بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم دامی و شیلات

گروه شیلات

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M.S.c) در رشته تکثیر و پرورش آبزیان

عنوان:

اثر عصاره آبی ریحان (*Ocimum basilicum*) روی رشد، تحریک سیستم ایمنی و ایجاد مقاومت نسبت به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

دانشجو:

آمنه ذوالفقاری

استاد راهنما:

دکتر فرید فیروزبخش

استاد مشاور:

مهندس زیبنده محرابی

« دی ماه 1391»

" سپاس فراوان خدایی را که همواره حامی و یاری گر ماست"

با عمیق‌ترین سپاسگزاری‌ها مایل هستم از تمامی کسانی که در مسیر زندگی من قرار گرفته و با حضورشان الهام بخش من شدند و ذهنم را روشنی بخشیدند تشکر کنم.

از پدر و مادر عزیزم که در تمام عرصه‌های زندگی ، یار و یاوری بی‌چشم‌داشت برای من بوده اند، از خواهران عزیزم که همواره امیدبخش من در زندگی بودند بسیار سپاسگزارم.

از استاد گرامیم جناب آقای دکتر فیروزبخش که در کمال سعه صدر، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند سپاسگذارم .

از سرکار خانم محرابی به دلیل یاری‌ها و راهنمایی‌های بی‌چشم‌داشت ایشان که بسیاری از سختی‌ها را برایم آسانتر نمودند کمال تشکر را دارم.

از اساتید فرزانه و دلسوز جناب آقای دکتر اورجی و خانم دکتر یگانه که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای دکتر رحمانی و مهندس خلیلی که در طول این پژوهش از راهنمایی و هم‌فکری شان بهره بردم، سپاسگزارم .

همچنین از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و مرکز رشد فناوری‌های طبرستان به جهت همکاری صمیمانه‌شان بسیار سپاسگزارم.

و در پایان ، از همکلاسی‌ها و هم خوابگاهی‌های عزیزم که فصلی از روزگار جوانی را با هم ورق زدیم تشکر می کنم.

تقدیم به یاران قدیمی...

بابا و مامان

چکیده:

اثر عصاره آبی ریحان روی رشد، تحریک سیستم ایمنی و ایجاد مقاومت نسبت به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان مورد پژوهش قرار گرفت. برای این منظور، ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی 0/6±12 گرم به مدت 48 روز با غذای حاوی عصاره آبی ریحان(0، 30، 60، 120و240 میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره غذادهی، میزان فاکتورهای رشد و فاکتورهای خونی مورد سنجش قرار گرفت. پس از دوره غذادهی، ماهیان با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا آلوده شده و درصد بقا و فاکتورهای خونی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج بدست آمده از سنجش فاکتور-های رشد نشان داد بین تیمارهای آزمایش از لحاظ میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$). سنجش فاکتورهای خونی در مدت 48 روز تغذیه نشان داد که بیشترین میزان گلبول قرمز، سفید و هموگلوبین در تیمار 120 و 240 میلی‌گرم نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($P<0.05$). میزان آلبومین در تیمار 120 میلی‌گرم بیشترین مقدار و میزان گلوبولین در این تیمار کمترین مقدار بود ($P<0.05$) درحالی‌که از لحاظ میزان پروتئین تام تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و تیمار شاهد، 60 و240 میلی‌گرم مشاهده نشد ($P>0.05$). میزانIgM در تیمارهای آزمایش تفاوتی را نشان نداد ($P>0.05$). میزان بازماندگی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره آبی ریحان بعد از آلوده‌سازی نشان داد که بیشترین میزان بقا در تیمار 120 میلی‌گرم عصاره آبی ریحان مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد بود ($P<0.05$). سنجش فاکتورهای خونی بعد از آلوده‌سازی نشان داد که میزان گلبول قرمز، سفید و هماتوکریت در تیمار 120 میلی‌گرم تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P<0.05$). از نظر میزان پروتئین تام و گلوبولین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایش مشاهده نشد($P>0.05$) درصورتی‌که میزان آلبومین در تیمار 30 میلی‌گرم عصاره آبی ریحان کمترین مقدار بود($P>0.05$). میزان IgM در تیمار 30 میلی‌گرم کمترین مقدار بوده و دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایش بود ($P<0.05$). از این‌رو به نظر می‌رسد عصاره آبی ریحان اگرچه روی رشد قزل آلای رنگین‌کمان اثری ندارد اما می تواند اثر تحریک‌کنندگی و افزایش بازماندگی نسبت به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا را در این ماهیان داشته باشد.

واژگان کلیدی: عصاره آبی ریحان، رشد، محرک ایمنی، قزل آلای رنگین‌کمان، ساپرولگنیا پارازیتیکا.

