتیگراد و توانایی رشد بر روی محیط SCC انجام گرفت (زینی و همکاران، ۱۳۷۷).

در مورد شناسایی قارچ‌های دمتیاسئوس علاوه بر روش‌های رایج از محیط‌های سابورودکستروز آگار و کارآمینو اسید آگار حاوی غلظت‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۱، ۱۳ و ۱۵ درصد کلرید سدیم استفاده شد (Kane & Summerbell, 1987).

یکی از روش‌های مورد استفاده برای شناسایی مخمرها آزمایش دیسک دیفیوژن بود. در آزمون دیسک دیفیوژن، می‌توان کلنی‌های مخمری را براساس اختلاف حساسیت آنها به شش ماده شیمیایی شناسایی نمود. این شش ماده عبارتند از سبز ژانوس (JG)، اتیدیوم برماید (EB)، تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC)، سبز درخشان (BG)، سیکلوهگزاماید (CY) و رودامین ۶ جی (Sobczak, R6G) (1985). این روش بسیار مقرون به صرفه و دقیق می‌باشد به طوری که نتایج حاصل از این آزمون به میزان ۹۵/۳ درصد با نتایج API AUX 20C مطابقت نشان داد.

تمامی آسپرژیلوس فلاووس‌های جدا شده، با استفاده از محیط کشت تقویت‌کننده تولید آفلاتوکسین (Aflatoxin Producing Ability Medium, APA) (Hara et al., 1974) و همچنین محیط کشت نارگیل آگار (Coconut Agar Medinm, CAM) (Davis et al., 1987)، از نظر توانایی تولید آفلاتوکسین مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای خواندن نتایج محیط APA ۱۰ روز پس از تلقیح و محیط CAM، ۲ تا ۵ روز پس از تلقیح اقدام می‌گردید.

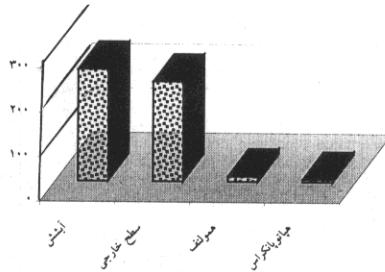
بطور کلی در این بررسی ۷۱۹ مورد کلنی قارچی از میگو و آب استخرهای پرورش میگو جدا شده و مورد شناسایی قرار گرفت. از این تعداد ۵۲۶ کلنی کپکی (۷۳/۱۵ درصد)، ۱۷۹ کلنی مخمری (۲۴/۸۹ درصد)، ۱۲ مورد میسیلیوم استریل (۱/۶۶ درصد) و ۲ مورد نیز کلنی ناشناخته (۰/۲۷ درصد) جدا گردید. از کل کلنی‌های قارچی جدا شده ۶۹/۱۲ درصد مربوط به میگو و ۳۰/۸۷ درصد مربوط به آب استخرهای پرورشی بود. در مورد میگو نمونه‌برداری از سطح خارجی، آبشش، همولف و هیپاتوپانکراس بعمل آمد که بترتیب ۳۲/۲۶ درصد، ۳۴/۳۵ درصد، ۱/۳۹ درصد و ۱/۱۱ درصد کلنی قارچی جدا شد (نمودار ۱). محیط‌های مورد استفاده جهت تلقیح اولیه عبارت بودند از SC نرمال، SC نمکی، SCC نرمال، SCC نمکی، MEA و PDA که بترتیب ۳۴/۶۳ درصد، ۳۵/۶۰ درصد، ۲/۰۸ درصد، ۱/۵۲ درصد، ۱۷/۳۸ درصد و ۸/۷۶ درصد کلنی قارچی از این محیط‌ها جدا شد (نمودار ۲). قارچ‌های جدا شده که بیشترین فراوانی را داشتند (۶۲/۴۰ درصد) عبارت بودند از: گونه‌های اسپرژیلوس (۹/۴۵ درصد)، گونه‌های فوزاریوم (۷/۷۸ درصد)، گونه‌های کلادوسپوریوم (۶/۵۳ درصد)، اسپرژیلوس نایجر (۶/۱۱ درصد)، رودوترولا روبرا (۵/۹۸ درصد)، اسپرژیلوس فلاووس (۵/۹۸ درصد)، گونه‌های پنسیلیوم (۵/۸۴ درصد)، آلترناریا آلترناتا (۵/۲۸ درصد)، کاندیدا آلبیکنس (۵/۲۸ درصد) و گونه‌های کاندیدا (۵/۱۴ درصد).

