



## Original Research Paper

## Morphological and molecular identification of nematodes of digestive system of Sorkhu (*Lutjanus johnii*) and Ghobad (*Scomberomorus guttatus*) fishes in Persian Gulf waters of Hormozgan province

Amin Masnavipoor, Mohamad Hossein Razi Jalali \*, Mehrzad Mesbah, Sara Larki

Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

### Key Words

Fish  
*Lutjanus johnii*  
*Scomberomorus guttatus*  
*Anisakis*  
*Hystrotilasium*

### Abstract

**Introduction:** Marine fish are important in providing animal protein and human health. The study of pathogenic factors of these fish, including parasitic factors, plays an important role in applying preventive policies and quality control of fishery products. Therefore, it seems necessary to identify the morphology and molecular parameters of fish parasites in the Persian Gulf, which are considered to be one of the main sources of food in Iran.

**Materials & Methods:** In the present study, 20 pieces of infected Sorkhu and Ghobad fish were caught and analyzed separately from the coastal areas of the Qeshm, and kish in Hormozgan province. For each fish, morphological characteristics including length and width, body weight, standard length in Sorkhu, fish and fork length in Ghobad fish were measured and recorded. Each infected fish peritoneum, viscera, and entire digestive tract of each infected fish were examined macroscopically for the presence of gastrointestinal nematodes and isolated. Then, the collected nematodes were identified after washing and storing in preservative and clarifying solutions. Nematode larvae were examined by PCR method to confirm the diagnosis by molecular method with specific primers of each genus.

**Results:** 18 (90%) and 20 (100%) fish pieces were infected with nematodes from Sorkhu identified in *Scomberomorus guttatus* fish were *Terranova* and *Ascarophis*, respectively. *Ascarophis* and *Raphidoscaris* species were detected as the most abundant nematodes in *Lutjanus johnii*; It should be mentioned that the nematode species of *Ascarophis*, *Hystrotilasium* and *Paracamalanos* in *Scomberomorus guttatus* fish and *Capillaria*, *Eustrongyloides* and *Cosmoxynemoides* in *Lutjanus johnii* fish had the lowest level of contamination. In molecular studies, larvae and parasitic nematodes suspected by PCR method with specific primers of each genus, infection of *Scomberomorus guttatus* and *Lutjanus johnii* fish with nematode species *Tranova*, *Anisakis*, *Ascarophis* and *Hysterothylacium* after sequencing and comparing the degree of similarity of their genomes with other species. Nematode was confirmed by the World Gene Bank (NCBI).

**Conclusion:** This study showed that due to the high level of nematode contamination, especially zoonotic nematodes in bony fishes of the Persian Gulf, it is important to monitor the stages of preventing the transmission of infectious parasitic agents parasites and to monitor the stages of processing and consumption of marine fish to ensure their health safety and quality.

\* Corresponding Author's email: [mh.jalali@scu.ac.ir](mailto:mh.jalali@scu.ac.ir)

Received: 23 August 2023; Reviewed: 23 September 2023; Revised: 24 October 2023; Accepted: 23 December 2023

(DOI): 10.70102/AEJ.2025.17.1.11

## مقاله پژوهشی

## بررسی مورفولوژیک و مولکولی نماتودهای جدا شده از دستگاه گوارش ماهیان سرخو و قباد در آب‌های خلیج فارس (استان هرمزگان)

امین مثنوی‌پور، محمدحسین راضی‌جلالی<sup>\*</sup>، مهرزاد مصباح، سارا لرکی

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

## کلمات کلیدی

## چکیده

ماهی  
سرخو  
قباد  
آنیزاکیس  
هیستروتیلاسیوم

**مقدمه:** با توجه به اهمیت ماهیان دریایی در تامین پروتئین حیوانی و بهداشت انسانی، مطالعه عوامل بیماری‌زای این ماهیان از جمله عوامل انگلی نقش مهمی در به‌کارگیری سیاست‌های پیشگیرانه و کنترل کیفی فرآورده‌های شیلاتی دارد. از این‌رو شناسایی مورفولوژی و مولکولی انگل‌های ماهیان دریای خلیج فارس که از منابع عمده خوراک کشور محسوب می‌شوند، ضروری به‌نظر می‌رسد.

**مواد روش‌ها:** در مطالعه حاضر، تعداد ۲۰ قطعه ماهی آلوده سرخو و قباد از مناطق ساحلی استان هرمزگان شامل جزایر قشم و کیش تابستان ۱۴۰۱ صید و مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر ماهی، ویژگی‌های مورفولوژیک شامل طول و عرض کلی، وزن بدن، طول استاندارد در ماهی سرخو و طول چنگالی در ماهی قباد اندازه‌گیری و ثبت گردید. محوطه صفاقی، احشاء و سرتاسر لوله گوارش هر یک از ماهیان آلوده به‌صورت ماکروسکوپی از لحاظ وجود نماتودهای گوارشی بررسی و جداسازی گردید. سپس نماتودهای جمع‌آوری شده با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر شناسایی گردیدند. لاروهای نماتودها جهت تایید و تشخیص مورفولوژی و نیز به‌روش مولکولی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی از نواحی ژنومی ITS I & II، ۵.8S، و ۱۸S مورد بررسی قرار گرفتند.

**نتایج:** از ۲۰ قطعه ماهیان سرخو و قباد مورد بررسی در منطقه مورد مطالعه به‌ترتیب ۱۸ (۹۰٪) و ۲۰ (۱۰۰٪) قطعه ماهی واجد آلودگی نماتودی بودند. در ماهیان قباد فراوان‌ترین گونه‌های نماتودی شناسایی شده به‌ترتیب *Ascarophis* و *Terranova* بودند. در ماهی سرخو نیز به‌ترتیب جنس‌های *Ascarophis*، *Raphid ascaris* از فراوان‌ترین نماتودهای مشاهده‌شده تشخیص داده شد. در ماهیان قباد گونه‌های نماتود *Ascarophis*، *Hysterothylacium* و *Paracamalanus* و در ماهیان سرخو نیز *Capillaria*، *Eustrongyloides* و *Cosmoxynmoides* هم کم‌ترین میزان آلودگی را دارا بودند. در بررسی‌های مولکولی، لاروها و نماتودهای انگلی غیرقابل شناسایی از نظر مورفولوژیک به کمک PCR با پرایمرهای اختصاصی هر جنس، مورد ارزیابی قرار گرفتند گونه‌های نماتودی *Anizakis*، *Terranova*، *Ascarophis* و *Hysterothylacium* پس از توالی‌یابی و مقایسه میزان شباهت ژنوم آن‌ها با سایر گونه‌های نماتودی در بانک جهانی ژن (NCBI) در ماهیان سرخو و قباد آلوده تایید گردیدند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد با توجه به بالا بودن میزان آلودگی نماتودی به‌ویژه نماتودهای مشترک بین انسان و دام *Anisakis* و *Hysterothylacium* در ماهیان استخوانی سرخو و قباد خلیج فارس قابل ملاحظه می‌باشد بنابراین لزوم توجه و نظارت بر مراحل پیشگیری از انتقال عوامل عفونت‌زای انگلی و نظارت بر مراحل فراوری و مصرف آبزیان دریایی جهت تامین سلامت و بهبود کیفیت آن‌ها اجتناب‌ناپذیر است.

\* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mh.jalali@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ شهریور ۱۴۰۲؛ تاریخ داوری: ۱ مهر ۱۴۰۲؛ تاریخ اصلاح: ۲ آبان ۱۴۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۵ دی ۱۴۰۲  
(DOI): 10.70102/AEJ.2025.17.1.11

## مقدمه

خلیج فارس آبراهی است که در امتداد دریای عمان و در میان ایران و شبه جزیره عربستان قرار دارد (۱). این پهنه آبی یکی از منابع اصلی صید ماهی در ایران می باشد (۲). ماهی سرخوی معمولی متعلق به خانواده سرخو ماهیان در آب های کم عمق ساحلی با بستر گلی یا شنی مناطق کم عمق صخره ای زیست می کند، این ماهیان گوشتخوارند و از ماهیان کوچک و سخت پوستان تغذیه می کنند و بخش مهمی از صید صنعتی دریای عمان را تشکیل می دهند (۳). ماهی سرخوی معمولی با اندازه تقریبی به طور متوسط ۵۰ سانتی متر هستند، رنگ بدن سبز نقره ای یا قرمز برنزه بوده و در وسط هر فلس نقطه تیره مشخصی وجود دارد که مجموعاً ردیف های طولی از نوارهای تیره رنگی را ایجاد می کنند (۴). ماهی قباد از خانواده تون ماهیان بوده و تا عمق ۲۰۰ متری آب دیده می شود (۵). این گونه دارای مهاجرت های بین اقیانوسی است. بیشترین میزان صید ماهی قباد در سواحل ایرانی خلیج فارس طی ماه های آذر و دی صورت می گیرد (۶). ماهی قباد بدنی کشیده و از طرفین کاملاً فشرده، سر دراز آن تقریباً برابر عرض بدن می باشد (۲). ماهی قباد، ماهی است که دارای ارزش اقتصادی مهمی است (۷). علی رغم اهمیت ماهی برای تغذیه انسان، گونه های ماهیان آب شور به دلیل نگهداری از موجودات انگلی به عنوان میزبان واسط یا قطعی انگل هایی که برای انسان و حیوانات مضر هستند، شناخته می شوند (۸). Onoja-Abutu و همکاران، بیان نموده اند که انگل ها بر سلامت، رشد و بقای ماهی تأثیر می گذارند و باعث کاهش ارزش غذایی، تغییر در زیست شناسی و رفتار، تضعیف سیستم ایمنی بدن، بیماری، مرگ و میر، کاهش باروری و آسیب های مکانیکی می شوند (۹). Rahdar و همکاران، در مطالعه خود که به بررسی انگل های داخلی و خارجی زئونوز ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در شادگان و سوسنگرد پرداختند مشاهده نمودند که همه گونه های ماهی بسته به گونه، اندازه و نوع محل زندگی آن ها در معرض حمله انگل ها قرار دارند. از شایع ترین مکان های انگل خارجی در ماهی می توان به آبشش ها، روی پوست بدن، باله ها، دهان می باشد. هم چنین، برخی از آن ها بر روی تخم ماهی نیز رشد می کنند. کنترل انگل های داخلی ماهی بسیار دشوار است. اگرچه گاهی اوقات می توان اثرات آن ها را به راحتی شناسایی کرد، اما تشخیص و شناسایی خود انگل ها معمولاً به مهارت های خاصی نیاز دارد. شایع ترین مکان های انگل داخلی در ماهی، در داخل خون، دستگاه گوارش، سیستم عصبی شناسایی شده است (۱۰). انگل ها از طریق تضعیف سیستم ایمنی میزبان به عنوان عوامل مستعد کننده عفونت های دیگر عمل می کنند و در نتیجه حساسیت آن ها را نسبت به عفونت های ثانویه افزایش می دهند و منجر به کاهش

ارزش غذایی ماهی و زیان های اقتصادی بعدی می شود (۱۱). Benesh و همکاران، بیان نمودند که مهره داران توسط چهار گروه اصلی کرم ها (کرم ها) انگلی می شوند. دو گروه شامل، ترماتودها یا فلوک ها و سستودها یا کرم های نواری در شاخه کرم های پهن قرار می گیرند. دو گروه دیگر نماتودها یا کرم های گرد و آکانتوسفalan ها یا کرم های سرخاردار (*Acanthocephala*) هستند. عفونت های انگلی به ندرت منجر به مرگ ماهی می شود (۱۲). نماتودها دارای بدن لوله ای شکل هستند. نماتودها معمولاً باعث ایجاد کیست در بافت ماهی می شوند. Dezfuli و همکاران، در مطالعه خود گزارش دادند که معروف ترین نمونه کرم نماتود، آنیزاکیس است که انسان را نیز آلوده می کند. آنیزاکیس ها نسبتاً ضخیم با اندازه ۵۰-۴۰ سانتی متر و ضخامت ۶-۵ میلی متر هستند. در داخل روده باریک در بدن میزبان زندگی می کنند (۱۳). Howard و همکاران، مشخص نموده اند که در چرخه زندگی پیچیده انگل نماتود *Clavinema mariae*، لارو انگل در میزبان های واسط اول (سخت پوست یا پاروپایان) دریایی رشد می کند که میزبان واسط دوم یا نهایی ماهی آن ها را می بلعد. سپس این انگل به بافت های بین شعاع های باله یا بافت های زیر جلدی میزبان ماهی خود می رود. کرم های ماده، ضایعه ای در پوست میزبان خود ایجاد می کنند و از طریق این شکاف، لاروها را در آب رها می کنند (۱۴). Rahmati و همکاران، به مرور بیماری های زئونوز انگلی منتقله از ماهی به انسان پرداختند و بیان نمودند که بیماری های زئونوز عمدتاً ناشی از کرم ها شامل چهار گونه از نماتودها نظیر *Gnathostoma*، *Anisakis simplex* و *Capilaria philipinensis spinigerum* و *Diocotophyme renal* می باشد که در ایران نیز گزارش شده است. این آلودگی بیش تر به دلیل مصرف ماهی خام و نیمه پخته، روش های غلط دودی و نمک اندود کردن ماهی است (۱۵). در سال های اخیر استفاده از مارک های مولکولی به عنوان ابزاری جدید و جایگزینی مناسب برای شناسایی انگل ها مطرح شده است. اغلب مطالعات جدید با استفاده از مارک های مولکولی نواحی rDNA و ITS برای شناسایی و تمایز گونه های انگلی صورت پذیرفت. در مطالعات پیشین، آنالیزهای ژنومی و رونویسی برخی انگل های ماهی انجام شده است. علاوه بر این، مطالعات مبتنی بر رونویسی برای بررسی تعامل میزبان-انگل در برخی موارد انجام شده است (۱۶). Manshadi و همکاران، بیان نمودند که متاسرکر ترماتود *Haplorchis taitui* در ۶۹ درصد از ۳۰ نمونه آزادهای مورد بررسی به روش میکروسکوپی ردیابی شده و توسط روش مولکولی PCR معمولی مورد تأیید قرار گرفته است (۱۷). لوله گوارش با نقشی مهم در هضم و جذب مواد غذایی، باعث رشد و نمو جانوران می شود، از سوی دیگر روده به دلیل نقش مهم در جذب غذا یکی از مکان های اصلی ورود و جذب آلاینده ها در بدن ماهی به شمار می رود (۱۸). ماهیان به علت

نمونه‌های نماتودی انگلی در زیر استریومیکروسکوپ (لوپ) مورد بررسی قرار گرفتند و سپس نمونه‌های نماتودی با قلم مو برداشته و به یک ظرف حاوی آب یا سرم فیزیولوژی منتقل گردید تا کرم‌ها در حالت استراحت (واکشی) قرار گیرند. پس از آن جهت مطالعات ریخت‌شناسی، کرم‌ها در محلول‌های مونته و ثابت کننده قرار گرفتند و پس از شفاف‌سازی توسط محلول لاکتوفنول در زیر میکروسکوپ نوری با استفاده از کلیدهای تشخیصی Anderson و همکاران (۲۱)، Yamaguti (۲۲) تشخیص ریخت‌شناسی نماتودهای جمع‌آوری شده از هر گونه ماهیان صورت گرفت. سپس بخش میانی بدن نماتودهای تشخیص داده شده به کمک اسکالپل جداسازی و در اتانول ۷۰ درصد برای مطالعات مولکولی نگه‌داری گردید (۲۰).

**آنالیز داده‌ها:** برای تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار اکسل و SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی (میزان فراوانی، درصد فراوانی، میانگین و انحراف معیار) و برای تعیین معنی‌داری از روش Independent Samples T-test استفاده شد.