فهرست مطالب

1- فصل اول: مقدمه و کلیات

1-1- مقدمه 2

1-2- قارچ‌ها 4

1-2-1- طبقه بندی ساپرولگنیا 5

1-2-2- ساپرولگنیازیس ۷

1-2-2-1- چرخه زندگی ساپرولگنیا 8

1-2-2-2- همه گیری شناسی ۱۰

1-2-2-3- نشانه‌های بیماری ۱۱

1-2-2-4- پیشگیری و مدیریت بهداشتی ۱۱

1-2-2-5- درمان ۱۲

1-3- جایگاه سیستماتیک آزادماهیان ۱۲

1-3-1- معرفی گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۳

1-4- گیاه درمانی ۱٤

1-4-1- معرفی گیاه ریحان ۱٥

1-4-1-1- تاریخچه ریحان ۱٦

1-4-1-2- استفاده دارویی ریحان ۱۷

1-5- معرفی پارامترهای خونی ۱۷

1-5-1- گلبول قرمز خون ۱۸

1-5-2- گلبول سفید خون ۱۸

1-5-3- هموگلوبین ۱۸

1-5-4- هماتوکریت ۱۸

1-5-5- پروتئین تام ۱۹

1-5-6- آلبومین ۱۹

1-5-7- گلوبولین ۱۹

1-5-8- ایمونوگلوبولین نوع M ۱۹

2- فصل دوم: مروری بر منابع

3- فصل سوم: مواد و روش‌ها

3-1- تجهیزات و مواد مورد نیاز ۲۷

3-2- زمان و مکان اجزای طرح ۲۸

3-3- آماده سازی عصاره آبی ریحان ۲۸

3-4- آماده سازی آکواریوم‌ها ۲۹

3-5- اندازه گیری معیارهای کیفی آب ۲۹

3-6- تهیه بچه ماهی ۲۹

3-7- آماده سازی غذا ۳۰

3-7-1- تعیین مقدار غذای بچه ماهیان ۳۱

3-8- مرحله اول آزمایش ۳۱

3-8-1- زیست سنجی ۳۱

3-8-2- اندازه گیری معیارهای رشد ۳۱

3-8-3- اندازه گیری شاخص‌های خونی ۳۲

3-9- مرحله دوم آزمایش ۳٤

3-9-1- جداسازی، خالص سازی و شناسایی قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ۳٤

3-9-2- اسپورزایی و شمارش زئوسپور ۳٤

3-9-3- آلوده سازی ماهیان با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ۳٤

3-9-4- اندازه گیری شاخص‌های خونی ۳٦

3-11- تجزیه و تحلیل آماری ۳٦

4- فصل چهارم: نتایج

4-1- نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای رشد ۳۸

4-2- نتایج حاصل از سنجش فاکتورهای خونی در مدت 48 روز تغذیه با عصاره آبی ریحان ٤۱

4-2-1- بررسی فاکتورهای هماتولوژی ٤۲

4-2-2- سنجش پروتئین‌های سرمی ٤٣
4-2-3- سنجش فاکتورهای ایمنی ٤٤
4-3- نتایج بدست آمده بعد از آلوده سازی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ٤٥
4-3-1- بررسی میزان تلفات بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ٤٥
4-3-2- مشاهده بالینی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در گروه شاهد و گروههای تغذیه شده با عصاره آبی ریحان بعد از رویارویی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ٤٥
4-3-3- بررسی میزان بازماندگی ماهیان پس از رویارویی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ٤٧
4-4- نتایج حاصل از سنجش فاکتورهای خونی بعد از آلوده سازی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ٤٧
4-4-1- بررسی فاکتورهای هماتولوژی ٤٨
4-4-2- سنجش پروتئینهای سرمی ٤٩
4-4-3- بررسی فاکتورهای ایمنی ٥٠
4-5- مقایسه میزان تغییرات فاکتورهای خونی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره آبی ریحان، قبل و بعد از آلوده سازی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا ٥١

5- فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

5-1- بحث ٥٥
5-1-1- اثر عصاره آبی ریحان بر فاکتورهای رشد ٥٥
5-1-2- اثر عصاره آبی ریحان بر فاکتورهای هماتولوژی ٥٦
5-1-3- اثر عصاره آبی ریحان بر پروتئینهای سرمی ٥٩
5-1-4- اثر عصاره آبی ریحان بر فاکتورهای ایمنی ٦٠
5-1-5- اثر عصاره آبی ریحان بر میزان بازماندگی ماهیان بعد از آلوده سازی ٦٠
5-2- نتیجه گیری نهایی ٦٢
5-3- پیشنهادات ٦٣

