

جداسازی و شناسایی قارچهای ساپروفیت از آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلاهی رنگین کمان در مزارع تکثیر استان مازندران

حسینعلی ابراهیم زاده موسوی^{۱*} سید مهدی حسینی فرد^۲ علیرضا خسروی^۳ مهدی سلطانی^۱ مهدی یوسفیان^۲

^۱ گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران
^۲ دانش آموخته رشته بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران - ایران
^۳ گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران
^۴ بخش آبی پروری اکولوژی دریای خزر

(دریافت مقاله: ۱۳ بهمن ماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۹ خرداد ماه ۱۳۸۵)

چکیده

از تخمهای قارچ زده (۹۰۰ نمونه) از ۶ مزرعه در استان مازندران نمونه برداری و محیطهای ساپور و دکستر و آگار، کرن میل آگار، گلوکز پپتون آگار و همچنین در محیط آب مقطر استریل به همراه دانه شاهدانه در دمای اتاق ۲۴-۱۸ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. سپس کلنیهای قارچ رشد یافته از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۱۲ نوع قارچ بر اساس مشخصات ریخت شناسی جداسازی گردید که ۳ قارچ متعلق به خانواده ساپروولگنیاسه آ که عبارتند از ساپروولگنیا پارازیتیکا، گونه ساپروولگنیا، گونه آکلیدا. ۹ قارچ دیگر شناسایی شده عبارتند از: پنی سیلیوم، اسپریژیلوس، پسیلیومایسس، آکرو مونیوم، فوزاریوم اکسیسپاروم، فوزاریوم سولانی، آلترناریا، هلمنتوسپوریوم و موکور در این مطالعه قارچهای ساپروولگنیا پارازیتیکا، گونه ساپروولگنیا، گونه آکلیدا که از قارچهای بیماریزای مهم در ماهی محسوب می شوند، از تخمهای قارچ زده جداسازی و شناسایی گردیدند و به نظر می رسد که عامل اصلی آلودگی قارچی تخم در مراکز تکثیر قزل آلا قارچهای خانواده ساپروولگنیا بویژه قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا با ۱۸/۱۳٪ موارد جداسازی باشد. البته قارچهای ساپروفیت جدا شده نیز قادر به استقرار و رشد روی تخمهای مرده بوده و می توانند در پیشرفت آلودگی قارچی تخم موثر باشند.

واژه‌های کلیدی: عفونت قارچی، تخم قزل آلاهی رنگین کمان، ساپروولگنیا، آکلیدا.

مقدمه

از ده سال پیش تولیدات آبی پروری بطور متوسط یازده درصد در سال افزایش یافته است و این سریعترین رشد در بخش اقتصاد جهانی غذاست. بطوریکه تولید جهانی آبزیان از سیزده میلیون تن در سال ۱۹۹۰ به ۳۷/۹ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ رسید (۲۲). که در این میان آبی پروری بیش از ۳۰ درصد کل مصرف جهانی آبزیان را تامین می کند (۹) و عمده ترین تولید جهانی ماهی، از پرورش ماهیان آب شیرین با تولیدی بمیزان ۵۸ درصد حاصل می گردد. کشور ما ایران نیز از این امر مستثنی نبوده و تکثیر و پرورش آبزیان بویژه ماهیان سردآبی در اکثر نقاط کشور در حال انجام است. و باید در پایان برنامه چهارم توسعه (۱۳۸۸) میزان تولید قزل آلاهی کشور به ۵۹۰۰۰ تن برسد. این افزایش تولید از دوره امکان پذیر است. اول افزایش مساحت زیرکشت و دوم افزایش تولید در واحد سطح زیرکشت، که در آینده ای نه چندان دور به سمت پرورشهای متراکم و افزایش تولید در واحد سطح زیرکشت پیش خواهیم رفت بنابراین شناخت دقیق بیماریها و پیشگیری از آنها مهمترین موفقیت در آینده صنعت آبی پروری کشور خواهد بود. در این میان یکی از موانع و مشکلات اساسی تولید، بروز عارضه قارچ زدگی تخم ماهیان قزل آلا در مرحله تکثیر مصنوعی آنهاست. به طوری که شواهد سالیان اخیر نشان دهنده این واقعیت است که حدود نیمی از تخمهای تولیدی مراکز تکثیر بدلیل قارچ زدگی از چرخه تولید خارج می شوند (۲۱). خسارت اقتصادی ناشی از این عارضه قابل توجه است و البته خسارت زیست محیطی ناشی از مصرف مالاشیت گرین را که به منظور درمان