سایر قارچ‌ها (۳۷/۶۰ درصد) بترتیب فراوانی عبارتند از: گونه‌های آلترناریا (۴/۳۱ درصد)، پسیلوماپسس (۴/۰۳ درصد)، اسپرژیلوس فومیگاتوس (۲/۹۲ درصد)، رایزوپوس (۲/۶۴ درصد)، آکرومونوم (۲/۳۶ درصد)، استمفیلیوم (۲/۰۸ درصد)، گونه‌های اگزوفیالا (۲/۰۸ درصد)، فوما (۱/۹۴ درصد)، میسیلیوم استریل (۱/۶۶ درصد)، موکور (۱/۲۵ درصد)، ژئوتریکوم، کاندیدا کروژی، کرایزوسپوریوم، گونه‌های فیالوفورا (هر کدام ۰/۹۷ درصد)، اسکویولاریوسیسیس، اگزوفیالا ورنیکی، کاندیدا گلابراتا، کریبتوکوکوس آلبیدوس (هر کدام ۰/۸۳ درصد)، تریکودرما، کاندیدا تریپیکالیس، کتومیوم (هر کدام ۰/۵۵ درصد)، کریبتوکوکوس لارنتی، اسپرژیلوس آخراستوس (هر کدام ۰/۴۱ درصد)، ساکاروماپسس سرویزه، رودوترولا مینوتا، اسپرژیلوس آکولیتوس، کاندیدا گیلرموندی (هر کدام ۰/۲۷ درصد) و تریاکوسپورون (۰/۱۳ درصد) (شکل ۱ و نمودار ۳).

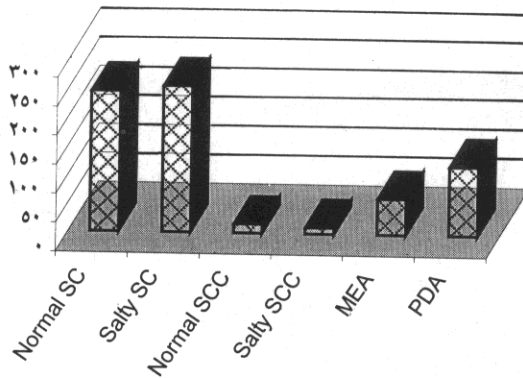
تمامی کلادوسپوریوم‌ها دارای تست ژلاتین مثبت، توانایی رشد در ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد و عدم

Archive of SID

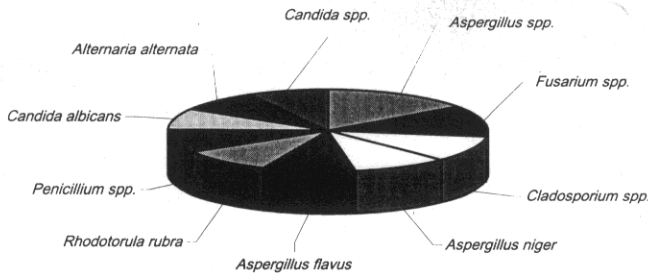
توانایی رشد در ۴۲ تا ۴۳ درجه سانتیگراد و توانایی رشد روی محیط‌های سابورودکستروز آگار و گاز آمینو اسید آگار حاوی ۱۵ درصد (W/V) کلرید سدیم بودند و لذا همگی غیربیماریزا و ساپروفیت تلقی گردیدند. با استفاده از تست فلئوروسنت کیفی انجام شده با محیط‌های APA و CAM فقط ۲ مورد از ۴۳ مورد کلنی آسپرژیلوس فلاووس جدا شده توانایی تولید آفلاتوکسین را دارا بودند.