منابع ٦٤

فهرست اشکال

شکل1-1- رشد قارچ ساپرولگنیا بر روی تخم و بدن ماهیان.....8

شکل1-2- چرخه زندگی ساپرولگنیا پارازیتیکا 9

شکل 3-1- نمایی از سالن آکواریوم طی دوره آزمایش 28

شکل4-1- مقایسه وزن اولیه و نهایی ماهیان در تیمارهای آزمایش 38

شکل 4-2- مقایسه میزان افزایش وزن بدن در تیمارهای آزمایش.....39

شکل 4-3- درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای آزمایش 39

شکل 4-4- میزان نرخ رشد ویژه در تیمارهای آزمایش 40

شکل 4-5- میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایش 41

شکل4-6- مشاهده رشته‌های قارچ بر روی فلس ماهی در زیر میکروسکوپ 46

شکل 4-7- نمونه ای از بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آلوده شده با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا 46

شکل 4-8- میزان بازماندگی بر حسب درصد پس از رویارویی ماهیان با قارچ 47

فهرست جداول

جدول 1-1- گروه‌های با اهمیت قارچ‌ها 6

جدول 3-1- آنالیز تقریبی غذای پایه مورد استفاده 30

جدول 4-1- شاخص‌های هماتولوژی در گروه‌های تیماری تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی ریحان در مدت 48 روز 41

جدول 4-2- پروتئین‌های سرمی در گروه‌های تیماری تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی ریحان در مدت 48 روز ... 43

جدول 4-3- شاخص‌های ایمنی در گروه‌های تیماری تغذیه شده با عصاره آبی ریحان در مدت 48 روز 44

جدول 4-4- بررسی روند بیماری‌زایی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی ریحان پس از اعمال استرس (موکوس برداری) و رویارویی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا 45

جدول 4-5- شاخص‌های هماتولوژی در گروه‌های تیماری تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی ریحان بعد از آلوده سازی 48

جدول 4-6- مقایسه پروتئین‌های سرمی در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی ریحان بعد از آلوده سازی . 49

جدول 4-7- شاخص‌های ایمنی در گروه‌های تیماری تغذیه شده با عصاره آبی ریحان بعد از آلوده سازی 50

جدول 4-8- مقایسه میزان تغییرات شاخص‌های هماتولوژی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره آبی ریحان قبل و بعد از آلوده سازی با قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا 51

جدول 4-9- مقایسه میزان تغییرات پروتئین‌های سرمی در تیمارهای مورد بررسی، قبل و بعد از آلوده سازی با ساپرولگنیا پارازیتیکا 52

جدول 4-10- مقایسه میزان تغییرات IGMدر تیمارهای مورد بررسی، قبل و بعد از آلوده سازی با ساپرولگنیا پارازیتیکا ... 53

فصل اول

« مقدمه و کلیات»

1-1. مقدمه

توسعه آبزی‌پروری در جهان امروز در تامین غذای بشر و اقتصاد کشورهای مختلف نقش بسیار مهمی دارد. یکی از شرایط اصلی تولید آبزیان پرورشی، حفظ بهداشت و جلوگیری از بروز بیماری‌ها در بین آنهاست. در اماکن پرورش ماهی و سایر آبزیان، به واسطه انبوهی جمعیت و شرایط کم و بیش مصنوعی محیط، بروز بیماری‌ها و سرعت انتشار آنها بیشتر است. بیماری‌ها و عوارض مختلف آنها نه تنها سبب تلفات و کاهش چشمگیر تولید می شوند، بلکه خوردن گوشت و فراورده‌های آبزیان بیمار برای انسان خالی از خطر نمی‌باشد. تحقیقات نشان داده که ساپرولگنیوز یکی از مساله‌دارترین آلودگی-های قارچی در مزارع پرورش آزادماهیان و استخرهای آب شیرین است (بیک و همکاران[1]، 1994).

عدم مراقبت‌های بهداشتی، افزایش تراکم، افزایش مواد آلی، باقی‌مانده غذا و سایر آلودگی‌های محیطی از عوامل بروز بیماری و تلفات چشمگیر در آبزیان پرورشی محسوب می شوند. مصرف بی رویه دارو و مواد شیمیایی علاوه بر ایجاد مقاومت در میکروارگانیسم‌ها سبب نفوذ این مواد سمی به خاک و آب شده و محیط زیست مجاور مزارع پرورش آبزیان را به شدت آلوده می نماید. تثبیت داروها و مواد شیمیایی در بافتهای ماهی و آبزیان، بهداشت انسانی را نیز به لحاظ ایجاد حساسیت‌های مختلف، مقاومت باکتریایی و عوارض کلیوی و کبدی به مخاطره می‌اندازد.