و کنترل قارچ زدگی تخمها، علی رغم ماهیت سرطان زایی و ناقص الخلقه زایی آن (۱۷) مورد استفاده قرار می گیرد نباید از نظر دور داشت. با توجه به اینکه قارچها ارگانیسهای یوکاریوتی بوده که بدلیل فقدان کلروفیل قادر به تامین ماکرومولکولهای مورد نیاز خود از طریق فتوسنتز نیستند بنابراین دارای زندگی هتروتروف بوده و با قدرت آنزیمی خود سبب شکستن زنجیره های سنگین مواد شده و شرایط بازگشت آنها را به چرخه طبیعت فراهم می کنند (۱) در نتیجه تخمهای ماهی بویژه تخمهای مرده محلی برای کلونیزه شدن انواع مختلفی از قارچها است (۲۷). بخصوص اینکه تخم ماهی قزل آلاهی رنگین کمان در درجه حرارت نسبتاً پایین و بمدت طولانی نگهداری می شود تا لارو از تخم خارج گردد بنابراین در این زمان طولانی تخمها ممکن است به قارچهای بیماریزا آلوده گردند (۸) و از طرفی عواملی چون تراکم بالای تخم در هچریها و کیفیت متغییر فیزیکی و شیمیایی آب مانند تغییرات دمایی و آلودگی آب، خطای کارگر و پیش مولدین یا مولدین نارس از جمله عوامل مستعد کننده ایی هستند که زمینه را برای آلودگی قارچی فراهم می کنند (۴، ۶، ۱۵، ۲۰). عوامل قارچی متعددی می توانند در بروز عفونت های قارچی تخم ماهی و یا در پیشرفت عفونت موثر باشند. این تحقیق تلاش دارد به بررسی دقیق شناسایی عوامل قارچی دخیل در عارضه قارچ زدگی تخم ماهیان قزل آلا در مزارع تکثیر استان مازندران بپردازد.

مواد و روش کار

در طی این تحقیق که در فصول پاییز و زمستان ۱۳۸۳ انجام گرفت از



جدول ۲- فارجهای شناسایی شده تخم قارچ زده قزل آلابی رنگین کمان مزارع تکثیر استان مازندران برحسب مزرعه در سال ۱۳۸۳.

| مزرعه | مزرعه شماره ۱ | مزرعه شماره ۲ | مزرعه شماره ۳ | مزرعه شماره ۴ | مزرعه شماره ۵ | مزرعه شماره ۶ | جمع |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----|
| قارچ | | | | | | | |
| پنی سیلیوم | + | + | + | + | + | + | ۶ |
| پسیلیومیسیس | - | + | - | - | + | - | ۲ |
| آکرومونیم | + | + | + | - | - | + | ۴ |
| آسپرژیلوس | - | + | + | - | + | + | ۴ |
| فوزاریوم اکسیسپاروم | - | + | - | + | - | - | ۲ |
| فوزاریوم سولانی | - | + | + | + | + | - | ۴ |
| آلترناریا | + | + | + | - | + | - | ۴ |
| هلمنتوسپوریوم | - | + | - | + | - | - | ۲ |
| موکور | - | + | + | - | - | - | ۲ |
| سایپروولگنیا پارازیتیکا | - | + | + | + | + | + | ۵ |
| گونه شناخته نشده سایپروولگنیا | - | - | - | - | - | + | ۱ |
| گونه شناسایی نشده آکلیا | - | - | - | - | + | + | ۲ |
| جمع | ۳ | ۱۰ | ۷ | ۵ | ۷ | ۶ | ۲۸ |

شعله انجام می گرفت.

نتایج

در این بررسی که بر روی تخمهای قارچ زده ماهی قزل آلابی رنگین کمان در فصل پاییز و زمستان ۱۳۸۳ در ۶ مزرعه تکثیر استان مازندران انجام گرفت ۱۲ نوع قارچ بر اساس مشخصات مرفولوژی شناسایی گردید که ۳ نوع آن متعلق به خانواده Saprolegniaceae شامل: *Saprolegnia parasitica* sp.، *Saprolegnia Achlya* و *Saprolegnia* می باشد. مشخصات مشاهده شده قارجهای فوق بشرح زیر می باشد.

سایپروولگنیا پارازیتیکا: کلونی قارچ بر روی محیط گلوکز پپتون آگار بصورت پنبه ایی شکل متمایل به سفید رشد کرده (تصویر ۱) که بعد از حدود یک هفته کل محیط کشت را در دمای اتاق (۲۴-۱۸ درجه سانتیگراد) پر می نماید. هایفها به صورت سبتر، بدون دیواره عرضی، منشعب به قطر ۳۰ تا ۷۵ میکرون که البته هایفهای با قطر کمتر نیز مشاهده شده است. زئوسپورانژ یومها بصورت سیلندری یا نامنظم (تصویر ۲)، زئوسپورها دارای دو تاژک بوده و ابعاد آن ۱۱-۸×۹-۶ میکرون است (تصویر ۳). کیستهای توبی شکل و ۱۲-۹ میکرون قطر دارند و اسپورانژ یومهای جدید در داخل اسپورانژ یومهای قدیمی و تخلیه شده شکل می گیرند. جوانه زدن کیست بعد از دوره استراحت بصورت مستقیم انجام می گیرد (تصویر ۴). بر روی محیط کشت دانه ها و آب مقطر استریل اندام جنسی مشاهده نشده است و تنها گامه به اشکال مختلف و همیزی به ابعاد ۵۰-۵۰×۸۰-۴۰ میکرون دیده شد. با توجه به مشخصات فوق قارچ سایپروولگنیا پارازیتیکا تشخیص داده شد.

