وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية / قسم علوم الحياة

Isolation and diagnosis of some fungus species of fish lakes in the city of Al- Diwaniyah

عزل وتشخيص بعض انواع الفطريات من بحيرات الأسماك في مدينة الديوانية .

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة/ كلية التربية

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

في علوم الحياة

من قبل

عـــلاء محسن

بأشراف

م.م عبير سامي كاظم العارضي

1440 هـ

2019 م

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ)

صدق الله العلي العظيم

(سورة يوسف/جزء من الآية 76)

الاهداء

الى وطني الحبيب وشهداء العراق

الى كل من ضحى من اجل امان هذا الوطن الحبيب

الى كل من ساعدنا في العلم والمعرفة

الى والدي العزيز ووالدتي الحبيبة

الى اساتذة كلية التربية/قسم علوم الحياة

واخص بالذكر الاستاذ المشرف لما بذلنه من جهد

في توجيهي

لكم منا كل التحية والتقدير

الباحث

اقرار المشرف

اشهد بأن مشروع البحث المعنون (عزل وتشخيص بعض انواع الفطريات من بحيرات الاسماك في مدينة الديوانية) و قد أجري البحث تحت اشرافي في قسم علوم الحياة – كلية التربية – جامعة القادسية ، وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة .

التوقيع :

الاســم : عبير سامي كاظم

اللقب العلمي: مدرس مساعد

التأريخ :

الخلاصة: Abstract

كان الهدف من هذه الدراسة هو التحقق من العدوى الفطرية في الأسماك في بعض البحيرات الخاصة بتربية الاسماك في محافظة الديوانية. تم الحصول على الأسماك المستهدفة في الدراسة من بحيرات الاسماك. المجموع الكلي للأسماك (n = 37) 21.65 سم و 560.35 جم على التوالي . تم عزل الاسماك المصابة التي لوحظ عليها تمزق الزعانف الظهرية والآفات على الجلد و الذيل ، والورم الحبيبي على الزعنفة الشرجية. الفطريات المعزولة من الأجزاء المريضة من الأسماك تم زراعتها على وسط آجار دكستروز البطاطا PDA (Potato Dextrose Agar) . حضنت الاطباق لمدة 5-7 أيام في 28 ± 2 C º. وتم ملاحظة المستعمرات الموجودة على الاطباق ، اذ وجد جنسين من الفطريات هما *Aspergillus sp.* (83.73٪), *Penicillium sp.*، (40.54٪). و كان الجزء الامامي أعلى بكثير مقارنة مع الجزء الخلفي في مستوى الاصابة ($P \leq 0.05$) . العدوى الفطرية التي لوحظت في السمك قد تكون حدثت من خلال استخدام الأعلاف الملوثة والمتحللة من بيئة البركة المائية. عدوى الأسماك عن طريق الفطريات المسببة للأمراض يقلل من قيمة كل من الأسماك و لحمها. وبالتالي ، هذه الدراسة يقترح أن الأسماك يجب أن تربى في الماء غير الملوث لحفظ صحة الإنسان.

المقدمة: Introduction

أن أسماك المياه العذبة تعيش في قارة اسيا ويمثلها ما لا يقل عن 193 نوعا من الأسماك ، منها 31 الأنواع المهمة تجاريا [1]. هذه الانواع التجارية تلعب دورًا مهمًا في سبل عيش الكثير من الناس في قارة اسيا . بسبب الصيد الجائر لوحظ تناقص اعداد هذه الانواع ،وكذلك التلوث في المسطحات المائية وفقدانها أراضي تنمية الاسماك [2] . إنتاج الأسماك من خلال التربية المائية في الاحواض ينمو بشكل أسرع في البلدان النامية وذلك من خلال زراعة شبه مكثفة من هذه الأسماك في الأحواض [3]. الاسماك تحظى بشعبية كبيرة كأسماك طعام في العراق وتنمو بسرعة في نظام متنوع النباتات العشبية [4] . حفز تزايد عمليات استزراع الأسماك الباحثين بالاهتمام بأمراض الأسماك كمرض التسمم الدموي البكتيري الذي يسبب تسمم الدم وتؤدي الى نقص الأكسجين هي مرض الأسماك الأكثر شيوعا [5 ، 6] . فالأسماك المجهدة والضعيفة نتيجة اصابتها بمثل تلك الامراض تكون أكثر عرضة للعدوى الفطرية [7]. في الواقع ، تتعرض كل أسماك المياه العذبة إلى واحدة على الأقل أنواع الفطريات خلال حياته [8]. الأمراض الفطرية هي السبب الثاني الأخطر للخسائر في تربية الأحياء المائية [9]. من المعروف أن الفطريات تهاجم جميع مراحل حياة الأسماك من البيض للأسماك البالغة [10]. تم الإبلاغ عن أن الفطريات تسبب خطورة الأمراض في مصبات الأنهار وأسماك المياه العذبة في أستراليا ، اليابان وجميع أنحاء جنوب آسيا [11, 12].