بهبود کارایی سیستم ایمنی ماهی یکی از روش‌های مهم پیشگیری از بیماری‌ها و تحریک رشد می-باشد. از میان محرک‌های ایمنی، اخیرا انواع طبیعی به ویژه عصاره‌های گیاهی به علت ایجاد آسیب کمتر به ماهی و محیط زیست بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (علیشاهی و همکاران، 1391).

گیاه درمانی مثل استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان دارو برای انسان صدها سال است که مورد استفاده قرار گرفته است. گیاهان و ترکیبات آن‌ها دارای خواص متفاوتی مثل خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و محرک ایمنی هستند. گیاهان دارویی باوجود تأثیر کند، اثر بسیار پایدارتری در مقایسه با سایر داروها دارند. همچنین بدلیل اینکه در چرخه‌های سنتز بیوشیمیائی وارد می‌شوند دارای یکسری ترکیبات همراه هستند که در بسیاری از موارد اثر هم‌افزایشی[2] با هم داشته و اثرات یکدیگر را افزایش می‌دهند. این گیاهان به علت دارا بودن مواد مؤثره گوناگون می‌توانند در درمان بسیاری از بیماریها کاربرد داشته بدون آنکه مجموعه مواد مؤثره آنها با هم تداخل عمل داشته باشد. همچنین این مواد

[1] . Beakes et al., 1994
[2] . Synergist effect

مؤثره به دلیل ترکیبات همراه از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردارند و به همین دلیل در بدن انباشته نشده و اثرات جانبی بر جا نمی‌گذارند (سیتاراسو و همکاران[1]، 2006).

علاوه‌براین، از آنجائی که ورود مواد اولیه داروهای شیمیایی از خارج از کشور صورت می‌گیرد و از این لحاظ مبالغ بسیار عظیمی ارز از کشور خارج می‌گردد و از طرفی دیگر، گیاهان دارویی فراوانی در کشور موجود بوده و براحتی قابل دستیابی است و صنعت تهیه داروی آن نیز در داخل کشور موجود است؛ روی آوردن به این امر کمک فراوانی در بهبود وضعیت اقتصاد کشور خواهد داشت و حتی می‌تواند یکی از صادرات کشور تلقی‌گردد.

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و این‌که در مورد اثر ریحان بر تغذیه در ماهی مطالعه ای صورت نگرفته است، در این پژوهش اثر عصاره آبی ریحان به منظور بررسی رشد، تحریک سیستم ایمنی و ایجاد مقاومت نسبت به قارچ ساپرولگنیا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد پژوهش قرار گرفت.

[1] . Citarasu et al., 2006

2-1. قارچ‌ها

واژه مایکولوژی[1] یا مطالعه قارچ‌ها به عنوان یکی از شاخه‌های گیاه شناسی[2] مطرح است. قارچ‌ها در یک دوره زمانی به عنوان اعضای سلسله گیاهان قلمداد می شدند و ساختمان، چرخه زندگی و نحوه پراکندگی آن‌ها توجه بسیاری از دانشمندان، به ویژه گیاه شناسان را به خود معطوف ساخته بود. با این حال، قارچ‌های ریزبینی[3] جزو میکروارگانیسم‌ها[4] محسوب می‌شوند (شمس قهفرخی و همکاران، 1384).

کلونی قارچ‌های ذره بینی ماهیتا از نوع میکروسکوپی بوده و چنین ارگانیسم‌هایی را تنها می توان با استفاده از روش‌های میکروب شناسی و تهیه کشت خالص[5] از آنها به طور دقیق مورد بررسی قرار داد. روش‌های مورد نیاز برای تهیه و حفظ کشت‌های خالص به وسیله محققی به نام رابرت کخ[6] در اواخر قرن نوزدهم در طی مطالعه باکتری‌های بیماری زا ابداع گردید و به سرعت به منظور حفظ کشت‌های خالص قارچ‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفت. تغذیه قارچ‌ها نظیر باکتری‌ها از نوع هتروتروفیک[7] و جذبی می‌باشد و در بسیاری از موارد، قارچ‌های ذره بینی و مخمرها، ارتباط تنگاتنگی با باکتری‌ها دارند و با آنها رقابت می کنند. تشابهات بسیاری میان باکتری‌ها و قارچ‌ها، به ویژه در جریان تکنیک‌های بررسی و نیز شرایط فیزیولوژی و اکولوژی به نحوی است که مایکولوژی را می توان به عنوان شاخه‌ای از علم میکروبیولوژی قلمداد کرد. به همین دلیل، اکثر تحقیقات جاری در رابطه با قارچ‌ها توسط متخصصان میکروبیولوژی صورت می گیرد (شمس قهفرخی و همکاران، 1384).