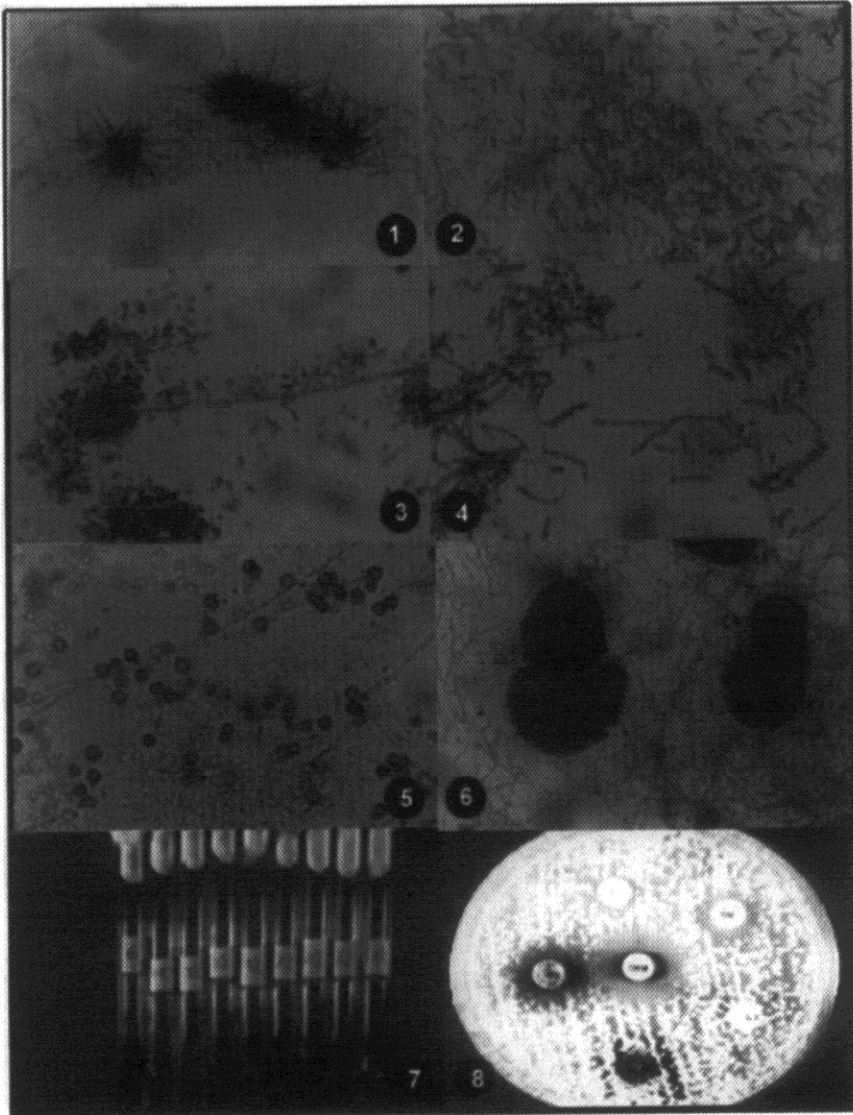
نمودار ۱: مقایسه فراوانی قارچهای جدا شده از میگو برحسب نوع اندام



نمودار ۲: مقایسه محیط کشت‌های بکار رفته از نظر فراوانی قارچهای جدا شده توسط هر محیط



نمودار ۳: قارچهایی که بیشترین فراوانی را دارا بودند



شکل ۱: پریشیای قارچ کتومیوم (*Chaetomium*)، ۲- ماکروکنیدیهای قایقی شکل فوزاریوم (*Fusarium*)، ۳- اندام زایای اسپرژیلوس فلاوس (*Aspergillus flavus*)، ۴- میسیلیومهای کلادوسپوریوم (*Cladosporium*)، ۵- کلایدوکنیدیهای کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) روی ژلوز آرد ذرت، ۶- پیکنیدیومهای فوما (*Phoma*)، ۷- محیطهای سابوردکستروز آگار حاوی درصدهای مختلفی از NaCl و ۸- آزمایش دیسک دیفیوژن برای شناسایی مخمرها.