الهدف من هذه الدراسة :

تقييم وجود الفطريات المسببة للأمراض على تربيتها في الأحواض الترابية في مزارع الأسماك.

المواد وطرق العمل: Material and Methods

تم جمع ثلاثين سمكة من مزرعة الأسماك. الأسماك تم إحضارها إلى المعمل في أكياس البولي إيثلين المعقمة. تمت إضافة streptomycin sulfate كمضاد حيوي 250 ملغ لكل الاطباق (petri dish) المستخدمة للحد من التلوث الجرثومي . عينات الأسماك تم تطهيرها من السطح لمنع تلوثها بالجراثيم المحمولة بالهواء عن طريق غمس الأسماك بنسبة 1٪ الفورمالين لمدة 1 إلى 5 دقائق. تم نقل العينة إلى 70 ٪ الكحول وأخيرا تم الغسل بالماء المقطر عدت مرات لإزالة الكحول. تم عزل الفطريات من الأعضاء المصابة من الأسماك مع إبرة معقمة ، تزرع على وسط أجار دكستروز البطاطا (PDA). تم العزل والزراعة على الاطباق في غرفة معقمه (hood) لتجنب التلوث. و حضنت الاطباق في 28-30 درجة مئوية ولوحظ نمو الفطريات بعد 5-7 يوم . وقد تم عمل تنقية للمستعمرات الفطرية الناتجة عن طريق اختيار جزء صغير من مستعمرة بواسطة اللوب ثم صبت في طبق حاوي على الوسط الزرعي PDA وقد حضنت الاطباق لمدة 4-5 أيام . وقد تم إعداد الشرائح (slides) عن طريق أخذ مسحة من كل مستعمرة وصبغها بصبغة Trypan blue٪ 0.05 . فحصت الشرائح تحت المجهر, وتم تحديد الفطريات وتشخيصها تحت المجهر [13 ،14] . تم تقسيم جسم السمك إلى قسمين ؛ الأجزاء الأمامية (بما في ذلك العينين ، والخياشيم) و الأجزاء الخلفية (بما في ذلك زعنفة الشرج والزعانف الخلفية) لملاحظة المواقع المصابة لمقارنة العدوى في الجزء الأمامي والخلفي من جسم السمكة [15].

التحليل الاحصائي:

حللت النتائج احصائيا باستخدام البرنامج الاحصائي SPSS وبمستوى احتمالية **(P<0.05)**.

النتائج : Results

تم فحص ثلاثين عينة من الاسماك المصابة بالفطريات (متوسط الطول الكلي ووزن الجسم كان 21.65 سم و 560.35 جم على التوالي). ، أظهرت الأسماك علامات سريرية عليها العدوى الفطرية ؛ تمزق الزعانف الظهرية ، آفات على الجلد . و الزعنفة الشرج. والاصابات ظهرت في أجزاء مختلفة (العينين ، الخياشيم ، ، زعنفة الشرج ، والزعنفة الظهرية) و تم الزراعة على اكار البطاطا. تم زرع الاطباق من كافة مناطق الجسم الامامية والخلفية. ظهرت نوعين من المستعمرات الفطرية على اكار البطاطا. كانت نسبة الاصابة بفطر الرشاشيات (83.78%) في حين كانت نسبة الاصابة بفطر البنسليوم (40.54%) أي كانت النسبة الاعلى للإصابة بفطريات الرشاشيات .