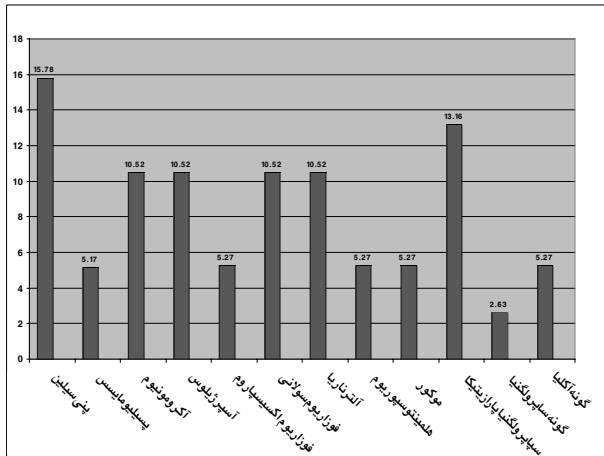
گونه سایپروولگنیا: در محیط کشت گلوکز پپتون آگار مشخصات جنس سایپروولگنیا را دارد و در محیط آب مقطر استریل به همراه دانه ها اندام جنسی

جدول ۱- مشخصات برخی از پارامترهای محیطی مزارع تکثیر قزل آلابی رنگین کمان استان مازندران در سال ۱۳۸۳.

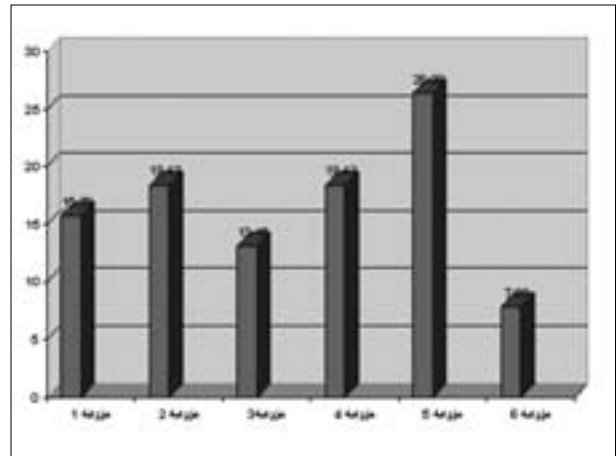
| پارامتر | شماره ۱ | شماره ۲ | شماره ۳ | شماره ۴ | شماره ۵ | شماره ۶ |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| مزرعه تکثیر ماهی قزل آلابی | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ |
| سن مولدین ماده بر حسب سال | ۴ | ۵ | ۵ | ۳ | ۲ | ۶ |
| تعداد تخم در انکوباتور در دسی متر مربع | ۴۲۰ | ۴۸۰ | ۶۵۰ | ۵۸۰ | ۶۰۰ | ۵۲۰ |
| درجه حرارت آب بر حسب سانتیگراد | ۱۲/۸ | ۱۰ | ۹ | ۹ | ۱۱ | ۸ |
| PH | ۷/۵ | ۸/۱ | ۷/۹ | ۸/۳ | ۸/۵ | ۸ |
| هدایت الکتریکی بر حسب میکروموس بر سانتی متر | ۹۸۰ | ۵۶۰ | ۸۳۰ | ۶۷۰ | ۵۰۰ | ۸۹۰ |
| شوری تقریبی بر حسب قسمت در هزار | ۰/۵۸ | ۰/۳۳ | ۰/۴۹ | ۰/۴۰ | ۰/۳۰ | ۰/۵۳ |
| درصد قارچ زدگی در زمان نمونه برداری | ۲۴ | ۲۸ | ۲۲ | ۲۲ | ۳۹ | ۲۰ |

