

التأثيرات المرضية النسيجية لأسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* تحت الإصابة المختبرية بالفطر *Saprolegnia* sp.

نادرة كاظم السالم، ونجم رجب خميس، وخالدة سالم النعيم

قسم الأسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، بصرة، العراق

Kalidah_salim@yahoo.com

المستخلص. درست التأثيرات المرضية النسيجية الحاصلة في خياشيم وكبد أسماك الكارب الاعتيادي والمصابة مختبرياً بالفطر *Saprolegnia* sp. استخدمت ٢٠٠ سمكة من الإناث فقط من مزرعة أسماك جامعة البصرة للفترة الممتدة من نوفمبر ٢٠٠٥م إلى فبراير ٢٠٠٦م. ظهرت تغيرات مرضية عيانية واضحة في الأسماك التي تعرضت للإصابة بالفطر بعد ١٨ يوماً من بدء إجراء الإصابة المختبرية، وازدادت شدتها حتى نهاية التجربة (٢٥ يوماً)، لوحظ على الأسماك قرح جلدية، واحمرار المنطقة المجاورة بسبب النزف، كما لوحظ فقدان الأسماك المصابة للشهية، وحركة سباحة غير عادية، تمثلت بعدم الاستقرار، والحركة السريعة للغطاء الخيشومي، فضلاً عن فقدان التوازن، وصعوبة التنفس بعد ٢٥ يوماً من التعرض للإصابة. أظهرت الخياشيم المصابة بالفطر تغيرات نسيجية مرضية زادت حدتها مع زيادة مدة التعرض

للإصابة. فقد لوحظ بعد ١٨ يوماً فرط التنسج Hyperplasia بالطلائية التنفسية وخلايا الكلوريد، واحتقان الأوعية الدموية مع وجود نخر في الصفائح الخيشومية الثانوية. فيما يخص الأسماك المصابة بعد مرور ٢٥ يوماً، فقد لوحظ فرط التنسج والاندماج في الصفائح الخيشومية، والتتكس والنخر مع النزف الشديد، واحتقان الأوعية الدموية، مما أدى إلى فقدان الشكل النظامي للصفائح الخيشومية الثانوية وتضخمها (Hypertrophy). ظهرت على البرنشيمة الكبدية للأسماك المصابة تغيرات مرضية بعد الإصابة، تمثلت التغيرات بعد مرور ١٨ يوماً بحالات تفكك بصفائح الخلايا، وتحلل البعض منها، وتحطم بالجيوب الدموية الكبدية، وتجمع للخلايا الالتهابية واحتقان الأوعية الدموية. أما التغيرات بعد ٢٥ يوماً فقد أظهرت حالات تنكس ونخر نسيجي للعديد من الخلايا الكبدية، مسبباً فقدان الشكل السوي للبرنشيمة الكبدية.

المقدمة

كثيراً ما تصاب الأسماك وبيوضها في أحواض التربية وفي المفاصق بأمراض فطرية (Fungal diseases) بسبب رداءة نوعية المياه، والجروح الناتجة في أجسامها، خلال تداولها ونقلها، وظروف الازدحام، أو التغيرات الفجائية في درجات الحرارة (Eakaphun *et al.*, 2003). إن المسبب الرئيس لتلك الأمراض الفطرية هو انتشار أفراد الرتبة (Saprolegniales) في المياه العذبة. تعود هذه الفطريات إلى شعبة الفطريات البيضية (Oomycetes) وهي مترممة على البقايا النباتية والحيوانية، والقليل منها يعيش في المياه المالحة، وتسمى أعفان الماء (Water molds) (Lategan and Gibson, 2003). من أهم الأنواع الشائعة من الفطريات التي تتطفل على الأسماك وبيوضها هو النوع

Saprolegnia parasitica ويعرف بعفن السمك (Fish mold)، وهو يسبب مرض Saprolegniasis الذي يسبب خسائر كبيرة.