### بررسی مولکولی

**استخراج DNA:** نماتودهای نگه‌داری شده در الکل پس از چندبار شست‌وشو با آب مقطر به منظور الکل‌زدایی، جداگانه جهت استخراج ژنوم DNA آن‌ها بر اساس دستورالعمل کیت استخراج شرکت سیناکلون Cat. NO.:EX6011 جدا سازی گردید و به‌طور جداگانه برای انجام فرایند PCR نگه‌داری شدند. به‌طور خلاصه ابتدا نمونه را به قطعات کوچک‌تر برش داده و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بافر Prelysis را به‌همراه ۵ میکرولیتر ریبونوکلاز A به میکروتیوب اضافه و ورتکس و به‌مدت ۱۵ دقیقه انکوبه و با افزودن پروتئیناز K به میکروتیوب جهت هضم بافتی به مدت ۳-۱ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. استخراج DNA از نمونه طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (سیناکلون) انجام شد. در این فرایند ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه به میکروتیوب استریل منتقل و ۴۰۰ میکرولیتر Lysis Buffer اضافه و ورتکس به مدت ۲۰ ثانیه صورت گرفت. در مرحله بعد انتقال مایع به ستون‌های جمع‌آوری کننده انجام شد و میکروتیوب سانتریفیوژ گردید. ۴۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی اول و دوم به میکروتیوب اضافه و در دو مرحله سانتریفیوژ صورت گرفت. محلول با احتیاط به میکروتیوب استریل ۲ میلی‌لیتری منتقل و سپس ۵۰ میکرولیتر محلول Elution Buffer که از قبل تا دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد گرم شده در مرکز ستون خالی و درب بسته و در دمای ۶۵ درجه به مدت ۳-۵ دقیقه انکوبه شد. در مرحله آخر محلول سانتریفیوژ و تمام نمونه‌های DNA استخراج شده جداسازی و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

دارا بودن منابع مهم، از قبیل پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری نقش مهمی در زنجیره غذایی انسان دارند. لذا به علت بالا رفتن حجم آلاینده‌ها در محیط‌های آبی، نگرانی در مورد کیفیت و سلامت این موجودات افزایش یافته است (۱۹). از این رو، یکی از شرایط تولید آبزیان، حفظ بهداشت و جلوگیری از بروز بیماری‌های آن‌ها می‌باشد. در نتیجه، برای مقابله با بیماری‌های انگلی و خسارات ناشی از آن در یک منطقه فقط شناسایی انگل‌ها کافی نمی‌باشد، بلکه شناخت انگل‌های ماهیان در مناطق اکولوژیکی مختلف، مطالعه بوم‌شناختی، همه‌گیرشناسی آن‌ها، شناخت دقیق روابط متقابل بین انگل و میزبان و رابطه آن دو با محیطی که در آن زندگی می‌کنند ضرورت دارد. بنابراین، در مطالعه حاضر، با توجه به مطالب بیان شده به شناسایی مورفولوژیک و مولکولی نماتودهای دستگاه گوارش و احشاء ماهیان سرخو و قباد در آب‌های خلیج فارس استان هرمزگان پرداختیم.

## مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری نمونه‌ها:** تعداد ۴۰ قطعه ماهی سرخو و قباد (به تعداد مساوی) از مناطق ساحلی آب‌های خلیج فارس، قشم و کیش استان هرمزگان تابستان ۱۴۰۱ به‌وسیله تور انتظاری در لنج (قایق‌های تندرو) به‌صورت تازه صید و در جعبه‌های یونولیت حاوی پودر یخ به آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. برای هر ماهی، بر اساس مشخصات بیومتری از قبیل وزن، طول کلی بدن، طول استاندارد، عرض و جنس ماهی و شدت آلودگی، به کمک خط‌کش (با دقت ۰/۱ سانتی‌متر) و ترازو دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ گرم) اندازه‌گیری و در جداول مربوطه ثبت شدند (۲۰).

**بررسی ریخت‌شناسی:** جهت بررسی و جداسازی نماتودهای دستگاه گوارش و محوطه بطنی، با یک برش ذوزنقه‌ای که از ناحیه مقعد تا سرپوش آبششی ادامه می‌یافت، عضلات دیواره شکمی این ناحیه در یک سمت ماهی برداشته شد تا محوطه بطنی در معرض دید قرار گیرد. سپس با چشم غیرمسلح محوطه بطنی و احشاء ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. دستگاه گوارش با دو برش در بالایی معده و قسمت انتهایی روده از محوطه بطنی ماهیان خارج گردید و سپس دو سر آن از ابتدایی‌ترین بخش تا انتهای روده بست زده و برش سر تا سری بر روی دیواره آن صورت گرفت. محتویات داخلی لوله گوارش بر روی الک با شماره ۱۰۰ که اندازه هر چشمه ۱۵۰ میکرومتر بوده ریخته و شستشوداده شد. پس از جداسازی مواد زائد گوارشی، محتویات الک به یک پتری‌دیش انتقال داده شد. سپس مقداری آب به محتویات اضافه و به مدت ۱۰-۲۰ دقیقه در مکانی ساکن نگه داشته شد.

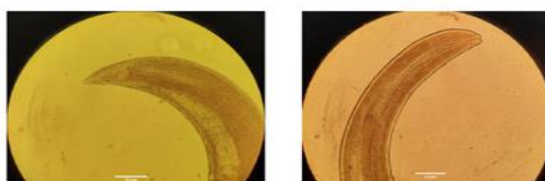
۴۰ ثانیه و مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه بود.

**تعیین توالی و آنالیز مولکولی:** محصولات هر نمونه تکثیر شده توسط الکتروفورز در ژل آگارز ۲-۱٪ و نیز توسط دستگاه ترنسولومیناتور مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سپس محصولات PCR، جهت بررسی توالی، خالص سازی شده و به مراکز تخصصی (MOMGENE, IRAN) ارسال شد.

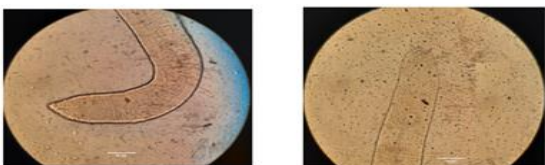
## نتایج

### نتایج مشخصات و یافته های ریخت شناسی نماتودهای

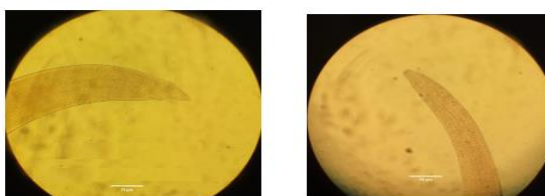
**ماهیان آلوده:** پس از جمع آوری نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان آلوده، تشخیص ریخت شناسی هر گونه از نماتودها براساس کلیدهای شناسایی صورت گرفت. عمده نماتودهای جمع آوری شده در مرحله لاروی بودند و در هر دو جنس تشخیص داده شدند.



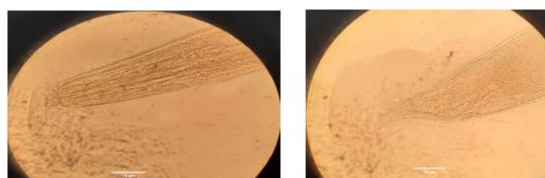
(A) قدام و خلف نماتود آتیزاکیس، ۱۰X



(B) قدام و خلف نماتود هیستروتیلیاسیوم، ۱۰X



(C) قدام و خلف نماتود آسکاروفیس، ۱۰X



(D) قدام و خلف نماتود ترانووا، ۱۰X

شکل ۱: محتویات نماتودی در ظرف پتری دیش با چشم مسلح

### تکثیر قطعات ژنوم هسته ای DNA

**آنیزاکیس و هیستروتیلیاسیوم:** قطعه ژن نواحی ITS I, II ژنوم DNA ریپوزومی با یک جفت پرایمر آغازگر FAniz-Hist به جلو 5'-GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT-3' و RAniz- Hist معکوس 5'-TTAGTTTCTTTTCTCCGCT-3' (۲۳) تکثیر شد. واکنش ها در محلول بافر MgCl<sub>2</sub> 2x MasterMix (Ampliqon، کره)، ۱۲.۵ میکرولیتر، ۳ میکرولیتر محصول DNA استخراج شده، ۱ F Primer میکرولیتر، ۱ R Primer میکرولیتر و ۷.۵ میکرولیتر آب انجام شد. محصول نهایی به دستگاه ترموسایکلر (BIOER, china) ساخت کشور چین منتقل شد. شرایط چرخه PCR به شرح زیر بود: مرحله اولیه دناتوره کردن ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، به دنبال آن ۳۵ سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۷ درجه سانتی گراد برای ۴۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵۰ ثانیه و مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه بود.