جدول ۱: فراوانی قارچ‌های جدا شده از آب استخرهای پرورشی و میگوی ببری سبز استان بوشهر به تفکیک محل نمونه‌گیری (۱۸ مرداد لغایت ۲۰ آبان ۱۳۷۸)

| میگو | | | | | نمونه‌های قارچ جدا شده |
|--------------|-------|-----------|------|----|------------------------------|
| هیاتوپانکراس | همولف | سطح خارجی | آبشش | آب | |
| ۰ | ۲ | ۳۸ | ۲۰ | ۸ | <i>Aspergillus sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱۹ | ۱۶ | ۲۱ | <i>Fusarium sp.</i> |
| ۱ | ۰ | ۱۲ | ۱۵ | ۱۹ | <i>Cladosporium sp.</i> |
| ۲ | ۱ | ۱۰ | ۱۶ | ۱۷ | <i>Aspergillus niger</i> |
| ۰ | ۱ | ۱۶ | ۱۴ | ۱۲ | <i>Aspergillus flavus</i> |
| ۰ | ۰ | ۱۳ | ۲۴ | ۶ | <i>Rhodotorula rubra</i> |
| ۰ | ۰ | ۱۵ | ۱۷ | ۱۰ | <i>Penicillium sp.</i> |
| ۵ | ۶ | ۸ | ۷ | ۱۲ | <i>Candida albicans</i> |
| ۰ | ۰ | ۵ | ۶ | ۲۷ | <i>Alternaria alternata</i> |
| ۰ | ۰ | ۹ | ۱۶ | ۱۲ | <i>Candida sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۷ | ۱۲ | ۱۲ | <i>Alternaria sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱۱ | ۸ | ۱۰ | <i>Paecilomyces sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱۱ | ۱۰ | ۰ | <i>Aspergillus fumigatus</i> |
| ۰ | ۰ | ۷ | ۰ | ۱۲ | <i>Rhizopus sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۱۷ | ۰ | <i>Acremonium sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۴ | ۴ | ۷ | <i>Stemphylium sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۳ | ۶ | ۶ | <i>Exiophiala sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۴ | ۳ | ۷ | <i>Phoma sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۶ | ۰ | ۶ | <i>Strile mycelium</i> |
| ۰ | ۰ | ۱ | ۱ | ۷ | <i>Mucor sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۷ | ۰ | ۰ | <i>Geoterichum sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۷ | ۰ | <i>Candida krusei</i> |
| ۰ | ۰ | ۲ | ۵ | ۰ | <i>Chrysosporium sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۷ | ۰ | ۰ | <i>Phialophora sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۴ | ۲ | ۰ | <i>Scopulariopsis sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | <i>Exophiala werneckii</i> |

| میگو | | | | | نمونه‌های قارچ جدا شده |
|--------------|-------|-----------|-----|----|--------------------------------|
| هپاتوپانکراس | همولف | سطح خارجی | آبش | آب | |
| ۰ | ۰ | ۲ | ۳ | ۱ | <i>Candida glabrata</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۶ | ۰ | <i>Cryptococcus albidus</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۴ | <i>Trichoderma sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۳ | ۱ | <i>Candida tropicalis</i> |
| ۰ | ۰ | ۲ | ۰ | ۲ | <i>Chaetomium sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱ | ۲ | ۰ | <i>Cryptococcus laurenti</i> |
| ۰ | ۰ | ۳ | ۰ | ۰ | <i>Aspergillus ochraceus</i> |
| ۰ | ۰ | ۱ | ۱ | ۰ | <i>Saccharomyces cerevisae</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۲ | ۰ | <i>Rhodotorula minuta</i> |
| ۰ | ۰ | ۲ | ۰ | ۰ | <i>Aspergillus acolitus</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۲ | ۰ | <i>Candida guilliermondii</i> |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۱ | ۰ | <i>Trichosporon sp.</i> |
| ۰ | ۰ | ۱ | ۱ | ۰ | unknown |