تخمهای قارچ زده ۶ مزرعه تکثیر ماهی قزل آلابی رنگین کمان در استان مازندران نمونه برداری می شد. همچنین دما، PH، هدایت الکتریکی، شوری آب انکوباتور و درصد قارچ زدگی تخم در زمان نمونه برداری اندازه گیری و ثبت گردید. از هر مزرعه ۱۵۰ عدد تخم قارچ زده با پنس استریل از تیمارهای مختلف موجود در انکوباتورها برداشت شده و به لوله های در پیچ دار که حاوی آب مقطر استریل بود منتقل می شد البته لازم به یاد آور است که لوله ها به همراه آب مقطر در اتوکلاو و در شرایط استاندارد استریل شده بود. بعد از نمونه برداری، لوله ها به آزمایشگاه منتقل شده و در پتری دیش استریل تخلیه گردید و سپس مراحل زیر طی شد: از تخمهای قارچ زده ابتدا یک گسترش تهیه شده و مطالعه اولیه بر روی آن انجام می شد. سپس تخمها چند بار با آب مقطر استریل شسته شده و قسمتی از کلونی قارچ به همراه تخم بر روی محیط سایپروولگنیا آگار، کورن میل آگار و محیط کشت اختصاصی قارجهای سایپروولگنیا سه آ گلوکز-پپتون آگار (۲۳) منتقل می گردید. در تمام محیطهای فوق از دو آنتی بیوتیک پنی سیلین جی و استرپتومایسین به میزان ۲۵۰ میلی گرم در لیتر استفاده شد. محیطهای کشت در درجه حرارت اتاق «دمای ۱۸ الی ۲۴ درجه سانتیگراد» و زیر نور طبیعی قرار گرفته و روزانه از نظر رشد قارچ بررسی می شد و بعد از رشد قارچ مطالعه مقدماتی بر روی آن انجام می گرفت به منظور خالص سازی، قارجهای رشد یافته به محیطهای ثانویه منتقل می گردید. قارچها از نظر ماکروسکوپی (شکل و رنگ پرگنه، نحوه رشد و...) و میکروسکوپی (وجود دیواره عرضی، ساختار اندام جنسی، اندازه اسپورو آرایش آن و...) مطالعه و بررسی شدند. برای تحریک قارجهای سایپروولگنیا سه آ به منظور تولید اندام جنسی، قسمت انتهایی هر کلونی به همراه قسمتی از محیط کشت به ابعاد تقریبی ۵ میلی متر مربع بریده شده و در شرایط آسپتیک به پلیت حاوی آب مقطر استریل به همراه دانه شاهدانه استریل منتقل می گردید (۱۲، ۲۲). محیط آب مقطر استریل و شاهدانه در درجه حرارت اتاق «دمای ۱۸ الی ۲۴ درجه سانتیگراد» و زیر نور طبیعی قرار می گرفت. روزانه محیطهای فوق از نظر رشد قارچ بررسی می شد. در تمام مراحل فوق شرایط استریل رعایت شده و نقل و انتقال قارچ از یک محیط به محیط دیگر در بین دو

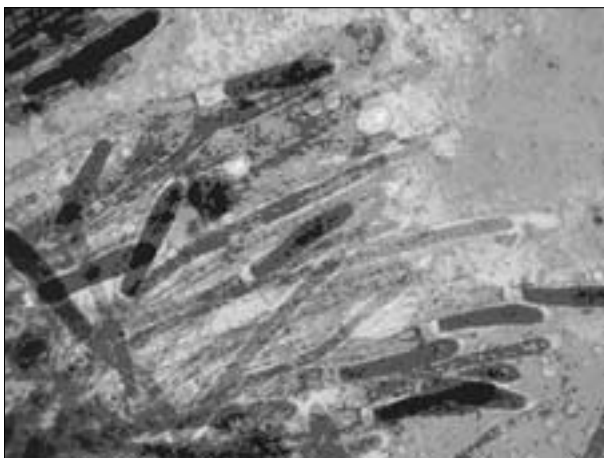




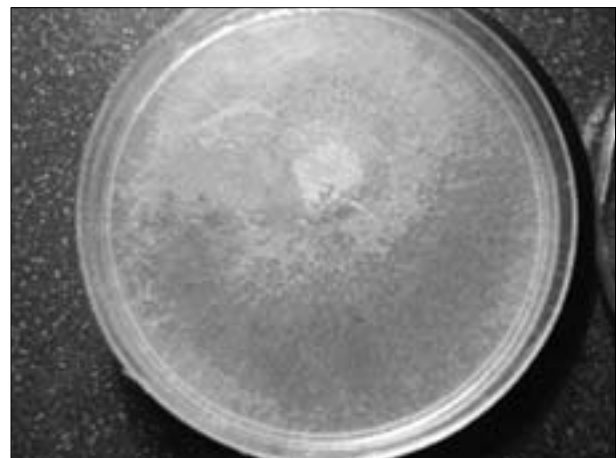
نمودار ۲- توزیع فراوانی نسبی قارچهای شناسایی شده تخمهای قارچزده مزارع تکثیر قزل آلالی رنگین کمان استان مازندران بر حسب نوع قارچ در سال ۱۳۸۳.



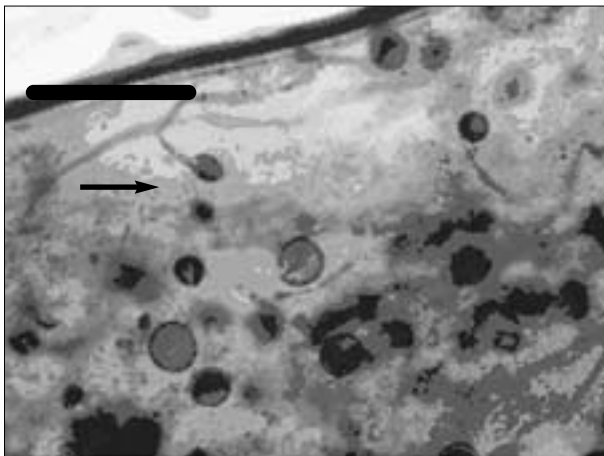
نمودار ۱- توزیع فراوانی نسبی قارچهای شناسایی شده بر حسب مزارع تکثیر قزل آلالی رنگین کمان استان مازندران در سال ۱۳۸۳.