**آسکاروفیس:** بخشی از ژن 18s ژنوم DNA ریپوزومی با کمک روش PCR یک جفت پرایمر آغازگر FAsc به جلو 5'-CGGGGGGAGTATGGTTGC-3' و RAsc معکوس 3'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-5' (۲۴) تکثیر شد. واکنش ها در محلول بافر MgCl<sub>2</sub> 2x MasterMix (محصول Ampliqon، کره)، ۱۲.۵ میکرولیتر، ۵ میکرولیتر محصول DNA استخراج شده، ۱ F Primer میکرولیتر، ۱ R Primer میکرولیتر و ۵.۵ میکرولیتر آب انجام شد. محصول نهایی به دستگاه ترموسایکلر منتقل شد. شرایط چرخه PCR به شرح زیر بود: مرحله اولیه دناتوره کردن ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، به دنبال آن ۳۵ سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه بود.

**ترانووا:** بخشی از ناحیه ITS I، 5.8s و ITS II ژنوم DNA ریپوزومی با کمک روش PCR یک جفت پرایمر آغازگر FTerra2 به جلو 5'-TTGCAGACACATTGAGCACT-3' و RTerra2 معکوس 3'-TTAGTTTCTTTTCTCCGCT-5' تکثیر شد. واکنش ها در محلول بافر 1x MasterMix (محصول Ampliqon، کره) ۱۲.۵ میکرو لیتر، محصول DNA استخراج شده ۳ میکرولیتر، ۱ F Primer میکرو لیتر، ۱ R Primer میکرو لیتر و ۷.۵ میکرو لیتر آب انجام شد. محصول نهایی به دستگاه ترموسایکلر منتقل شد. شرایط چرخه PCR به شرح زیر بود: مرحله اولیه دناتوره کردن ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، به دنبال آن ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۵۱ درجه سانتی گراد برای ۴۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد برای

میانگین شدت و میانگین فراوانی نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان سرخو، بیش‌ترین درصد شیوع آلودگی به گونه‌های آسکاروفیس (۰/۷۰)، رافیدوآسکاریس (۰/۶۰)، آنیزاکیس و هیستروتیلیاسیوم (۰/۵۰) مشاهده گردید. در بررسی درصد شیوع، دامینانس، میانگین شدت و میانگین فراوانی نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان سرخو، بیش‌ترین درصد شیوع آلودگی به گونه‌های آسکاروفیس (۰/۷۰)، رافیدوآسکاریس (۰/۶۰)، آنیزاکیس و هیستروتیلیاسیوم (۰/۵۰) مشاهده گردید.

جدول ۱: درصد شیوع، دامینانس، میانگین شدت و میانگین فراوانی نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان قباد

نام گونه انگلی	درصد شیوع	دامینانس	میانگین شدت	میانگین فراوانی
ترانووا	۷۰	۰/۶۸۷	۱/۵۷۱	۱/۱
آسکاروفیس	۱۰	۰/۰۶۲	۱	۰/۱
آنیزاکیس	۲۰	۰/۱۲۵	۱	۰/۲
هیستروتیلیاسیوم	۱۰	۰/۰۶۲	۱	۰/۱
پارااکامالانوس	۱۰	۰/۰۶۲	۱	۰/۱

جدول ۲: درصد شیوع، دامینانس، میانگین شدت و میانگین فراوانی نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان سرخو

نام گونه انگلی	درصد شیوع	دامینانس	میانگین شدت	میانگین فراوانی
رافیدوآسکاریس	۶۰	۰/۲	۱/۸	۰/۹
آنیزاکیس	۵۰	۰/۱۳۳	۱/۲	۰/۶
هیستروتیلیاسیوم	۵۰	۰/۲۲۲	۲	۱
کاپیلاریا	۱۰	۰/۰۲۲	۱	۰/۱
آسکاروفیس	۷۰	۰/۳۳۳	۲/۱۴۲	۱/۵
کوسموکسینموئیدس	۲۰	۰/۰۴۴	۱	۰/۲
یواسترونزپلوئیدس	۲۰	۰/۰۴۴	۱	۰/۲



شکل ۲: محتویات نماتودی در ظرف پتری دیش با چشم غیر مسلح

مشخصات بیومتری ماهیان آلوده سرخو و قباد مطالعه در جدول ۱ تا ۳ و به ترتیب برای ماهیان سرخو و قباد آورده شده است. ماهیان سرخو دارای دامنه وزنی ۸۰۰-۲۲۲۰ گرم و ماهیان قباد دامنه وزنی ۲۱۱۰-۱۱۲۰ گرم بودند. طی بررسی‌های آماری نیز مشخص گردید که آلودگی نماتودی در عمده ماهیان مورد مطالعه وجود دارد. ۹۰ درصد (۱۸ از ۲۰ قطعه) ماهیان سرخو ۱۰۰ درصد (۲۰ از ۲۰ قطعه) ماهیان قباد صید شده از آب‌هایی خلیج فارس استان هرمزگان دارای آلودگی نماتودی بودند. در مشخصات بیومتری ماهیان قباد و سرخو مشاهده شد که میانگین طول کل بدن و وزن ماهیان قباد مورد مطالعه به ترتیب ۶۴/۳ سانتی‌متر و ۱۵۴۴/۷ گرم و این مقادیر برای ماهیان سرخو مورد بررسی نیز به ترتیب برابر با ۴۵/۵ سانتی‌متر و ۱۳۱۱/۵ گرم ارزیابی گردید. در بررسی درصد شیوع، دامینانس، میانگین شدت و میانگین فراوانی نماتودهای دستگاه گوارش ماهیان قباد، بیش‌ترین درصد شیوع آلودگی به گونه‌های ترانووا (۰/۷۰) و آنیزاکیس (۰/۲۰) مشاهده گردید. در بررسی درصد شیوع، دامینانس،

جدول ۳: مقایسه میانگین طول چنگالی، عرض بدن، وزن و طول کل بدن در نماتودهای دستگاه گوارش و احشاء ماهی قباد (با استفاده از آزمون نایارامتری من ویتنی)

نماتود	طول چنگالی	طول کل بدن	عرض <sup>a</sup>	وزن <sup>a</sup>
هیستروتیلیاسیوم <sup>a</sup>	۶۲/۰۰±۰۰۰	۶۸/۰۰±۰۰۰	۱۲/۰۰±۰۰۰	۱۹۱۸±۰۰
غیرآلوده	۵۶/۲۷±۴/۳۹	۶۳/۸۸±۴/۲۴	۹/۷۷±۱/۰۶	۱۵۰۳/۲۲±۳۰۸
مقدار P-value	۰/۰۹	۰/۱۶	۰/۰۴	۰/۰۹
ترانووا	۵۶/۱۴±۴/۹۷	۶۴/۰۰±۴/۷۷	۹/۸۵±۱/۱۶	۱۵۱۹/۷±۳۴۸/۶
غیرآلوده	۵۸/۵±۲/۹۳	۶۵/۰۰±۲/۶۸	۱۰/۳۳±۱/۳۶	۱۶۰۶/۶±۲۵۲/۸
مقدار P-value	۰/۵۴	۰/۹	۰/۴	۰/۴۴
پارااکامالانوس	۵۵/۰۰±۰۰۰	۶۲/۰۰±۰۰۰	۹/۰۰±۰۰۰	۱۴۶۴±۰۰۰
غیرآلوده	۵۷/۰۵±۴/۳۷	۶۴/۵±۴/۳۶	۱۰/۱۱±۱/۲۳	۱۵۵۳/۵۸±۳۳۵/۶
مقدار P-value	۰/۲۶	۰/۳۷	۰/۲۶	۰/۸۵
اسکاروفیس	۵۹/۰۰±۰۰۰	۶۸/۰۰±۰۰۰	۱۰/۱۱±۱/۲۳	۱۵۱۷/۲±۰۰۰
غیرآلوده	۵۶/۶۱±۴/۷۱	۶۳/۸۸±۴/۲۴	۹/۰۰±۰۰۰	۱۷۹۲±۳۲۴/۷
مقدار P-value	۰/۳۷	۰/۱۶	۰/۲۶	۰/۲۶
آنیزاکیس <sup>a</sup>	۶۰/۰۰±۲/۳	۶۶/۵±۱/۷۳	۱۱/۰۰±۱/۱۵	۱۵۰۱/۳۴±۰۰۰
غیرآلوده	۵۶/۰۶±۴/۶۳	۶۳/۷۵±۴/۴۹	۹/۷۵±۱/۱۲	۱۷۱۸±۳۲۸/۵۱
مقدار P-value	۰/۲۱	۰/۳۸	۰/۰۶	۰/۰۱۴

\*حروف لاتین (a, b)، معنی داری (P<۰/۰۵) را نشان می‌دهند.

