

## شناسایی مورفومتریک و مولکولی انگل *Gyrodactylus sprostonae* در ماهیان گرم آبی استان گیلان با نگرشی بر شدت و شیوع آن در مزارع منتخب

جواد دقیق‌روچی<sup>۱</sup>، عبدالحسین دلیمی‌اصل<sup>۲\*</sup>، محمد پورکاظمی<sup>۳</sup>، محدث قاسمی<sup>۴</sup> و شکوفه شمس‌ی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۹

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۲۴

### چکیده

انگل ژیروداکتیلوس از شاخه‌ی کرم‌های پهن و یکی از انگل‌های خارجی شایع در ماهیان آب شیرین و دریایی است. این انگل اغلب بر روی پوست و باله‌ی ماهیان و به ندرت در آبشش آن‌ها مشاهده می‌شود. انگل ژیروداکتیلوس می‌تواند سبب ایجاد بیماری و بروز تلفات در جمعیت ماهیان پرورشی و وحشی گردد. در این مطالعه ابتدا انگل ژیروداکتیلوس با استفاده از گسترش مرطوب از پوست، باله و آبشش ماهی کپور معمولی، کپور نقره‌ای و سرگنده در مزارع پرورش ماهی استان گیلان جدا و توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد. شناسایی مورفومتریک انگل‌ها با اندازه‌گیری و ترسیم بخش‌های سخت اپیستهاپتور از قبیل قلاب مرکزی، قلاب‌های حاشیه‌ای، میله‌ی پشتی و میله‌ی شکمی صورت گرفت. برای بررسی مولکولی گونه‌ی انگل ژیروداکتیلوس، پرایمر فوروارد، در ناحیه‌ی ۵/۸S ژن RNA ریپوزومی و پرایمر ریورس در ناحیه‌ی ITS2 ژن ریپوزومی برای تکثیر DNA گونه‌های انگل ژیروداکتیلوس به روش PCR استفاده شد. سپس توالی به دست آمده از محصول PCR با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI مقایسه شد. در نتیجه گونه‌ی انگل ژیروداکتیلوس با هر دو روش مورفومتریک و مولکولی *Gyrodactylus sprostonae* شناسایی گردید. شیوع آلودگی به این انگل در مزارع مورد بررسی در استان گیلان برای گونه‌های کپور معمولی، کپور نقره‌ای، سرگنده و کپور علفخوار به ترتیب ۶۱/۱۷٪، ۲۱/۹۵٪ و ۰٪ تعیین شد.

کلمات کلیدی: مولکولی، انگل، ژیروداکتیلوس، ماهیان گرم آبی، گیلان

### مقدمه

توانند موجب بروز تلفات و خسارات شدید در ماهیان پرورشی و همچنین ماهیان وحشی شوند. برای مثال می‌توان به خسارات اقتصادی وارد شده به ماهی تیلاپیای نیل توسط انگل *Gyrodactylus cichlidarum* در مزارع پرورشی برخی از کشورها اشاره نمود. ابتدایی‌ترین روش برای شناسایی گونه‌ای انگل ژیروداکتیلوس استفاده از روش ریخت‌شناسی بخش‌های

ژیروداکتیلیدها، گروهی از مونوزن‌های زنده‌زا هستند که اغلب انگل پوست و باله‌های ماهیان آب شیرین و دریایی می‌باشند. تا کنون بالغ بر ۴۰۰ گونه از جنس *Gyrodactylus* از حدود ۴۰۰ میزبان از راسته‌ها و خانواده‌های مختلف ماهیان شناسایی شده، اما تعداد واقعی انگل‌های این جنس در دنیا بالغ بر ۲۰۰۰۰ گونه تخمین زده می‌شود (Rokicka et al. 2007). این انگل‌ها می‌

<sup>۱</sup> مربی پژوهشی گروه انگل‌شناسی، پژوهشکده‌ی آبی‌پروری آب‌های داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندر انزلی، ایران

<sup>۲\*</sup> استاد گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

E-mail: dalimi\_a@modares.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

<sup>۳</sup> استاد گروه ژنتیک و اصلاح نژاد آبزیان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، تهران، ایران

<sup>۴</sup> استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده‌ی آبی‌پروری آب‌های داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی،

بندر انزلی، ایران

<sup>۵</sup> دانشیار گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم جانوری و دامپزشکی، دانشگاه چارلز استارت، نیو سالت ولز، استرالیا

انگل اشاره نمود (Mozhdeganlou et al. 2011). شناسایی انگل *Gyrodactylus gurleyi* در ماهی طلائی با استفاده از خصوصیات مورفومتریک و مولکولی (Omidzahir et al. 2012)، بررسی مورفومتریک و مولکولی انگل *Gyrodactylus cichlidarum* در ماهی آکواریومی *Astronotus ocellatus* (Ebrahimzade Mousavi et al. 2013) و همچنین بررسی مولکولی انگل *Gyrodactylus kobayashi* در ماهی طلائی (Omidzahir et al. 2015) از جمله مطالعات محدود انجام شده در این زمینه‌اند.