چرخه متابولیسمی قارچ‌ها بسیار متنوع و تغییرپذیر است و به همین دلیل در صنعت تخمیر[8] برای تولید آنتی بیوتیک‌ها و سایر ترکیبات حایز اهمیت نظیر آنزیم‌ها، در پزشکی، کشاورزی و صنعت، مورد بررسی قرار گرفته اند. یافته‌های اخیر در زمینه ی تکنولوژی DNA نوترکیب، منجر به استفاده از قارچ‌ها در تولید هورمون‌ها و واکسن‌ها شده است. در مجموع، قارچ‌ها از جنبه‌های مختلف از اهمیت

[1] . Mycology
[2] . Botany
[3] . Microfungi
[4] . Microorganisms
[5] . Pure culture
[6] .Robert Koch
[7] . Heterotrophic
[8] . Fermentation industry

قابل توجهی برخوردارند و توجه محققان مختلف را به خود معطوف ساخته اند (شمس قهفرخی و همکاران، 1384).

1-2-1. طبقه بندی ساپرولگنیا

در حال حاضر، قارچ‌هایی که به وسیله قارچ شناسان بررسی می شوند شامل ارگانیسم‌هایی هستند که در سه سلسله کرومیستا[1]، پروتوزوا[2] و قارچ‌ها[3] قرار می گیرند (جدول1). سلسله قارچ‌ها منحصرا شامل گونه‌هایی است که مولد ریسه[4] بوده و یا مستقیما با اشکال رشته‌ای یا ریسه‌ای در ارتباط می باشند. قارچ‌ها در سراسر چرخه زندگی خود واجد دیواره کیتینی می باشند و تغذیه ی آنها منحصرا از نوع جذبی است. ارگانیسم‌های متعلق به سلسله کرومیستا آبزی بوده و عمدتا قادر به تنفس می‌باشند. اوومیسیت‌ها یا قارچ‌های رشته‌ای آبزی[5]، گروهی از قارچ‌ها هستند که با توجه به ویژگی‌های بیوشیمیایی، ساختمانی و ژنتیکی، در شاخه اومایکوتا[6] و سلسله کرومیستا، قرار می‌گیرند. این قارچ‌ها از از نوع میکروسکوپی بوده و گونه‌های متعددی را شامل می‌شوند که برای حیوانات بیماری‌زا می‌باشند. اوومیسیت‌ها دارای اسپورهای متحرک هستند که به وسیله دو تاژک خود شنا می کنند. راسته‌های مهم موجود در گروه اوومیسیت‌ها شامل ساپرولگنیال، پیتیال، لپتومتیال، لاگنیدیال و پرونوسپورال می‌باشند (شمس قهفرخی و همکاران، 1384).

بیماری کپک آب[7] غالبا تحت عنوان بیماری قارچی آبزیان تعریف می‌شود. این اصطلاح شرایطی را که قارچ‌هایی نظیر ساپرولگنیا[8]، آچلیا[9] و افانومیسیس[10] بر روی پوست، تخم و سایر اعضای ماهی ایجاد ایجاد می‌کند توصیف می‌نماید بطور کلی، اامیست‌ها در سه راسته اصلی به نام‌های ساپرولگنیال، لپتومیتال و لاگنیدیال طبقه بندی شده‌اند(شوزو[11]، 1991).

[1] . Chromista
[2] . Protozoa
[3] . Fungi
[4] . Hypha
[5] . Oomycete
[6] . Oomycota
[7].Water mold disease
[8] . *Saprolegnia*
[9] . *Achlya*
[10] . *Aphanomyces*
[11] . Shuzo, 1991

جدول 1-1- گروه‌های با اهمیت قارچ‌ها (شمس قهفرخی و همکاران، 1384)

سلسله	گروه	ویژگی‌های اصلی
پروتوزوا	1- قارچ‌های لزج سلولی اشکال آمیبی تجمع یافته و یک جسم زایشی را ایجاد می‌کنند مثال: دیکتیواستلیوم[1] 2- قارچ‌های لزج پلاسمودیال (میکزومیست) فاز آمیبی به وسیله یک فاز پلاسمودیال چند هسته ای تکمیل می‌گردد. مثال: فیساروم[2]	ارگانیسم در فاز تغذیه و رشد[3] فاقد دیواره سلولی است و قادر به بلع مواد غذایی جامد می‌باشد.
کرومیستا	3- اوومیسیت‌ها زئوسپورهای دو تاژکی و اسپورهای جنسی تحت عنوان ااسپور حضور دارند و دیواره سلولی واجد سلولز می‌باشد. مثال: ساپرولگنیا[4]	ارگانیسم در فاز تغذیه و رشد دارای دیواره سلولی است و تغذیه جذبی دارد. بسیاری از گونه‌ها زئوسپور تولید می کنند.
قارچ‌ها	4- کیتریدیومیست‌ها زئوسپورهای تک تاژکی حضور دارند. دیواره سلولی حاوی کیتین میباشد. مثال: آلومایسس[5] 5- زایگومیست‌ها اسپورهای جنسی تحت عنوان زایگوسپور تولید می‌شود. مثال: موکور[6] 6- آسکومیست‌ها اسپورهای جنسی، آسکوسپور نامیده می شود. مثال: پایرونما[7] 7- بازیدیومیست‌ها اسپورهای جنسی، بازیدیوسپور نامیده می‌شوند. مثال: آگاریکوس[8] 8- قارچ‌های میتوسپوریک (فاقد تولیدمثل جنسی) مثال: پنی سیلیوم[9]	ارگانیسم در فاز تغذیه و رشد دارای دیواره سلولی است و تغذیه جذبی دارد. زئوسپور تولید نمی‌کند.