جدول ۴: مقایسه میانگین طول استاندارد، عرض بدن، وزن و طول کل بدن در نماتودهای دستگاه گوارش و احشاء ماهی سرخو (با استفاده از آزمون ناپارامتری من ویتنی)

نماتود	طول استاندارد <sup>b</sup>	طول کل بدن	عرض	وزن <sup>a</sup>
یواسترونژیلیوئیدس	آلوده	۳۹/۵ ± ۸/۶۶	۴۶/۲۵ ± ۹/۵۲	۱۲۹۰/۲+۶۲۰/۳
	غیرآلوده	۲۶/۰۰ ± ۳/۲۶	۴۴/۷۵ ± ۶/۷۲	۱۳۷۵ + ۵۷۵/۰
	P-value	۰/۸۹	۰/۷۵	۰/۹۳
آسکاروفیس	آلوده	۳۶/۷۱ ± ۵/۳۱	۴۴/۵ ± ۷/۱۴	۱۲۸۵/۵+۵۶۰/۰۱
	غیرآلوده	۳۶/۶۶ ± ۳/۳۸	۴۶/۳۳ ± ۷/۵	۱۳۷۱/۳۳+۶۴۸/۳
	P-value	۰/۷۷	۰/۴۴	۰/۰۶
رافیدوآسکاریس <sup>a</sup>	آلوده	۳۸/۳۳ ± ۵/۴۴	۴۷/۷۵ ± ۸/۰۴	۹۵۶/۶ + ۶۳۶/۶
	غیرآلوده	۳۴/۲۵ ± ۱/۵۸	۴۱/۰۰ ± ۲/۰۰	۱۵۴۸/۱۶+۱۰۰/۵
	P-value	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۰۲۳
کاپیلاریا <sup>a,b</sup>	آلوده	۴۷/۰۰ ± ۰۰	۵۴/۵ ± ۰۰	۱۲۵۹ + ۰۰
	غیرآلوده	۳۵/۵۵ ± ۳/۳۲	۴۴/۰۰ ± ۶/۶	۲۰۵۰ + ۵۴۲/۷
	P-value	۰/۰۱	۰/۲۶	۰/۰۲۶
هیستروتیلاسیوم <sup>a</sup>	آلوده	۳۵/۲ ± ۳/۳۵	۴۳/۲ ± ۶/۵۴	۱۱۸۸/۶ + ۵۴۳/۸
	غیرآلوده	۳۸/۲ ± ۵/۵۵	۴۶/۹ ± ۷/۴۸	۱۴۳۴/۴ + ۶۰۰/۴
	P-value	۰/۲۴	۰/۱۹	۰/۰۱۹
کوسموکسینموئیدس <sup>a</sup>	آلوده	۳۴/۰۰ ± ۱/۱۵	۴۱/۰۰ ± ۱/۱۵	۱۰۱۲ + ۴۶/۱۲
	غیرآلوده	۳۷/۳۷ ± ۵/۰۵	۴۶/۰۶ ± ۷/۶۲	۱۳۸۶/۲۷+۶۱۹/۳
	P-value	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۰۳
آنیزاکیس	آلوده	۳۶/۶ ± ۴/۰۳	۴۶/۴ ± ۸/۱۸	۱۱۷۵/۲ + ۶۵۴/۳
	غیرآلوده	۳۶/۸ ± ۵/۵۵	۴۳/۷ ± ۵/۹۵	۱۴۴۷/۸ + ۴۶۹/۵
	P-value	۰/۹۱	۰/۴۸	۰/۰۶۸

\* حروف لاتین (a, b)، معنی داری (P<۰/۰۵) را نشان می‌دهند.

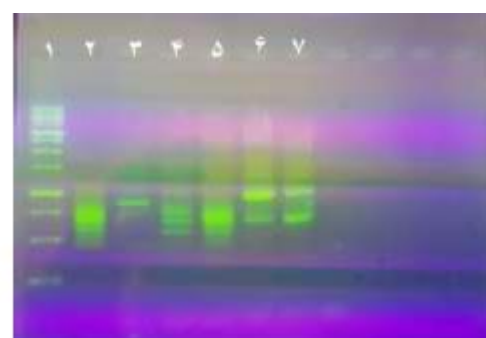
ژنوم DNA ریبوزومی با کمک روش PCR به ترتیب با طول ۸۹۶ bp و ۶۶۳bp سنتز شد.

### مشخصات و یافته‌های مولکولی نماتودهای ماهیان آلوده

آنیزاکیس و هیستروتیلاسیوم: با انجام قطعه ژن نواحی ITS I, II



شکل ۴: چاهک اول لدر 1KB، چاهک سوم کنترل مثبت نماتود هیستروتیلاسیوم ماهی سرخو باند ۶۶۳bp



شکل ۳: چاهک اول لدر 1KB، چاهک‌های پنج و شش کنترل مثبت نماتود آنیزاکیس ماهی سرخو و قباد باند ۸۹۶ bp

و *Anisakis typica* K04 (ON184287.1, SOUTH CHINA SEA) *Anisakis typica* isolate (ON188805.1, SOUTH CHINA SEA) K08 تشابه داشتند.

پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه آنیزاکیس به میزان ۹۷/۳۲٪ با ژنوم نماتودهایی *Anisakis typica* isolate nj01(MN420659.1, THEILAND)

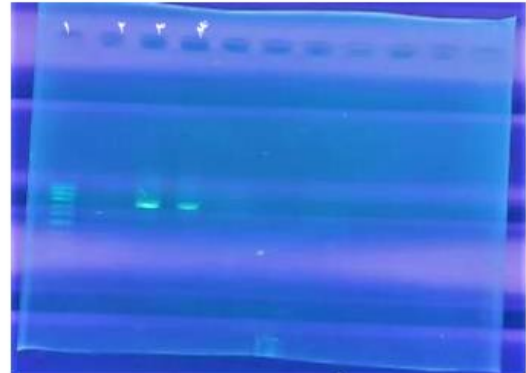
II KMHS -2017 isolate 81(MF568765.1,SOUTH  
Terranova sp.type II KMHS -2017 isolate .CAROLINA,USA)  
Terranova و 27(MF658837.1, SOUTH CAROLINA,USA)  
sp.type II KMHS -2017 isolate 49(MF668774.1, SOUTH  
CAROLINA,USA) به ترتیب ۹۲٪، ۹۱٪ و ۹۰٪ تشابه داشتند.

## بحث

در این تحقیق انگل‌های متنوعی از ماهیان سرخو و قباد، جداسازی و شناسایی گردیدند. طی بررسی‌های آماری نیز مشخص گردید که آلودگی نامتودی در عمده ماهیان مورد مطالعه وجود دارد. ۹۰ درصد (۱۸ از ۲۰ قطعه) ماهیان سرخو ۱۰۰ درصد (۲۰ از ۲۰ قطعه) ماهیان قباد صید شده از آب‌هایی خلیج فارس استان هرمزگان دارای آلودگی نامتودی بودند؛ قابل ذکر است که گونه‌های مختلف این انگل‌ها در مطالعات گذشته در نقاط مختلف جهان گزارش شده‌اند (۲۵، ۲۶، ۲۷). بیش‌ترین درصد شیوع آلودگی نامتودها در ماهیان قباد مربوط به گونه‌های ترانووا (۷۰٪) بود، این میزان شیوع از گزارش Sorour و همکاران بیش‌تر بود؛ آن‌ها در مطالعه خود بیان نمودند که میزان شیوع نامتود ترانووا در مطالعه‌شان به‌طور کلی ۱۰٪ بود اگرچه میزان شیوع در فصل تابستان بالاترین میزان شیوع را با ۲۲٪ دارا بود، اگرچه در فصل پاییز نیز با ۴٪ کم‌ترین میزان شیوع را گزارش نمودند (۲۸). قابل ذکر است که در رده بعدی نامتود آنیزاکیس (۲۰٪) قرار دارد که کم‌تر از میزان شیوع گزارش شده توسط Debenedetti و همکاران می‌باشد. آن‌ها در مطالعه خود بیان نمودند که آنالیزها نشان داد که ۳۳٪ درصد از ماهیان توسط لارو نامتود آنیزاکیس آلوده شده بودند (۲۹). Morales-Serna و همکاران، میزان شیوع نامتود آسکاروفیس در ماهیان سرخو خلیج‌های مازاتلان و باندراکس مکزیک را به ترتیب ۵ و ۱۲٪ گزارش نموده‌اند در حالی که در ماهیان سرخو مورد بررسی در این مطالعه میزان شیوع نامتود آسکاروفیس (۷۰٪) بود (۳۰). علت این تفاوت می‌تواند مربوط به آلودگی زیست محیطی ماهیان (منطقه جغرافیایی) از نظر شدت آلودگی انگل فوق و مقاومت ساختار تخم انگل‌های خانواده آسکاریدیده در شرایط مختلف محیطی و دمایی مورد بررسی دانست. در این مطالعه میزان شیوع نامتود رافیدوآسکاریس (۶۰٪) بود، این یافته بیش‌تر از گزارش Peyghan و همکاران بود، در این مطالعه میزان شیوع این نامتود در ماهیان زردباله ۳۰٪ گزارش شده است (۲۰). Ebrahimzade Musavi و همکاران، میزان شیوع نامتود آنیزاکیس در ماهی شوریده را ۱۲٪ گزارش نموده است در حالی که در مطالعه ما میزان شیوع نامتود آنیزاکیس ۵۰٪ بود (۳۱). در این مطالعه میزان شیوع نامتود هیستروتیلیاسیوم (۵۰٪) بود، Molina-Fernandez و همکاران، گزارش نمودند که میزان شیوع نامتود