تبدأ إصابة الأسماك بفطريات الجنس *Saprolegnia* بالأنسجة الظهارية في الرأس أو الزعانف، ثم تنتشر على الجسم، وتظهر بشكل تجمعات خيطية ذات لون أبيض لتتلون باللون الرمادي نتيجة وجود البكتيريا والذبال. ويمكن تمييز أفراد الجنس *Saprolegnia* من خلال المظهر الخارجي الشبيه بالقطن، إذ تتشكل خيوطه الفطرية (Mycelium) بهيئة دوائر أو بشكل هلالى أو أحياناً بأشكال مختلفة، وبواسطة هذه الخيوط يستطيع الفطر التوغل داخل الوسط الذي يعيش فيه ومن ضمنها أنسجة الأسماك (Kent Mayer, 2000). كما يهاجم هذا الفطر البيوض في المفاص الاصطناعية، إذ تنمو هذه الفطريات في البداية على البيوض الميتة، ثم تنتقل الإصابة إلى البيوض الحية التي تصبح مصدراً للإصابة، وعندما تغطي خيوط الفطر البيوض الحية فإنها تمنع وصول الأوكسجين، وبهذا تهلك البيوض المخصبة (Paxton and Willoughby, 2000). تتكاثر هذه الفطريات بواسطة إنتاجها لآلاف من الأبواغ في الماء، وهي مقاومة إلى حد كبير للجفاف والهجوم الكيميائي، وأبواغ الفطر شائعة في كل البحيرات والبرك، وتنتقل هذه الأبواغ في أحواض التربية بواسطة الأسماك الغريبة، والبيوض، وتجهيزات المياه، والأجهزة المستخدمة (Kent Mayer, 2006).

من المعلوم أن إصابة الأسماك بالفطريات ولاسيما الفطريات العائدة لعائلة Saprolegniaceae لا تخلو من أضرار نسيجية (Hussein et al., 2001) بأنواع الجنس *Saprolegnia*، ومن الأضرار التي سجلت في أعضاء الأسماك المصابة هي تغيرات في عدد الخلايا المخاطية (Mucous cells) وتغير في سمك الأنسجة الظهارية للجلد ونزف (Hemorrhage) وتقرح (Ulceration) بسبب

اختراق الخيوط الفطرية Hyphae للأنسجة العضلية (Canales *et al.*,) (Durborow *et al.*, 2003 2001). أما عن التغيرات النسيجية الحاصلة في الأمعاء، فهي حدوث فقدان للطبقة المخاطية (Fregeneda Grandes *et al.*,) (2001). وفي بعض الحالات يهاجم الفطر التجويف الأنفي Nasal cavity وتلاحظ زيادة في عدد الخلايا الظهارية فيه وزيادة في عدد الخلايا المخاطية، وفي الحالات الشديدة تنفجر الخلايا المخاطية وتصبح متخرقة (Necrotic Hussein and Hatai, 2002). نظراً لقلّة المعلومات التي تناولت التغيرات المرضية التي يسببها انتشار فطريات الجنس *Saprolegnia* على الأسماك، فقد برز هدف الدراسة الحالية، وهو دراسة التأثيرات المرضية النسيجية لأسماك الكارب الاعتيادي المصابة مخبرياً بهذا الفطر.

الأدوات وطرائق العمل

استخدمت ٢٠٠ سمكة كارب اعتيادي من الإناث فقط لغرض الدراسة المخبرية للفترة الممتدة من نوفمبر ٢٠٠٥م إلى فبراير ٢٠٠٦م وبمعدل طول كلي قدره $15,6 \pm 2,3$ سم ومعدل وزن كلي قدره $42,6 \pm 4,2$ غم من مزرعة أسماك جامعة البصرة.

وضعت الأسماك في أحواض زجاجية بأبعاد $60 \times 30 \times 40$ سم ودرجة حرارة مياه تتراوح بين $18-20^{\circ}$ م مهواة باستخدام مضخات هواء، قسمت الأسماك على ٢٠ حوضاً، وبواقع ١٠ أسماك في كل حوض، وكان عدد أحواض الأسماك المراد استحداث الإصابة فيها ١٢ حوضاً، وعدد أحواض أسماك السيطرة (Control) كانت ثمانية أحواض. تركت كلتا المجموعتين لتتأقلم لمدة سبعة أيام. تم عزل الفطر *Saprolegnia sp.* من الآفات الجلدية لأسماك الكارب الاعتيادي المستزرعة في مزرعة أسماك جامعة البصرة. استزرع

الفطر على وسط البطاطا والدكستروز مع أجار (Potato Dextrose Agar (PDA) (الدليمي، ١٩٧٩م)، بأخذ مسحة من الآفات الجلدية لأسماك الكارب الاعتيادي بواسطة ناقل حلقي معقم ثم نشرت على سطح الوسط الزراعي المحضر. حضنت الأطباق في الحاضنة (Incubator) نوع Callenkamp لمدة ٥-٧ أيام وبدرجة حرارة ٢٥ م° و حضرالعالق البوغي باتباع الطريقة الموضحة في (McGinnis, 1980).