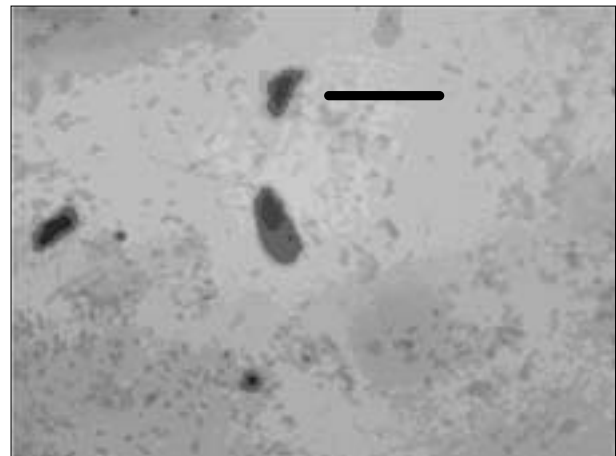
تصویر ۲- زئوسپورانژیوم ساپروولگنیا پارازیتیکا، گسترش مرطوب از آلوده به قارچ.



تصویر ۱- ساپروولگنیا بر روی محیط گلوکز پیتون آگار (پس از ۴ روز).



تصویر ۴- مرحله کیست و رویش ساپروولگنیا پارازیتیکا، نشانه جوانه زدن مستقیم را نشان می دهد (بار=۱۰۰ میکرون).



تصویر ۳- زئوسپور اولیه ساپروولگنیا پارازیتیکا (بار=۲۵ میکرون).

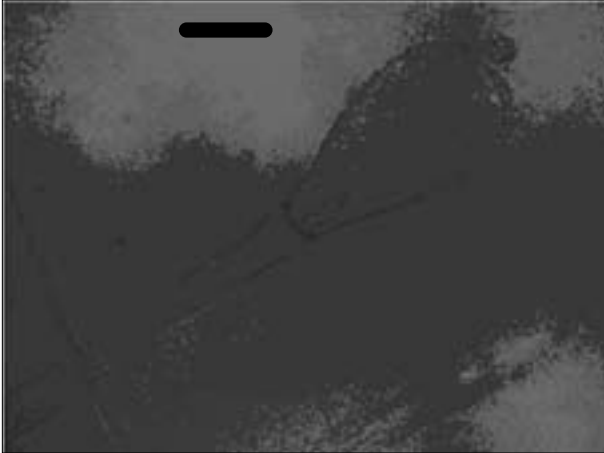
قدیمی رشد می نماید (تصویر ۶) بر روی شاهدانه در آب مقطر استریل تنها تولید گامه های زنجیری و بهم پیوسته شبیه دانه های تسبیح نموده است بنابراین نمی توان گونه آنرا شناسایی کرد.

۹ قارچ دیگر شناسایی شده عبارتند از: *Aspergillus*, *Penicillium*.

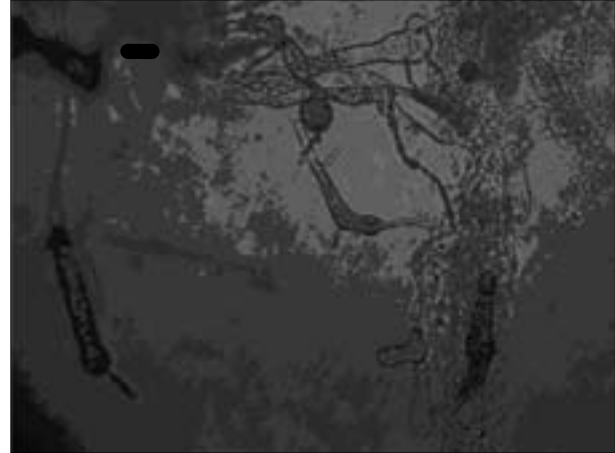
بوجود نمی آید و تولید گامه هایی سیلندری شکل و نامنظم کرده که دارای زوایند کوچک سیلندری شکل تانخی در قسمت انتهایی خود هستند (تصویر ۵).

گونه آکلایا: کلونیهها بر روی محیط گلوکز پیتون آگار بصورت پنبه ایی رشد کرده و هایفهایی بدون دیواره عرضی را نشان می دهد اسپورانژیومها چماقی شکل و باد کرده، مشاهده شده که اسپورانژیوم جدید در داخل اسپورانژیوم





تصویر ۶- اسپورانژیوم تخلیه شده و رشد اسپورانژیوم جدید داخل اسپورانژیوم قدیمی آکلیا (بار=۵۰ میکرون).