نامتود آسکاروفیس: با انجام بخشی از ژن 18s DNA

ریبوزومی با کمک روش PCR با طول باند ۶۷۱ bp سنتز شد.

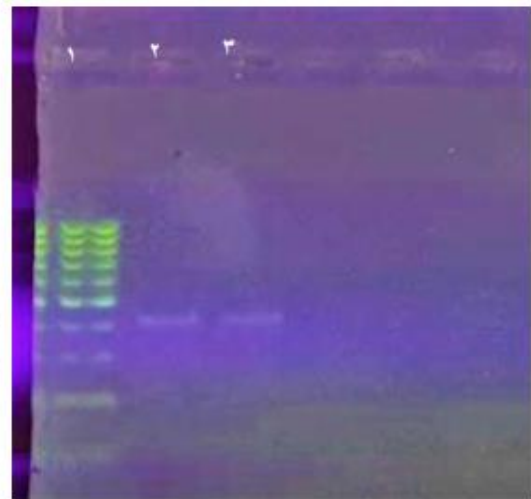


شکل ۵: چاهک‌های یک تا چهار به ترتیب: لدر ۱۰۰، کنترل منفی، کنترل مثبت در قباد، کنترل مثبت در سرخو مربوط به نامتود آسکاروفیس باند ۶۷۱ bp

پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه نامتود آسکاروفیس با گونه‌های *Ascarophis adioryx voucher* (JF803930.1, Czech Republic) *Ascarophis arctica* (DQ094172.1, UK) و *morronei* به ترتیب ۸۵/۳۸٪، ۸۵/۱۹٪ و ۸۴/۶۲٪ تشابه داشتند.

ترانووا: با انجام بخشی از ناحیه ITS I و 5.8s ITS II ژنوم DNA

ریبوزومی با کمک روش PCR با طول باند ۳۸۱ bp سنتز شد.



شکل ۶: چاهک اول لدر ۱۰۰، چاهک‌های دوم و سوم کنترل مثبت نامتود ترانووا در ماهی قباد باند ۳۸۱ bp

پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه نامتود ترانووا با گونه‌های *Terranova sp.type*

هیستروتیلاسیوم در ماهی شوریده ۱۳/۶۳٪ می‌باشد (۳۲). در آنالیزهای آماری انجام شده بر روی داده‌های نامتوهای دستگاه گوارش ماهیان قباد مشاهده گردید که نامتود آنیزاکیس با وزن بدن ماهیان رابطه معنی دار منفی دارد. Molina-Fernandez و همکاران در مطالعه خود بیان نمودند که در ماهی ساردین (*Sardina pilchardus*) که معمولاً در بسیاری از کشورها مصرف می‌شود و شدت آلودگی به آنیزاکیس با منطقه ماهیگیری، طول و وزن ماهی مرتبط بود (طول و وزن همبستگی قوی داشتند؛ همبستگی پیرسون ۰.۸۲؛  $P < 0.001$ ) (۳۲). هم چنین Rasouli نیز در مطالعه خود بیان نمود که در بین شانک ماهیان زردباله نواحی شمال خلیج فارس آلوده به انگل آنیزاکیس، بین میزان شدت آلودگی به این نامتود و وزن رابطه معنی داری برقرار است به طوری که با افزایش وزن بر میزان آلودگی به نامتود آنیزاکیس افزوده می‌شود (۳۳). Goffredo و همکاران در مطالعه خود بیان نمودند که در بین میزان شیوع نامتود هیستروتیلاسیوم در ماهیان صید شده از ناحیه آپولیا ایتالیا، ۲/۸٪ بود و هم چنین بین میزان شیوع این نامتود با ویژگی‌های مورفولوژیک ماهیان مانند عرض بدن و وزن بدن رابطه معنی دار منفی وجود دارد، بدین گونه که هرچه میزان عرض بدن کاهش می‌یابد، بار انگلی ماهیان بیش تر می‌شود (۳۴). این یافته‌ها با نتایج گزارش در مطالعه ما مبنی بر این که بین میزان شیوع نامتود هیستروتیلاسیوم و عرض بدن ماهیان قباد رابطه معنی دار منفی برقرار است، هم خوانی دارد. Moravec و همکاران، در مطالعه خود بیان نمودند که در بررسی‌های مورفولوژیک بر روی ماهیان اسکاتوفاگوس آرگوس در کشور تایلند، دو گونه جدید نامتود آسکاروفیس شناسایی و در بررسی‌های مورفولوژیک مشاهده شد که بین میزان شیوع این نامتودها و وزن بدن ماهیان تاثیر مثبت معنی دار برقرار است که با داده‌های به دست آمده در این مطالعه بر روی ماهیان سرخو هم خوانی دارد (۳۵). در این مطالعه مشاهده گردید که بین میزان شیوع نامتود آسکاروفیس با وزن بدن ماهیان رابطه‌ای نزدیک به معنی دار مثبت برقرار بود. Ebrahimzade Musavi و همکاران، در مطالعه خود در بررسی فراوانی انگل‌های کرمی ماهیان خلیج فارس بیان نمودند که با افزایش وزن ماهی، درصد آلودگی انگلی افزایش می‌یافت که با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد بدین ترتیب که بین میزان شیوع نامتودهای *Cosmoxynemoides* و *Hystrotilacium*، *Capilaria*، *Raphidoscaris* با وزن رابطه معنی دار مثبت داشتند چون میزبان‌های بزرگ تر، زیستگاه‌های بزرگ تر و مناسب‌تر را برای انگل‌ها فراهم می‌کنند و ماهیان بیش تر در معرض خطر حمله انگلی قرار می‌گیرند (۳۶). Kong و همکاران در مطالعه خود بر روی آبزیان سواحل کشور ژاپن این گونه بیان نمودند که شیوع و شناسایی لارو Anisakidae در این ماهیان به پیشگیری و کنترل آنیساکیازیس کمک می‌کند. در این