[1] . *Dictyostelium*
[2] . *Physarum*
[3] . *Trophic phase*
[4] . *Saprolegnia*
[5] . *Allomyces*
[6] . *Mucor*
[7] . *Pyronema*
[8] . *Agaricus*
[9] . *Penicillium*

2-2-1. ساپرولگنیازیس[1]

برونو و وود[2] در سال 1999 رده بندی تاکسونومی ساپرولگنیا را به شکل زیر بیان کردند:

شاخه: Protoctista

دسته : Omycota

راسته : Heterokonta

رده : Oomycotea

Order: Saprolegniales

خانواده : Saprolegniaceae

جنس : *Saprolegnia*

جنس ساپرولگنیا یکی از مهم‌ترین جنس‌های اوومیسیتی بیماری‌زا در آبزیان محسوب می‌شود که دارای گونه‌های متنوع می‌باشد. ساپرولگنیا در همه اکوسیستم‌های آب شیرین وجود دارد و جنس عمده آبی –گیاهی آن، بر روی تخم و خود ماهیان آب شیرین اثرگذار است. به هر حال، هر ماهی آب شیرین حداقل در معرض یک گونه از قارچ در طول دوره زندگی اش (بخصوص از مرحله تخم به اسمولت) قرار می‌گیرد. اثرگذاری بر روی ماهی توسط ساپرولگنیا، ساپرولگنیازیس نامیده می‌شود. ساپرولگنیازیس یک بیماری قارچی ماهیان و تخم‌های آن است که مربوط به خانواده ساپرولگنیاسه می-باشد (میر[3]، 2005). بیشتر گونه‌های این خانواده بر روی اعضای مرده جانوری رشد و نمو می‌کنند. حتی گونه‌هایی که مسبب بیماری در ماهی‌ها هستند پوده زی و انگل‌های اختیاری هستند. مهم‌ترین گونه‌های عامل بیماری در ماهی‌ها شامل موارد زیر هستند (شوزو، 1991؛ پست[4]، 1991).

Saprolegnia parasitica

Saprolegnia mixta

Saprolegnia monica

Saprolegnia ferax

Saprolegnia diclina

[1] . Saprolegniasis
[2] . Bruno and Wood, 1999
[3] . Meyer, 2005
[4] . Post, 1991

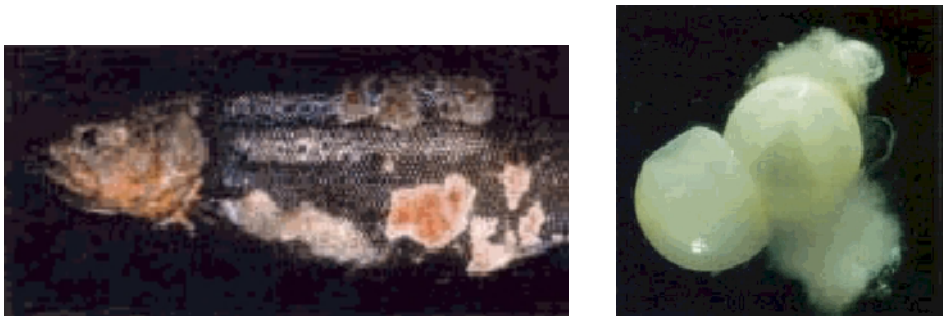
Achyla hoferi

Dictyuchys sp.

1-2-2-1. چرخه زندگی ساپرولگنیا

این قارچ‌ها شامل رشته‌های منشعب، نازک و دراز به عرض 20 میکرون هستند که به کمک آن، قارچ داخل بافت میزبان می شود. علاوه بر این، رشته‌های ضخیم‌تری وجود دارند که دارای انشعابات کمتری است و در داخل آب غوطه‌ور می‌باشد (شکل 1-1) (آذری تاکامی، 1385).