بحث

قارچ‌های ساپروفیت در محیط پیرامون ما از جمله در آب دریاها و اقیانوس‌ها پراکنده بوده و توانایی بقاء زیادی در آن محیط‌ها را دارند. بعضی از این قارچ‌ها از نظر بیماری‌زایی در آبزیان و مخصوصاً در میگوها حائز اهمیت می‌باشند. بیشترین مطالعات انجام شده در زمینه میگو بر روی مراحل لاروی این آبزی صورت گرفته است و قارچ‌هایی مثل لائینیدیوم، هالیفتروس و ساپروولگنیا به دفعات در گزارشها دیده می‌شوند. در مطالعه‌ای که بر روی مراحل لاروی میگوی ببری سبز انجام شده ۲۹ نوع قارچ جداسازی و شناسایی گردید. از بین قارچ‌های جدا شده کاندیدا تروپیکالیس، گونه‌های فوزاریوم، فوزاریوم سولانی، رودوترولا، پنی سیلیوم و سودوآلشریابوئیدی مهمترین قارچ‌های یافت شده بودند. البته در این مطالعه بعضی از قارچ‌های مهم رده فیکومیست‌ها مثل لائینیدیوم جدا نگردید (زرگر، ۱۳۷۷). قارچ فوزاریوم سولانی (*F. solani*)، فوزاریوم مونیلی فرم (*F. moniliform*) و فوزاریوم ترسیسینکتوم (*F. tricinctum*) نیز بعنوان قارچ بیماری‌زا در میگوهای جوان و بالغ معرفی شده است (Egusa, 1972; Ishikawa, 1968; Ruangpan, 1982). قارچ فوزاریوم سولانی غیر از میگوهای آب شور برای برخی از آبزیان آب شور مثل لاک‌پشت سر بزرگ دریایی (*Caretta caretta*) و یا آبزیان آب شیرین مثل خرچنگ آب شیرین

یکی از مسائلی که میگوها را تهدید می‌نماید بیماری فوزاریوم (Fusarium Disease) می‌باشد. عامل ایجادکننده این بیماری *F. solani* می‌باشد که در کشورهای مختلفی مثل ژاپن (Egusa, 1972)، فیلیپین (Baticados & Paclibare, 1992)، چین (Chen et al., 1992 ; Sun et al., 1991) و هند گزارش شده است. این قارچ بر روی تمام مراحل زندگی میگو اثر می‌گذارد و توانایی ایجاد بیماری را دارد. رشد میسلیوم‌های این قارچ می‌تواند موجب Locomotory گردد (Wu & Chen, 1992). علاوه بر این بیماری، قارچ *F. solani* قادر است به آبشش‌ها نیز حمله کرده و موجب تخریب و سیاه شدن آنها گردد که به این بیماری، آبشش سیاه (Black Gill Disease) می‌گویند. در بین گونه‌های مختلف فوزاریوم گونه‌های دیگری نیز مانند فوزاریوم مولینی‌فرم (*F. moniliform*) و فوزاریوم تریسینکتوم (*F. tricinctum*) نیز بعنوان بیماریزا در میگوهای خانواده پنائیده جداسازی و شناسایی شده‌اند. در عفونت‌های قارچی ایجاد شده توسط فوزاریوم سولانی، ضایعاتی با اندازه‌های متفاوت و اشکال نامنظم با زخم‌های ملانیزه تا ندولار در کوتیکول ایجاد می‌نماید (Wu & Chen, 1992 ; Yang et al., 1995). در نمونه‌های بررسی شده در این مطالعه، سه مورد ضایعه آبشش سیاه مشاهده شد ولی پس از انجام آزمایش مستقیم و کشت قارچ فوزاریوم جدا نگردید و بنظر می‌رسد که عوامل دیگری از قبیل: عفونت‌های موضعی باکتریایی مانند گونه‌های ویبریو (*Vibrio spp.*)، پروتوزوآها، بالا بودن میزان نیتريت، فلزات سنگین مثل کادمیوم، کروم و مس و کاهش pH آب ممکن است علت ایجاد آبشش سیاه باشد.