مطالعه، نمونه‌های ماهی از نشانگرهای ماهی در دریای چین شرقی و سواحل اقیانوس آرام در مرکز ژاپن در طی آوریل ۲۰۱۱ و ژوئیه ۲۰۱۳ به دست آمد. برای شناسایی گونه، تجزیه و تحلیل پلی مورفیسم طول قطعه محدود مبتنی بر PCR (PCR-RFLP) کل منطقه ITS1 (ITS1، S ۵.۸ و ITS2) DNA ریبوزومی هسته‌ای (rDNA) انجام شد. در مجموع، ۲۰۰۴ لارو از ۸۰ ماهی دم‌مو، ۲۰ ماهی قایق کوچک زرد و ۲۷ ماهی خال مخالی از دریای چین شرقی و سواحل اقیانوس آرام در مرکز ژاپن جمع‌آوری شد. شیوع بالای عفونت لارو Anisakidae (۱۲۲/۱۱۶، ۹۵.۱٪) در دریای چین شرقی شناسایی شد. هفت گونه متعلق به جنس *Anisakis* (Nematoda: Anisakidae) شناسایی شد. *Anisakis pegreffii* گونه غالب بود که ۸۴.۸ درصد از کل لاروهای بررسی شده در دریای چین شرقی را تشکیل می‌داد، در حالی که همه لاروهای Anisakidae جدا شده از ژاپن به عنوان *Anisakis simplex* (*s.s.*) شناسایی شدند. در دریای چین شرقی، *A. simplex* و *s.s.* *Anisakis typica* به ترتیب ۰.۶ (۴ از ۶۱۹) و ۱.۵٪ (۹ از ۶۱۹) از نامتدهای شناسایی شده بودند. جالب توجه است که یک لارو به عنوان ژنوتیپ نو ترکیب *A. simplex s.s.* و *A. pegreffii* شناسایی شد (۳۷) که این هم خوانی ندارد، در این مطالعه با داده‌های به دست آمده در مطالعه ما برای نامتود آنیزاکیس با انجام آنالیزهای مولکولی بر روی قطعه ژن نواحی ITS I، II، ژنوم DNA ریبوزومی با کمک روش PCR، پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه آنیزاکیس به میزان ۹۷/۳۲٪ با ژنوم *Anisakis typica* isolate nj01 (MN420659.1, THEILAND) و *Anisakis typica* K04 (ON184287.1, SOUTH CHINA SEA) و *Anisakis typica* isolate (ON188805.1, SOUTH CHINA SEA) K08 تشابه داشت. در ادامه باید بیان نمود که همکاران، در مطالعات مولکولی خود برای شناسایی گونه، تجزیه و تحلیل پلی مورفیسم طول قطعه محدود مبتنی بر PCR (PCR-RFLP) کل منطقه ITS1 (ITS1، S ۵.۸ و ITS2) DNA ریبوزومی هسته‌ای (rDNA) برای نامتود هیستروتیلاسیوم به این نتیجه رسیدند که چهار گونه از جنس *Hysterothylacium*، یعنی *Hysterothylacium amoyense* و *Hysterothylacium aduncum* نیز در مطالعه حاضر شناسایی شد (۳۷). این نتایج با مشاهدات ما هم خوانی ندارد و در این مطالعه مادر بررسی‌های مولکولی نامتود هیستروتیلاسیوم به این نتیجه رسیدیم که درصد شباهت با نامتودهای *Hysterothylacium* (MF072702.1, HEBEI CHINA) و *Hysterothylacium thalassini isolate Ht2* (U94375.1, USA) به ترتیب برابر ۹۹/۰۶٪ و ۹۸/۱۵٪ بود. علت این تفاوت در یافته‌ها را می‌توان به تفاوت اکولوژیکی و بین دو منطقه

ماهیان آن در تامین پروتئین حیوانی، امید است این مطالعه به به کارگیری سیاست‌های مدیریت مخاطرات انگلی و در نتیجه تامین سلامت و بهبود کیفیت فرآورده‌های شیلاتی شود.

## منابع

1. Parizadeh, K., Dalimi, A.S.L.A. and Arman, M., 2016. A study on helminthic infection of digestive tract of *Euryglossa orientalis*, *Cynoglossus bilineatus* and *Epinephelus coioides* in Bandar-e abbas. Payam Noor University PNU International center of qeshm Thesis. 94 p. (In Persian)
2. Hosseini, S.A., Kaymarm, F., Behzady, S., Kamaly, E. and Darvishi, M., 2017. Drift gillnet selectivity for indo-pacific king mackerel, *Scomberomorus guttatus*, using girth measurements in the North of Persian Gulf. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 17(6): 1145-1156.
3. Sadeghi, P., Tootoomi, M. and Molaei, S., 2019. Use of Intestinal Tissue of *Pomadasys kaakan* and *Lutjanus johnii* as Biomarkers of Contamination in The Oman Sea. Journal of Plasma and Biomarkers. 13(1): 47-55. (In Persian)
4. Sadeghi, N., 2001. Morphological and biological characteristics of southern Iranian fishes (The Persian Gulf & Oman Sea). Naghshe Mehr Publishers. 1: 450 p. (In Persian)
5. Banafshi, Gh., Askari Sari, A., Chelema Dezfulejad, M. and Velayatzadeh, M., 2016. Comparison of chemical composition of two fish *Scomberomorus guttatus* and *Cynoglossus arel*. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 7(4): 71-78. (In Persian)
6. Naderi Qaraqeshla, Q.S., Jamili, S., Fatemi, M.J., Sharifi, A.M. and Nourani, M.R., 2018. The chemical structure of acid-soluble Collagen from the Skin of *Rutilus Kutum* of Caspian Sea and *Scomberomorus guttatus* of Persian Gulf. Journal of Animal Environment. 10(3): 241-250. (In Persian)
7. Restiangsih, Y.H. and Noegoho, T., 2017. Beberapa aspek biologi ikan tenggiri papan (*Scomberomorus guttatus*) di perairan Cilacap dan sekitarnya. BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap. 8(3): 191-198.
8. Ravichandran, S., Rameshkumar, G. and Balasubramanian, T., 2010. Infestation of isopod parasites in commercial marine fishes. Journal of Parasitic Diseases. 34: 97-98.
9. Onoja-Abutu, A.E., Okpanachi, M.A., Alkazmi, L., Yaro, C.A. and Batiha, G.E.S., 2021. Branchial Chamber and Gastrointestinal Tracts Parasites of Fish Species in Benue and Niger Rivers, North Central, Nigeria. International Journal of Zoology. 1-10.
10. Rahdar, M., Mesbah, M. and Vazirianzadeh, B., 2012. Detection of internal and external zoonosis parasites in *Barbus sharpeyi* in Shadegan and Sosangard city during 2007. Jundishapur Journal of Health Sciences. 4(1): 59-68. (In Persian)
11. Benesh, D.P., Parker, G. and Chubb, J.C., 2021. Life cycle complexity in helminths: What are the benefits? Evolution. 75(8): 1936-1952.
12. Dezfuli, B.S., Giari, L. and Bosi, G., 2021. Survival of metazoan parasites in fish: Putting into context the

مورد بررسی مربوط دانست. Aguilar-Aguilar و همکاران، در مطالعه خود بر روی گونه جدید نامتود آسکاروفیس در ماهی *Clinocottus analis* بیان نمودند که در آنالیزهای مولکولی بر روی قطعات توالی برای نشانگرهای مولکولی 18 S rDNA از گونه‌های نامتود جدید به منظور آزمایش موقعیت آن در خانواده Cystidicolidae تحت یک زمینه فیلوژنتیکی به دست آمد. ویژگی‌های اصلی که این گونه جدید *Ascarophis morronei* را متمایز می‌کنند عبارتند از کاهش لایبیا و مورفولوژی تخم‌ها، فاصله حلقه عصبی و منافذ دفعی از انتهای قدامی و اسپیکول سمت چپ نرها می‌باشد. گونه جدیدی که در این جا شرح داده شده است، دومین گونه برای جنس *Ascarophis* است که به عنوان بالغ در خلیج کالیفرنیا جنوبی گزارش شده است و اولین گونه‌ای است که برای جنس ماهی *Clinocottus* ثبت شده است (۳۸). در بررسی‌های مولکولی بر روی نامتود آسکاروفیس با انجام آنالیزها بر روی بخشی از ژن 18s ژنوم DNA ریبوزومی با کمک روش PCR، پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه نامتود آسکاروفیس با گونه‌های *Ascarophis adioryx* (JF803930.1, Czech Republic) و *Ascarophis morronei* (MK714129.1, MEXICO) و (DQ094172.1, UK) به ترتیب ۸۵/۳۸٪، ۸۵/۱۹٪ و ۸۴/۶۲٪ تشابه داشتند. Shamsi و همکاران در مطالعه خود برای تشخیص و توصیف نامتود در کوسه کله چکشی اولین گزارش از یک گونه *Terranova* از گونه میزبان را ارائه نمودند. گونه جدید با مورفولوژی صفحات دمی و لایبیا مشخص می‌شود. در بررسی مولکولی توالی‌های ITS برای ۲۰ نمونه به دست آمد که یکسان بودند، علی‌رغم تنوع مورفولوژیکی که به طور سنتی نشان‌دهنده جدایی گونه‌ها بوده است. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی شناسایی لارو *Terranova* نوع II را تایید کرد که قبلاً در آب‌های استرالیا و کالدونیای جدید به عنوان *Terranova pectinolabiatan* گزارش شده بود (۳۹). در این مطالعه نیز برای بررسی‌های مولکولی نامتود ترانووا نیز با انجام آنالیزهای مولکولی بر روی بخشی از ناحیه ITS I، 5.8s و ITS II ژنوم DNA ریبوزومی با کمک روش PCR، پس از توالی‌یابی این ناحیه و انجام بلاست در سایت NCBI مشاهده شد که نمونه نامتود ترانووا با گونه‌های - *Terranova* sp.type II KMHS - 2017 isolate 81 (MF568765.1, SOUTH CAROLINA, USA) و *Terranova* sp.type II KMHS - 2017 isolate 27 (MF658837.1, SOUTH CAROLINA, USA) و *Terranova* sp.type II KMHS - 2017 isolate 49 (MF668774.1, SOUTH CAROLINA, USA) به ترتیب ۹۲٪، ۹۱٪ و ۹۰٪ تشابه داشتند. براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه مشخص شد که میزان آلودگی انگلی در ماهیان آزادزی خلیج فارس بالا می‌باشد و با توجه به اهمیت خلیج فارس و جایگاه