تصویر ۵- ساپروولگنیا با گامه ایی سیلندری شکل و نامنظم (بار=۱۰۰ میکرون).

گونه ساپروولگنیا است که موجب ساپروولگنیازیس در تخم ماهیان قزل آلی استان مازندران می‌گردد. علاوه بر آن دو گونه *Achlya* و *Saprolegnia sp.* نیز شناسایی شدند. طبق نظریه ویلوبای (۲۲، ۲۳) بلی (۵) و دیگر محققین *sp.* های متعلق به جنس ساپروولگنیا بیشترین عفونت قارچی را در ماهیان آب شیرین و تخم آنها ایجاد می‌کنند و در این میان ساپروولگنیا پارازیتیکامهمترین قارچ بیماریزای تخم ماهیان (۱۹، ۲۰، ۲۱) است که نتیجه این پژوهش از نظر فراوانی نسبی این قارچ موید این مسئله است. در این تحقیق تعدادی قارچ دیگر از تخم‌های قارچ زده ماهی قزل آلا جدا شد. از جمله پنی سیلیوم فری کوئنتیس، پسیلوماپیسس، آکرومونوم، فوزاریوم سولانی و اکسیسپاروم، آلترناریا، هلمنتوسپوریوم و موکور. که با توجه به نمودار ۲ بیشترین میزان آلودگی مربوط به قارچ پنی سیلیوم می‌باشد. مطمئناً این ارگانیسرها در توسعه آلودگی قارچی تخم نقش دارند و یک رابطه ثابت شده ای بین برخی از قارچها با ساپروولگنیا وجود دارد. بعنوان مثال قارچ ورونیا پلی سیستیس و روزلوپسیس از جمله انگلهای شناخته شده قارچ ساپروولگنیا هستند (۲۵). و در این تحقیق مشاهده شد که ساپروولگنیا در محیط‌های آلوده به فوزاریوم از رشد کمتری نسبت به محیط‌های مشابه برخوردار است هر چند که رابطه بین فوزاریوم و ساپروولگنیا بدرستی مشخص نیست ولی میولدر در تحقیقات مشابهی مشاهده نمود که در محیط کشت آب، فوزاریوم از رشد ساپروولگنیا می‌کاهد (۱۷). در این تحقیق نیز این مسئله مشاهده گردید که نیاز به بررسی دقیق تری دارد بنابراین با توجه به اینکه در این مطالعه عمده قارچ جدا شده از مزارع مختلف جمعیتی از ساپروولگنیا را نشان می‌دهد می‌توان چنین نتیجه گرفت که ساپروولگنیاسه آقارچ‌های اولیه ای هستند که در عرضه قارچ زدگی تخم ماهیان قزل آلا حضور دارند، ساپروولگنیا به تخم‌های مرده چسبیده، رشد کرده و به داخل دیواره تخم نفوذ می‌نماید و بر اساس خاصیت شیمو تاکسیک مثبت از تخم مرده به تخم زنده منتقل شده و با کاهش سرعت گردش آب و ترشح آنزیم موجب مرگ تخم زنده می‌گردند (۲۲، ۲۳). فراوانی نسبی قارچ‌های شناسایی شده در مزارع مختلف نشان می‌دهد که مزرعه شماره ۵ با جداسازی

Fusarium oxysporum، *Acremonium*، *Paecilomyces*، *Helminthosporium*، *Alternaria*، *F.solani* و *Mucor* بیشترین میزان قارچ زدگی تخم قزل آلی رنگین کمان در زمان نمونه برداری مربوط به مزرعه شماره ۵ (۳۹ درصد) و کمترین میزان قارچ زدگی تخم در زمان نمونه برداری مربوط به مزرعه شماره ۶ (۲۰ درصد) بوده است (جدول ۱ و ۲).
بیشترین تنوع قارچی در فارم شماره ۵ (۲۶/۳۲ درصد) و کمترین تنوع قارچی در فارم شماره ۶ (۷/۸۹ درصد) مشاهده گردید (نمودار شماره ۱). از ۱۲ نوع قارچ شناسایی شده پنی سیلیوم از هر ۶ مزرعه (۱۵/۷۸ درصد) و *Saprolegnia* از یک مزرعه (۲/۶۳ درصد) جداسازی و شناسایی گردید (نمودار ۲).