رشته‌های قارچ به وسیله پرده‌ای محدود شده که از پروتوپلاسم و هسته‌های بی شماری تشکیل یافته است قسمت‌های انتهایی این رشته‌ها تعریض شده و تشکیل " هاگدان‌هایی[1]" را می‌دهد که به وسیله حایلی از رشته‌های اصلی جدا شده است. در داخل این هاگدان‌ها تعداد زیادی هاگ قرار دارد که پس از بارور شدن در روی آب پراکنده می شود. هر یک از زئوسپورها دارای دو تاژک می باشند که نقل و انتقال آنها را در آب تسهیل می‌کند (آذری تاکامی، 1385).

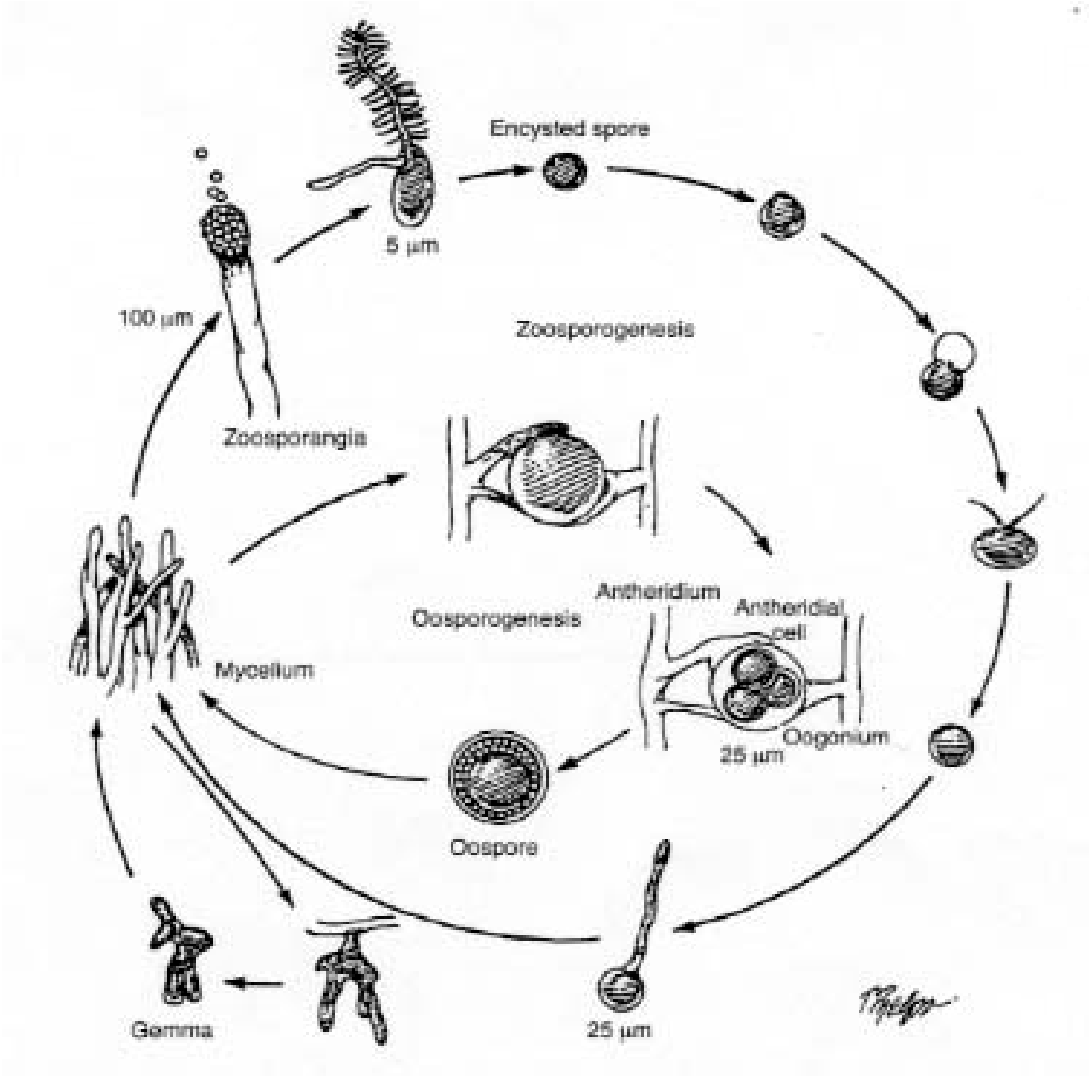


شکل1-1- رشد قارچ ساپرولگنیا بر روی تخم و بدن ماهیان

ساپرولگنیا چرخه پیچیده‌ای دارد که شامل 2 مرحله تولیدمثل جنسی و غیرجنسی است. در تولیدمثل جنسی antheridium و Oogonium gametangia ایجاد می شود که برای باروری با هم ترکیب می‌شوند. اسپور غیرجنسی ساپرولگنیا، زئوسپور ابتدایی تولید می‌کند. زئوسپور ابتدایی تنها برای چند دقیقه فعال است. زئوسپور ثانویه برای مدت زمان بیشتری نسبت به زئوسپور اولیه متحرک است و پراکندگی اصلی ساپرولگنیا را سبب می‌شود. زئوسپور ثانویه، اسپور اثرگذار ساپرولگنیا را تولید می‌کند (شکل 1-2)(میر، 2005).