- (*Carassius auratus*) from central China. *Parasitology Research*. 114: 737-745.
27. Sorour, S.S. and Hamouda, A.H., 2019. Prevalence of nematodes infestation in *Clarias gariepinus* from El Burullus Lake and Lake Nasser, Egypt. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 33(2): 181-188.
  28. DeBenedetti, Á.L., Madrid, E., Trelis, M., Codes, F.J., Gil-Gómez, F., Sáez-Durán, S. and Fuentes, M.V., 2019. Prevalence and risk of anisakid larvae in fresh fish frequently consumed in Spain: An overview. *Fishes*. 4(1): 13.
  29. Morales-Serna, F.N., García-Vargas, F., Medina Guerrero, R.M. and Fajer-Ávila, E.J., 2017. Helminth parasite communities of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* from the Mexican Pacific. *Helminthologia*. 54(3): 240-249.
  30. Ebrahimzade Musavi, H., Soltani, M., Ghadam, M., Mobedi, I., Abdy, K., Taheri Mirghaed, A., Mirzargar, S., Shohre, P., Hoseini, H. and Bahonar, A., 2015. A study on prevalence of helminth infections in commercially valuable fish of the Persian Gulf, Iran. *Iranian Veterinary Journal*. 11(1): 5-14.
  31. Molina-Fernandez, D., Malagón, D., Gómez-Mateos, M., Benítez, R., Martín-Sánchez, J. and Adroher, F.J., 2015. Fishing area and fish size as risk factors of Anisakis infection in sardines (*Sardina pilchardus*) from Iberian waters, southwestern Europe. *International Journal of Food Microbiology*. 203: 27-34.
  32. Rasouli, S., 2015. Study of Anisakidae family nematodes in wild and cultured yellow-fin seabream (*Acanthopagrus latus*) in north coasts of Persian Gulf, Iran. *Journal of Comparative Pathobiology*. 5(47): 1437 p. (In Persian)
  33. Goffredo, E., Azzarito, L., Di Taranto, P., Mancini, M.E., Normanno, G., Didonna, A., Faleo, S., Occhiochiuso, G., D'Attoli, L., Pedarra, C. and Pinto, P., 2019. Prevalence of anisakid parasites in fish collected from Apulia region (Italy) and quantification of nematode larvae in flesh. *International journal of food microbiology*. 292: 159-170.
  34. Moravec, F., 2018. ML Sood: Fish nematodes from South Asia. *Helminthologia*. 55(4):1.
  35. Ebrahimzade Musavi, H., Soltani, M., Ghadam, M., Mobedi, I., Abdy, K., Taheri Mirghaed, A., Mirzargar, S., Shohre, P., Hoseini, H. and Bahonar, A., 2015. A study on prevalence of helminth infections in commercially valuable fish of the Persian Gulf, Iran. *Iranian Veterinary Journal*. 11(1): 5-14. (In Persian)
  36. Kong, Q., Fan, L., Zhang, J., Akao, N., Dong, K., Lou, D., Ding, J., Tong, Q., Zheng, B., Chen, R. and Ohta, N., 2015. Molecular identification of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in marine fishes from the East China Sea and the Pacific coast of central Japan. *International Journal of Food Microbiology*. 199: 1-7.
  37. Aguilar-Aguilar, R., Ruiz-Campos, G., Martorelli, S., Montes, M.M. and Martínez-Aquino, A., 2019. A New Species of *Ascarophis* (Nematoda: Cystidicolidae) Parasitizing *Clinocottus analis* (Pisces: Cottidae) From Baja California, Mexico. *Journal of Parasitology*. 105(4): 524-532.
  38. Shamsi, S. and Suthar, J., 2016. Occurrence of *Terranova* larval types (Nematoda: Anisakidae) in Australian marine fish with comments on their specific identities. *Peer J*. 4: e1722.
  13. Howard, I., Davis, E., Lippert, G., Quinn, T.P. and Wood, C.L., 2019. Abundance of an economically important nematode parasite increased in Puget Sound between 1930 and 2016: evidence from museum specimens confirms historical data. *Journal of Applied Ecology*. 56(1): 190-200.
  14. Rahmati Holasu, H., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Farazandeh Mehr, M., Ahmadpour, M., Mirdamadi, M.S. and Habibi, S.A., 2013. a review of zoonotic parasitic diseases transmitted from fish to humans, the second ichthyology conference. Iran, Karaj. (In Persian)
  15. Sudhagar, A., Kumar, G. and El-Matbouli, M., 2018. Transcriptome analysis based on RNA-Seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: a comprehensive review. *International journal of molecular sciences*. 19(1): 245.
  16. Manshadi, A.G., 2021. Morphological and molecular identification of zoonotic trematode metacercariae (*Haplorchis taitui*) in freshwater fish in Iran. *Veterinária e Zootecnia*. 28: 1-9.
  17. Asadi, T. and Gharzi, A., 2016. Histological and histochemical study of digestive tract in Zarde Fish, *Capoeta damascina*, in Sezar river, Lorestan Province. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*. 28(4): 389-398.
  18. El-Morshedi, N., Alzahrani, I., Kizilbash, N.A., Abdeen, A., El-Shebbly, A.A. and El-Berri, A., 2014. Effect of heavy metal pollutants on fish population in two Egyptian Lakes. *International journal of advanced research*. 2(1): 408-417.
  19. Peyghan, R., Hoghoghi Rad, N., Mesbah, M. and Rast Kerdar, M., 2006. Investigation of the abundance of helminth parasites in *Otolithes rubber*, *Parastromateus niger*, *Pomadasy s kaakan* and *Lutjanus malabaricus* in the Persian Gulf. *Iranian Veterinary Journal (Shahid Chamran University of Ahvaz)*. 10(1): 81-87. (In Persian)
  20. Anderson, R.C., Chabaud, A.G. and Willmott, S. eds., 2009. Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume. Cabi digital library. eISBN: 978-1-84593-858-1. 463 p.
  21. Yamaguti, S., 1961. *Systema Helminthum*. III. New York, New York, USA: Interscience Publishers Inc; The Nematodes of Vertebrates. Parts 1 and 2.
  22. Zhu, X., Gasser, R.B., Podolska, M. and Chilton, N.B., 1998. Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal of Parasitology*. 28(12): 1911-1921.
  23. Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A., 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 239(4839): 487-491.
  24. Raissy, M., 2017. Bacterial zoonotic disease from fish: a review. *Journal of Food Microbiology*. 4(2): 15-27. (In Persian)
  25. Sudhagar, A., Kumar, G. and El-Matbouli, M., 2018. Transcriptome analysis based on RNA-Seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: a comprehensive review. *International journal of molecular sciences*. 19(1): 245.
  26. Tu, X., Ling, F., Huang, A. and Wang, G., 2015. An infection of *Gyrodactylus kobayashii* Hukuda, 1940 (Monogenea) associated with the mortality of goldfish