جدول 1: (يبين حدوث الاصابة و نسبتها في نسيج الاسماك)

ت	النسيج	عدد الاطباق	نسبة الاصابة% لمستعمرات *Aspergillus*	المستعمرات *Aspergillus*	المستعمرات *Penicillium*	نسبة الاصابة% لمستعمرات *Penicillium*
1	العيون	9	29.03	9	3	20
2	الخياشيم	13	25.80	8	6	40
3	زعنفة الشرج	5	22.58	7	2	13.33
5	الزعنفة الظهرية	10	22.58	7	4	26.66
	Total	37		31	15	
				%83.78	%40.54	

(83.78٪) ، مستعمرات Aspergillus (40.54٪) ، مستعمرات البنسلينيم (الجدول 1). كانت الاطباق المزروعة للرشاشيات والتي بينت ظهور المستعمرات من اربعة أعضاء (عيون ، خياشيم). وقد لوحظت 8 مستعمرة من الخياشيم والتي شكلت عدوى 25.80 ٪. الجزء الأمامي من السمك كان لديه عدوى أعلى بكثير مقارنة الجزء الخلفي, وأظهرت 9 عينات من العيون أقل العدوى (29.03 ٪) كما لوحظ 7عينات و بنسبة اصابة الزعنفة الظهرية كانت (22.58%) واظهرت 7 عينات من الزعنفة الشرج وبنسبة (22.58%)(الجدول 1).

بينما كانت الاطباق المزروعة والتي بينت ظهور المستعمرات البنسيليم من اربعة أعضاء (عيون ، خياشيم). وقد لوحظت 6 مستعمرة من الخياشيم والتي شكلت عدوى 40 ٪. الجزء الأمامي من السمك كان لديه عدوى أعلى بكثير مقارنة الجزء الخلفي, وأظهرت 3 عينات من العيون أقل العدوى (20 ٪) كما لوحظ 4 عينات وبنسبة اصابة الزعنفة الظهرية كانت (26.66%) واظهرت2 عينه من الزعنفة الشرج بنسبة (13.33%)(الجدول 1)

عزلت الفطريات من الزراعة النقية التي تم الحصول عليها من الفطريات الأولية المعزولة من الأسماك. وتم إنتاج اطباق نقية ومستعمرات موحدة من نفس النوع ، وكانت نتيجة الزراعة ظهور فطريات منتشرة في جميع أنحاء طبق بتري.