بحث

این تحقیق که در ۶ مزرعه تکثیر ماهی قزل آلی رنگین کمان در استان مازندران با دامنه حرارتی ۱۸ الی ۱۲/۸ درجه سانتیگراد و دامنه PH ۷/۵ الی ۸/۵ آب انجام پذیرفت، ۳ نوع قارچ متعلق به خانواده ساپروولگنیا سه آشناسایی گردید که ساپروولگنیا پارازیتیک با هایفهای ستبر و زئوسپورانژیوم سیلندری شکل و کیستهای کروی به قطر ۹ الی ۱۲ میکرون که بطریقه مستقیم جوانه می‌زدند بیشترین فراوانی را بین قارچ‌های این خانواده داشته است این موضوع بیانگر این حقیقت است که ساپروولگنیا پارازیتیک در آلودگی قارچی تخم ماهیان قزل آلا اهمیت زیادی برخوردار بوده (۱۹، ۲۰) و علی رقم شرایط متغییر محیطی و مدیریتی مزارع مختلف، دارای دامنه آلودگی وسیعی نسبت به سایر اعضای این گونه است به طوری که توسط ویلوبای و نیش به عنوان یک عامل پاتوژن ماهی و تخم آن معرفی می‌گردد (۲۴، ۱۸). شکی وجود ندارد که اختلافات اکولوژی در مکانهای جغرافیایی مختلف نقش مهمی را در توسعه گونه‌های متنوع قارچ بر روی تخم ماهی و ماهی ایفا می‌کند (۲۶، ۱۱). هر چند که تغییرات محیطی در این مطالعه مورد بررسی دقیق قرار نگرفت اما تاثیر آن بر رشد، تولید مثل و شدت آلودگی قارچ‌ها واضح و مشهود است بهر حال از این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که ساپروولگنیا پارازیتیکامهمترین



References

- ۱- ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، خسروی، ع.ر. (۱۳۸۰): جداسازی و شناسایی قارچهای توکسین زا در استخرهای پرورش کپور ماهیان. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۶ (۳)، صفحه: ۶۷-۶۹.
- ۲- فیروزبخش، ف.، ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، خسروی، ع.ر. (۱۳۸۴): جداسازی و شناسایی قارچهای بیماریزا و ساپروفیت از ضایعات آبشش کپور ماهیان پرورشی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۶۰ (۱)، صفحه: ۱۵-۱۸.
3. Beakes, G.W., Wood, S.E., and Burr, A.W. (1994) Features which characterize Saprolegnia isolates from salmonid fish lesions - A review. In Salmon Saprolegniasis. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. pp. 33-66.
4. Bly, J. E., Lawson, L. A., Dale, D. J., Szalai, A. J., Durborow, R. M. and Clem, L. W. (1992) Winter Saprolegniasis in channel catfish. Diseases of Aquatic Organisms. 13. pp. 155-164.
5. Bruno, D.W., Wood, B.P. (1994) Saprolegnia and other Oomycetes. In Fish Diseases and Disorders, Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. Edited by P.T.K. Woo and D.W. Bruno. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, United Kingdom. pp. 599-659.
6. Buckland, F., Walpole, S., Young, A. (1880) Report on the disease which has recently prevailed among the salmon of the Tweed, Eden, and Other Rivers in England and Scotland. Eds. G.F. Eyre and W. Spottiswoode. Printers to the Queen's Most Excellent Majesty. Her Majesty's Stationery Office, London, 125 pages (Report of Royal Commission; C-2660).
7. Crisp, D.T. (1990) Water temperature in a stream gravel bed and implications for salmonid incubation. Freshwater. Biol. 23: 601-612
8. Delgado, C.L., Wada, N., Rosegrant, M.W., Meijer, S., Ahmed, M. (2003) Outlook for Fish to 2020: Meeting Global Demand. Report by the International Food Policy Research Institute.
9. Donaldson, S.P., Deacon, J.W. (1993) Differential encystment of zoospores of Pythium species by saccharides in relation to establishment on roots. Physiological and Molecular Plant Pathology 42, 177-184.
10. Hussein, M., Hatai, K., Nomura, T. (2001)

انواع قارچ و با فراوانی نسبی ۲۶/۳۲ درصد بیشترین و مزرعه شماره ۳ کمترین میزان فراوانی نسبی (۷/۸۹ درصد) را از نظر تنوع قارچی دارد. در ضمن بیشترین میزان قارچ زدگی تخم در زمان نمونه برداری در مزرعه شماره ۵ (۳۹ درصد) و کمترین میزان در مزرعه شماره ۶ (۲۰ درصد) مشاهده شده است (جدول ۱). هر چند که این اختلاف ممکن است از نظر آماری معنی دار نباشد. ولی با مراجعه به جدول امی توان چنین نتیجه گیری کرد که سن پایین مولدین و تراکم بالای انکوباتور می تواند یکی از دلایل عمده این اختلاف باشد (۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳). بنابراین بهترین راه پیشگیری از بیماری عبارتند از: خارج کردن تخم های مرده از انکوباتور به عنوان محیط کشت قارچ، جلوگیری از تراکم بالای تخم در هچر بها، حفظ کیفیت فیزیکی و شیمیایی آب، جلوگیری از تغییرات دمایی و آلودگی آب و عدم استفاده از پیش مولدین یا مولدین با سن کم بدلیل هم آوری کاری پایین آنها، چرا که از یک سو، میزان تخم های رسیده آنها پایین بوده و توانایی باروری را ندارند و از سوی دیگر مشخص گردید که عصاره پوشش باروری fertilization envelope تخم ماهیان دارای ترکیبات ضد قارچی است، هر چند که اهمیت آن بعنوان مکانیسم محافظتی بدرستی شناخته نشده است بنابراین در مولدین نارس درصد قارچ زدگی تخم بالاست (۴، ۶، ۱۴، ۱۵، ۲۰).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم فریبا احمدی که مراد را اجرای این تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می شود.