استان گیلان با داشتن حدود ۳۳۱۶۶ مزرعه‌ی گرم آبی و تولید سالانه بالغ بر ۴۶ هزار تن پس از استان‌های خوزستان و مازندران رتبه‌ی سوم تولید ماهیان گرمابی کشور را به خود اختصاص داده است. همچنین به دلیل وجود کارگاه‌های متعدد تکثیر ماهی، بسیاری از استان‌های دیگر نیز بچه ماهیان مورد نیاز خود را از استان گیلان تهیه می‌کنند. از این روی بررسی و شناسایی دقیق انگل‌های این ماهی از یک سو به منظور کنترل و پیشگیری از شیوع آن و از سوی دیگر به جهت شناسایی دقیق فون انگلی کشور حائز اهمیت است.

بر اساس مرور پیشینه‌ی تحقیق تا کنون بررسی مولکولی انگل ژیروداکتیلوس در گونه‌های اصلی کپور ماهیان پرورشی ایران (کپور معمولی، کپور نقره‌ای، کپور سرگنده و کپور علفخوار) صورت نگرفته است. بخشی از تلفات بچه ماهیان تولیدی در مراکز تکثیر و پرورش کشور ناشی از آلودگی با انگل‌های مونوژن و به ویژه جنس *Gyrodactylus* بوده و شناسایی این گروه از انگل‌ها طبعاً به منظور مبارزه با آنها لازم است. این تحقیق با هدف شناسایی دقیق گونه‌های ژیروداکتیلوس در بچه ماهیان گرم آبی استان گیلان و با فرضیه‌ی شناسایی گونه‌های جدید در این ماهیان در مقایسه با آخرین مطالعات انجام شده توسط Jalali و همکاران در سال ۲۰۰۵ با تلفیقی از روش‌های مورفومتریک و مولکولی انجام گرفت.

سخت اپیستهایپتور است (Malmberg 1970). در این راستا شکل فلاپک‌های کوچک حاشیه‌ای اهمیت زیادی در تشخیص گونه‌ای انگل ژیروداکتیلوس دارد، اما نکته‌ی مهم این است که متأسفانه شکل اندام اتصال در ژیروداکتیلوس ثابت نمی‌باشد. عواملی نظیر درجه‌ی حرارت، سن انگل، گونه‌ی میزبان و مکان جغرافیایی از جمله عوامل تأثیرگذار بر تغییرات فنوتیپیک هاپتورها هستند (Malmberg 1970, Ergens 1976, Mo 1991, Rokicka et al. 2007, Matejusova et al. 1993). به علاوه تعداد زیاد گونه‌های ژیروداکتیلوس و سائز کوچک این انگل‌ها شناسایی آنها را بسیار دشوار و غیرقابل اطمینان می‌سازند.

برای رفع مشکل شناسایی نمونه‌های ژیروداکتیلوس، روش مولکولی به عنوان جایگزینی مناسب برای روش مورفومتریک معرفی شد (Cunningham 1995). جامع‌ترین مطالعه‌ی انجام شده برای شناسایی مورفولوژیکی انگل ژیروداکتیلوس در ماهیان وحشی و پرورشی آب شیرین ایران نشان داد، که ۳۳ گونه‌ی مختلف از این انگل در ماهیان مذکور حضور دارند، لیکن تا کنون تنها ۹ گونه از این انگل‌ها با اطمینان تا حد گونه شناسایی شده و شناسایی سایر گونه‌ها به ویژه گونه‌های جدا شده از ماهیان اندمیک وحشی آب‌های شیرین کشور نیاز به مطالعه‌ی دقیق‌تری دارد. محققین در آن بررسی پیشنهاد نمودند که حتماً از روش توالی‌یابی DNA برای شناسایی دقیق گونه‌ها استفاده شود (Jalali et al. 2005). تا کنون اغلب مطالعات منتشر شده در زمینه‌ی شناسایی مونوژن‌ها با استفاده از مارکرهای مولکولی ناحیه‌های 18S, ITS1, 5.8S, ITS2, 28S از DNA ریپوزومی انجام شده است. متأسفانه در کشور ما مطالعات انجام شده در مورد شناسایی مولکولی مونوژن‌ها بسیار محدود و اغلب در مورد ماهیان زینتی بوده است. از جمله مطالعات انجام شده در کشور می‌توان به شناسایی گونه‌های مختلف انگل *Dactylogyrus* spp. با استفاده از روش PCR بر روی DNA استخراجی از بافت آبشش آلوده‌ی ماهی طلائی به