المناقشة : discussion

تمت دراسة العدوى الفطرية في الاسماك . لاثنين من الفطريات *Aspergillus sp.* و *Penicillium* sp. تم عزلها من ، الزعنفة الظهرية و وزعنفة الشرج ، العين ، والخياشيم من هذه الأسماك , *Aspergillus* كانت الفطريات الأكثر انتشارا التي تصيب جميع أعضاء السمك . العدوى التي لوحظت على العيون والخياشيم قد تؤدي إلى خطورة حالة المرض. التهاب العين قد يؤدي إلى العمى و قد يخترق الاصابة الفطرية للعين ولا يمكن معالجة الأسماك وتموت هذه الأسماك في النهاية [16]. عدوى الخياشيم قد تتداخل مع وظيفة الجهاز التنفسي للسمك. ومع ذلك ، تعتبر عدوى الجلد والزعانف أقل خطورة مقارنة بالعيون والخياشيم. [13] ذكر أن داء Aspergillosis هو مرض إفريقي يصيب الاسماك والعوامل المسببة لهذا المرض هي أنواع مثل *Aspergillus flavus* ، *Aspergillus terreus* و *Aspergillus japonicas* . هذه الأنواع الفطرية هي معدية من خلال تلوث أعلاف الأسماك [17]. تزداد الاصابة الفطرية بشكل كبير أثناء التخزين للعلف اثناء فترة التغذية عند مستويات رطوبة عالية في الأرض [18]. ، وبالتالي السموم التي تنتجها الفطريات قد تقضي على الاعلاف الخاصة بالتغذية. وان مثل هذه الأعلاف الملوثة تستهلكها الأسماك تسبب تأثيرات ضارة وحادة ، والتي قد تؤدي إلى الموت وهلاكات عالية [19 ، 20]. قد يكون مصدر العدوى الفطرية استهلاك الأعلاف الملوثة الموجودة في البحيرة. قد يكون هناك بعض الاسباب الأخرى في البحيرة مما زاد من احتمال الإصابة الفطرية بما في ذلك : سوء إدارة الأحواض والأسماك المصابة أو وجود أمراض الأسماك أخرى ، أو كميات كبيرة من تحلل المواد العضوية في البحيرة. هناك تقارير عن العدوى الفطرية في الأسماك التي تربى لأغراض تجارية. [21] أبلغ عن داء Aspergillus في اسماك الكارب في اسيا . *Aspergillus* هو سبب العدوى الداخلية والخارجية في الأسماك. [22]. [23] ذكر أن *Penicillium* sp. و *Aspergillus* spp. و *Rhizopus* sp. هي الميكوفلورا الطبيعية الموجودة على الأسماك وهذا لا يتفق مع ما توصلت له دراستنا الحالية. كثير من الأجناس الفطرية لها عامل ضراوة الذي يسبب الأمراض في الأسماك في ظل البيئة المؤهلة لذلك. ويلعب دور البيئة عامل مهم وحيوي في المساعدة على احداث الاصابة من عدمها في الاسماك ، وكذلك يلعب عامل البيئة دور في التاثير على تنوع أجناس الفطريات على الأسماك وبيضها [24]. بالنسبة الى [25] يعتمد تنوع مصادر المياه على التفاعل بين العوامل الفيزيائية والكيميائية.

قد يكون ضعف ادارة البحيرة من اناس ذات خبرة قليلة يزيد من فرص حدوث أمراض الأسماك. بالتالي، يجب إيلاء الاهتمام لتنفيذ بحيرة جيدة والإدارة الصحية الصحيحة ، من خلال استخدام مدخلات ذات نوعية جيدة مثل الأعلاف والماء. علاوة على ذلك ، صحة الأسماك العادية ويمكن أيضا أن تمارس الرصد.

References :المصادر

[1] Rafique, M., and M. U. Khan. Distribution and status of significant freshwater fishes of Pakistan. *Rec. Zool. Sur. Pakistan*, 21: 90-95 (2012)

[2] Iqbal, Z., K. Pervaiz and M. N. Javed. Population dynamics of *Tor macrolepis* (Teleostei: Cyprinidae) and other fishes of Attock Region, Pakistan. *Can. J. Pure Appli. Sci.,*.7(1): 2195-2201 (2013a).

[3] Iqbal, Z., Minhas, I. K and Khan, M.N. Aquaculture Development in Punjab, Pakistan. A case study. *Sci. Inter*.(Lahore)., 13(1): 59-65 (2001a).

[4]Soranganba, N and A. Saxena. Morphometric patterns of carps. *Braz. J. Morpho. Sci.*, 24 (2): 82-87 (2007) Sci.Int(Lahore),25(4),851-855,2013 ISSN 1013-5316; CODEN: SINTE 8

[5] Iqbal, Z., Minhas, I. K and Khan, M.N. Disease Prevalence in culturable fish species in Punjab. *Pakistan J. Fish.*, 1(2),103-112 (2000).

[6] Iqbal, Z., Minhas, I. K and Khan, M.N. 2001b. Seasonal occurrence of Lernaeasis in pond Aquaculture in Punjab. *Proc. Pak. Cong. Zool*., 21,159-168(2001b)

[7] Siddique, M. M. R., Basher, M.A., M.A. Hussain and A.S.M. Kibria. Fungal Disease of Freshwater Fishes in Natore District of Bangladesh. *J. Bangla. Agri. Uni*.,7(1), 157-162 (2009).