از میان قارچ‌های ساپروفیت جدا شده در مطالعه حاضر چهار جنس از نظر تولید توکسین‌های قارچی مد نظر قرار می‌گیرند که عبارتند از: *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Penicillium spp.* و *Aspergillus spp.* که از نظر فراوانی جزء ۱۰ قارچ رده اول جدول ۱ می‌باشند. میزان این قارچ‌ها در آب استخر و روی سطح خارجی و آبشش میگو به دو دلیل ممکن است افزایش یابد: الف) معمولاً غذاهایی را که برای انسان ارزش غذایی ندارند برای تغذیه میگوها استفاده می‌نمایند و ب) موادی را که برای تغذیه میگوها بکار می‌برند در مکان‌ها و شرایط گرم و مرطوب انبار می‌نمایند. قارچ‌های ذکر شده روی قزل‌آلا و میگوهای آب شور و یا سایر آبزیان رشد می‌نمایند و علاوه بر اینکه از ارزش غذایی این مواد غذایی می‌کاهند با تولید سموم قارچی می‌توانند آنها را آلوده نمایند. گونه‌های فوزاریوم، سمی به نام Ochratoxin تولید می‌کنند. بعضی از گونه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم نیز با تولید آفلاتوکسین‌ها و مایکوتوکسین‌ها موجب آلودگی مواد غذایی مذکور می‌شوند (Williams & Blaney, 1992 ; Wu & Salunkhe, 1978).

تعداد ۴۲ سوش *A. flavus* جداسازی شده از سطح خارجی، آبشش و آب استخرهای پرورش میگو از نظر توانایی تولید آفلاتوکسین مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی از ۲ سوش شاهد یکی مثبت و دیگری منفی استفاده شد که این ۲ سوش استاندارد نبوده و توکسین زابودن یا نبودن آنها توسط کروماتوگرافی لایه نازک ارزیابی شده و ثابت گردیده بود.

Wiseman و همکاران در سال ۱۹۸۲ پس از تغذیه میگوها با غذاهای آلوده به آفلاتوکسین نشان دادند که این سم می‌تواند موجب مرگ میگوها گردد. در میگوهای تغذیه شده با مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین، هیپاتوپانکراس تغییر رنگ داده و قرمز رنگ می‌گردد و تغییرات هیستولوژیک در اندام لنفاوی و هیپاتوپانکراس دال بر حضور آفلاتوکسین در غذا می‌باشد (Wiseman et al., 1982).
Lightner در سال ۱۹۸۸ اعلام نمود که آفلاتوکسین موجب بی‌اشتهایی و کاهش رشد میگوها و حتی مرگ و میر آنها می‌شود.

نکته‌ای که باید مد نظر داشت این است که در یک ضایعهٔ نکروزه، اغلب تعیین اینکه قارچ ساپروفیت جدا شده موجب پیدایش ضایعهٔ نکروزه شده یا اینکه صرفاً روی بافت آسیب دیده بصورت ساپروفیت و ثانویه مقیم شده است، مشکل می‌باشد. برای ابراز نظر قطعی باید از روشهای بافت‌شناسی و آسیب‌شناسی بهره جست.

تشکر و قدردانی

از همکاران گرامی خانم‌ها سایه حسامیان، نسرين قرائیان و آقای صادق نبوی که در راستای پیشرفت این پروژه ما را یاری نموده‌اند کمال تشکر را داریم.

منابع

- امتیازی، گ.، ۱۳۷۵. آزمایش‌های میکروبی آب و پساب. انتشارات مانی. چاپ اول، ۲۰۶ صفحه.
راسخی، ص.، ۱۳۷۴. بیماریهای میگوی پنائیده. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. اداره کل آموزش و ترویج. ۵۴ صفحه.
زرگر، الف.، ۱۳۷۷. جداسازی و شناسایی فلور قارچی میگوهای پرورشی ایران در مرحله تکثیر. پایان‌نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۵ صفحه.
زینی، ف.؛ مهبد، الف و امامی، م.، ۱۳۷۷. قارچ‌شناسی پزشکی جامع. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۷۰ صفحه.