[1] . Sporangia

مهم‌ترین گونه بیماری‌زای ساپرولگنیا، *S. parasitica* است که طویل و دارای موهای چنگک مانند است. سایر گونه‌های ساپرولگنیا این توانایی را دارند تا تحت موقعیت‌های زیست محیطی متفاوت و سطوح مختلف غذایی جوانه بزنند. بعضی گونه‌های ساپرولگنیای جداسازی شده این توانایی را دارند که تنها در آب رشد کنند و روی فاضلاب ناشی از هچری‌ها حضور یابند. *S. parasitica* می‌تواند در این محیط جوانه بزند و در محیط کشت سرشار از مواد مغذی مثل موکوس ماهی رشد کند. شناسایی گونه‌های مختلف ساپرولگنیا مشکل است و تنها بوسیله آزمایشات تاکسونومی ساختارهای جنسی امکان پذیر است (میر، 2005).



شکل1-2- چرخه زندگی *Saprolegnia parasitica*

1-2-2-2. همه گیری شناسی

ظاهرا علت‌های اولیه خاصی برای بروز بیماری ساپرولگنیا در بین ماهیان وجود ندارد. نامناسب بودن تغذیه در بین ماهیان پرورشی به عنوان علت اولیه و تداوم ساپرولگنیازیس محسوب می‌شود. حضور مواد سمی در غذا و آب یا صدمه بر روی پوست، باله‌ها، آبشش‌ها بر اثر انگل‌های خارجی ممکن است سبب بروز آلودگی ثانویه ساپرولگنیازیس شود. زخم‌های فیزیکی، یکی از عوامل اصلی چیرگی ساپرولگنیا می شود. استرس‌های فیزیکی نظیر کاهش درجه حرارت، افزایش یا کاهش pH یا بالارفتن شوری ممکن است به عنوان سایر عوامل بروز آلودگی‌های ثانویه قارچی تلقی گردد (آذری تاکامی، 1385).

ساپرولگنیازیس به عنوان آلودگی ثانویه سایر بیماری‌ها نظیر پوسیدگی باله، بیماری ساقه دمی، بیماری زخم، کورک‌های باز ناشی از بیماری فرونکلوزیس و سایر بیماری‌های باکتریایی نیز بروز کرده و بالاخره ساپرولگنیازیس در موارد بیماری آبششی باکتریایی یا محیطی نیز ممکن است مشاهده شود (آذری تاکامی، 1385).

ویلوقبای در سال 1989 بیان کرد که ماهی 3 عامل دفاعی در مقابل ساپرولگنیا دارد: اول، حذف فیزیکی اسپورهای چسبیده توسط موکوس تجدید شونده، دوم مورفوژن در موکوس رشد میسلیوم را محدود می‌کند اما آن را نمی‌کشد و سوم واکنش سلولی در موکوس مستقیما روی رشد میسلیوم اثر گذار است. بعلاوه، موکوس همانند سد فیزیکی ابتدایی عمل می‌کند. به هر حال به طور 100% و کامل نمی‌تواند حذف اسپور قارچ را داشته باشد. از این رو، وجود یک اپیدرم دست نخورده در ماهی شاید بهترین دفاع در مقابل ساپرولگنیا باشد (ویلوقبای[1]، 1989).

زئوسپورها بر روی جلد آسیب دیده ماهیان حساس مستقر می‌شوند و شروع به تولید رشته‌های قارچی می‌نمایند که ابتدا در سطح بافت‌های آسیب دیده نفوذ کرده و سپس قسمت‌های سالم بافت‌ها را محصور می‌کند. قارچ بیماری‌زا تولید آنزیم‌های هضمی کرده که با تخریب بافت‌های محصور شده سبب توسعه قارچ و مرگ سلول‌ها می‌گردد. رشته‌های قارچی ممکن است در سطح آبشش‌ها نیز توسعه یافته و سبب مرگ میزبان گردد. ماهیان مرده در آب به منزله یک محیط کشت بارور برای رشد قارچ‌ها و تولید هاگ‌های آن محسوب می شود که سبب بروز همه‌گیری وسیعی در بین سایر ماهیان کم صدمه دیده نیز می‌گردد (آذری تاکامی، 1385).

[1] . Willoughby, 1989