- Saprolegniosis in salmonid and their egg in Japan J. wild disease. 37:204-207.
11. Johnson, T.W. Jr.(1956) The genus *Achlya*. Morphology and Taxonomy. University of Michigan Press. Ann Arbor. Michigan. pp.180.
 12. Khodabandeh,S., Abtahi, B.(2006) Effects of sodium chloride, formalin and iodine on the hatching success of common carp, *Cyprinus carpio*, eggs, Journal of Applied Ichthyology 22 , pp. 54-56.
 13. Kudo, S., Teshima, C.(1991) Enzyme activities and antifungal action of fertilization envelope extract from fish eggs. J. Exp. Zool. 259: 392-399.
 14. Meyer, F.P.(1991) Aquaculture disease and health management. J. Anim. Sci. 69: 4201-4208.
 15. Meyer, F.P., Jorgenson, T.A.(1984) Teratological and other effects of malachite green on development in rabbits and rainbow trout. Trans. Amer. Fish. Soc. 112: 818-824.
 16. 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
 17. Neish, G.A.(1977) Observations on saprolegniasis of adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum). J. Fish. Biol. 10: 513-522.
 18. Neish, G.A., Hughes, G.C.(1980) Diseases of fishes, Book 6, Fungal Diseases of Fishes. T.W.F. Publications, Neptune, New Jersey. pp.159.
 19. Pickering, A.D.(1994) Factors which predispose salmonid fish to Saprolegniasis. Edited by G. J. Mueller. U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Portland, Oregon. pp. 67-84.
 20. West,P.V.(2006) Saprolegnia parasitica, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem, Mycologist, 20: 99-104.
 21. Willoughby, L.G.(1994) Fungi and Fish Diseases, Pisces Press, Stirling, Scotland.pp. 57.
 22. Willoughby, L.G., Pickering, A.D.(1977) Viable Saprolegniaceae spores on theepidermis of the salmonid fish *Salmo trutta* and *Salvelinus alpinus*. Trans Br. Mycol. Soc.68: 91-95.
 23. Willoughby, L.G.(1986) An ecological study of water at the medium for growth and reproduction of the Saprolegnia from salmonid fish. Trans. Br. Mycol. Soc. 87: 493-502.
 24. Willoughby, L.G.(1992) The ecology of *Olpidiopsis incrassa*, *Rozellopsis septigena* and *Woronina polycystis* in freshwater . Nova Hedwigia. 55.pp. 1-9
 25. Wood, S.E., Willoughby, L.G.(1986) Ecological observations on the fungal colonization of fish by Saprolegniaceae in Windermere. J. Appl. Ecol. 23: 737-749.



ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PARASITE AND SAPROPHYTE FUNGI FROM FUNGAL AFFECTED EGGS OF THE RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) IN MAZANDARAN PROVINCE

Ebrahimzadeh Mousavi, H.A.^{1*}, Hoosseinifard, S.M.², Khosravi, A.R.³, Soltani, M.¹, Yosefian, M.⁴

¹Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

²Graduate of Aquatic Animal Health, Faculty of Specialised Veterinary Science, Islamic Azad University, Sciences and Research Branch, Tehran-Iran

³Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

⁴Department of Aquatic and Ecology, Academy of Caspian Sea, Sari, Iran

(Received 2 February 2005 , Accepted 30 May 2006)

Abstract:

The aim of the present study was to isolate and identify parasites and saprophytes from fungal affected eggs of *Rainbow trout*. The samples (n= 900) were obtained from six fish farm and transferred to mycology laboratory in stril tubes. The samples were inoculated in cculture media, (SDA, CMA, GPagar and hemp seeds cultures) at room temperature (18-24°C). Twelve species of fungi isolated from the fungal eggs. Three isolated fungi were belonged to the saprolegniaceas' family including : *Saprolegnia parasitica*, *Saprolegnia sp.*, *Achlya sp.* Other nine fungi were: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *Alternaria*, *Mucor* and *Helminthosporium*. In this study three species of pathogenic aquatic fungi were *Saprolegnia parasitica*, *Saprolegnia sp.*, *Achlya sp.* It seems that *saprolegnia parasitica* was the most important fungal egg infestation in Mazandaran salmonid hatcheries. Meanwhile, saprophytic fungi can help for spreading of fungal egg infection.

Key words: *Achlya*, *Saprolegnia*, rainbow trout, fungal infection, saprophyte.