- Austin, B. and Austin, D.A. , 1989. Methods for microbiological examination of fish and shellfish. Published by Ellis Hor Wood Limited. pp.240-272.
- Baticados, M.C.L. and Paclibare, J.O. , 1992. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines; Disease in Asian aquaculture. pp.531-546.
- Brett, J.R. , 1958. Implication and assessment of environmental stress in the investigation of fish power problems. J. University of British Columbia. Vol. 12, pp.118-125.
- Cabanes, F.J. ; Alonso, J.M. ; Castella, G. ; Alegre, F. ; Domingo, M. and Pons, S., 1997. Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Fusarium solani* in a Loggerhead Sea turtle (*Caretta caretta*). J. Clin. Microbiol, Vol. 35, No. 12, pp.3343-3345.
- Chen, B.O. ; Wu, Y. and Yang, J. , 1992. Study on pathogenicity of a species of *Fusarium* in the culture adult prawn (*Penaeus chinensis*). Donghai. Mar. Sci. Donghai. Haiyang. Vol.10, No.4. pp.7-15.
- Davis, N.S. ; Lyer, S.K. and Diener, U.L. , 1987. Improved method of screening for Aflatoxin with a coconut agar medium; Appl. Environmental Microbiol. Vol. 53. pp.1593-1595.
- Egusa, S.T. , 1972. A *Fusarium* sp. associated with black gill disease of Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus* (Bate); Bull. Jap. Soc. Sci. fish. Vol. 38, pp.1253-1260.
- Hara, S. ; Fennell, D.I. and Hesseltine, C.W. , 1974. Aflatoxin producing strain of *Aspergillus flavus* detected by fluorescence of agar medium under ultraviolet light. Appl. Microbiol. Vol. 27, pp.1118-1123.
- Ishikawa, Y. , 1968. Preliminary report on black gill disease of Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus* (Bate); Fish Pathol; Vol. 3, pp.34-38.
- Kane, J. and Summerbell, R.C. , 1987. Sodium chloride as aid in identification of *Phaeoannellomyces werneckii* and other medically important *Dematiaceous* fungi. J. Clin. Microbiol. pp.944-946.
- Lightner, D.V. , 1988. Diseases of culture penaeid shrimp and prawns. In: Disease

- diagnosis and Control in north American Marine Aquaculture, (Eds. C.J. Sindermann and D.V. Lightner). 2nd Ed., Elsevier, New York. pp.8-127.
- Olufemi, B.E. and Roberts, R.J. , 1983.** Method for the isolation of *Aspergillus* species pathogens of fish from clinical material. Veterinary Record; Vol. 15, pp.15-21.
- Ruangpan, L. , 1982.** Diseases and parasites of *Penaeus monodon* (Fabriucius); Thailand fish. Vol. 35, No. 4, pp.385-387.
- Sobejak, H. , 1985.** A simple disk diffusion test for identification of yeast species; Medical Microbiol. Vol. 20, pp.307-316.
- Sun, X. ; Zhang, J. and Wang, R. , 1991.** The use of Chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines Disease in Asian aquaculture. pp.531-46.
- Van-Hyning, Y.N. and Scarborough, A.M. , 1973.** Identification of fungal encrustation on the shell of the snow crab, *Chionoecetes bairdi*. J. Fish Res. Board of Canada. Vol. 30, pp.1738-1739.
- Williams, K.S. and Blaney, B.Y. , 1992.** The potential of moulds to reduce the value of feed stuff proceedings of the aquaculture. Nutrition Workshop Salamander bay NSW, Australia NSW Fisheries. pp.205-213.
- Wiseman, M.O. ; Lightner, D.V. and Williams, R.P. , 1982.** Toxicity of aflatoxin B to Penaeid shrimps. Appl. Environ. Microbiology. Vol. 44, pp.1479-1481.
- Wu, M.T. and Salunkhe, D.K. , 1978.** Mycotoxin producing potential of fungi associated with dry shrimps. J. Appl. Bacteriol. Vol. 45, No. 2, pp.231-238.
- Wu, Y. and Chen, B.O. , 1992.** Studies on the cytopathology of *Fusarium solani* disease in *Penaeus chinensis*. Donghai. Mar. SCI. Donghai. Haiang. Vol. 10, No. 4, pp.21-26.
- Yang, S. ; Xu, H. and Su, W. , 1995.** Pathogenic organisms for cultivated Penaeid shrimps in Xiamen. G. Xiamen, Univ., Nat. "SCI", XIAMEN- DAXUE-Xue Bao. Vol. 34, No. 2, pp.287-291.