[8] Neish, G.A. Observations on Saprolegniasis of adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum). *J. Fish. Biol*.,10, 513-522 (1997)

[9] Meyer, F. P. Aquaculture Diseases and Health management. *Anim. Sci.* 69:4201-4208 (1991).

[10] Bangyeekhun E and M. A. Sylvie. Characterization of *Saprolegnia* sp. isolates from channel catfish. *Dis. Aquat. Organ*, 45: 53-59 (2001)

[11] Koeypudsa,W., P. Phadee, J. Tangtrongpiros and K. Hatai. Influence of pH, Temperature and Sodium Chloride Concentration on

Growth Rate of *Saprolegnia* sp. *J. Sci. Res. Chula. Univ.*, 30(2), 123-130 (2005)

[12] Iqbal, Z., U. Sheikh and R. Mughal, R. Fungal infection in some economically important Freshwater Fishes. *Pak. Vet. J.*, 32(3), 422-426 (2012b).

[13] Willoughby, L.G. *Fungi and Fish Diseases.* PiscesPress, Stirling. UK. pp57 (1994).

[14] Ellis, D., S, Davis, H, Alexious., R, Handke and R. Bartley. *Description of Medical Fungi*, 2nd ed. Nexus Print Solutions, Adelaide, South Australia (2007).

[15] Iqbal, Z and R. Sajjad. Some Pathogenic Fungi Parasitizing Two Exotic Tropical Ornamental Fishes. *Int. J. Agri. Bio.,* 15, 595-598 (2013b).

[16] Srivastava, R. C. *Fish Mycopathology*. Today and tomorrow's Publishers New Dehli, India. pp 106 (2009).

[17] Saleem, M. J., A, Hanan., A. U. Nisa and T.A. Qasir. Occurrence of Aflotoxinin Maize seed under different condition. *Int. J. Agri. Biol*., 14, 473-476 (2012)

[18] Jubeen, F., I. A.Bhatti., U, Maqbool and S.Mahboob. Fungal incidence, aflotoxin B1, tocopherols and fatty acids dynamics in ground and tree nuts during storage at two moisture levels. *Int. J. Agri. Biol*., 14,521527(2012).

[19] Haller, R.D. and R. J. Roberts. Dual neoplasia in a specimen of *Sarotherodons pilurusspilurus* (Gunther) (*Tilapia spilurus*). *J. Fish Dis.* 3, 63-66 (1980).

[20] Olufemi, B.E. The Aspergilli as Pathogens of cultured fishes. In: *Recent advances Aquaculture,* (eds. JF Munir and RJ Roberts), pp: 193-218 (1985).

[21] Firouzbakhsh, F., E. H. A. Ebranhim Zadeh morusaviand A. R. Khosravi. Isolation and Identification of Pathogenic and saprophytic fungi from gill lesion in cultivated cyprinids (common carp, silver carp and grass carp). *J. Fac. Vet. Med. Univ.* Tehran., 60(1), 15-19(2005).

[22] Jalilpoor, J., S. A. Mosouleh and M. Masoumzadeh. Fungal flora in *Acipenserpersicus* eggs with particular emphasis on *Saprolegnia*sp. (*Oomycetes*) and mortality during mass incubation at the ShahidBehesti hatchery. *J. App. Icthyol.*, 22(suppl.1), 265-268 (2006).

[23] Refai, M., K. Laila., A. Mohamed., M. Kenawy and El. SMS. Shimaa. The assessment of Mycotic settlement of freshwater fishes in Egypt. *J. Amer. Sci.,* 6(11), 595602(2010).

[24] Hussein, M.M., K. Hatai and T. Nomura. Saprolegniasis in salmonids and their eggs in Japan. *J. Wildl. Dis*.,37, 204-207 (2001)

[25] Pailwal, P. and S.C. Sati. Distribution of Aquatic fungi in relation to physiochemical factors of Kosi River in Kumaun Himalaya. *Nat. Sci*., 7(3), 70-74(2009).