تم استحداث حالة الإصابة بالفطر في أسماك الكارب الاعتيادي في كانون الأول ٢٠٠٦م حسب الطريقة الموضحة في (Fregeneda Grandes et al., 2001) كالآتي:

تم إيقاف التغذية للأسماك المؤقلمة قبل ثلاثة أيام من بدء التجربة المختبرية، ثم أجهدت الأسماك لزيادة حساسيتها للإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. بإحداث خدوش جلدية Cutaneous scars على الأسماك بعد تخديرها بواسطة MS-222 (Metacaine methanesulphonate) (٥٠ مل/لتر) باستخدام إبرة معقمة. أخذ ٢ مل من العالق الجرثومي المحضر بواسطة ماصة حجمية معقمة ونشر في أحواض الأسماك، وتركت الأسماك حتى نهاية التجربة (٢٥ يوماً) مع إجراء الفحوصات النسيجية للأسماك بعد ١٨ و ٢٥ يوماً من إجراء الإصابة المختبرية.

قدمت للأسماك عليقة غذائية تجارية، مع استبدال نصف حجم ماء الحوض كل ثلاثة أيام ابتداءً من اليوم الرابع لزمّن الإصابة لتترك الأسماك بتماس مع أبواغ الفطر، وتم رفع فضلات الأسماك وبقايا الطعام باستخدام سيفون يوميّاً. عزلت أنسجة الخياشيم والكبد من أسماك الكارب الاعتيادي لغرض دراسة التأثيرات المرضية النسيجية للفطر *Saprolegnia* sp.، وحضرت المقاطع النسيجية باتباع طريقة شمع البارافين (Humason, 1972) بعد ١٨ و ٢٥ يوماً من التعرض للإصابة المختبرية بالفطر وكذلك من أسماك السيطرة واستخدم المجهر

الضوئي نوع Altay لفحص المقاطع النسيجية وصورت باستخدام آلة تصوير مثبتة على كومبيوتر Acer 300.

النتائج

التغيرات المظهرية

ظهرت تغيرات مرضية عيانية واضحة في أسماك الكارب الإعتيادي التي تعرضت للإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. بعد ١٨ يوماً من زمن إجراء الإصابة المختبرية وازدادت شدتها حتى نهاية التجربة (٢٥ يوماً)، إذ لوحظت على الأسماك قرح جلدية (Cutaneous ulcers) واحمرار المنطقة المجاورة بسبب النزف (Haemorrhage)، في حين لوحظ نمو قطني (Cottony growth) نتيجة لتجمع الخيوط الفطرية (Hyphae) للفطر *Saprolegnia* sp.، ويبدو هذا النمو بشكل منطقة بيضاء اللون مائلة إلى اللون الرمادي على الزعانف والجلد والخياشيم، وهي أكثر ظهوراً على الزعانف. كما لوحظ فقدان الأسماك المصابة للشهية وحركة سباحة غير عادية تمثلت بعدم الاستقرار، والحركة السريعة للخياشيم، ومحاولة الصعود نحو سطح الماء، فضلاً عن فقدان التوازن وصعوبة التنفس بعد ٢٥ يوماً من التعرض للإصابة.

أظهرت خياشيم وكبد أسماك الكارب الاعتيادي المصابة بالفطر تغيرات نسيجية تباينت الشدة فيها بحسب الأيام المستخدمة للإصابة.

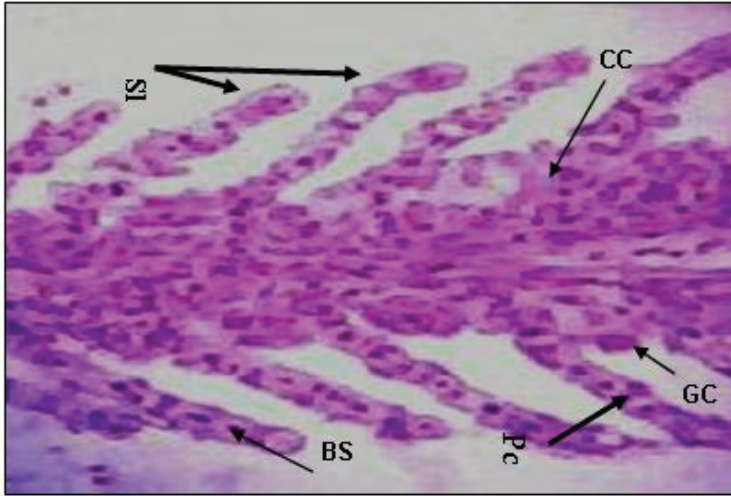
التغيرات النسيجية المرضية في الخياشيم

أوضح الفحص النسيجي لخياشيم المجموعة الضابطة أن الخياشيم السوية تتكون من صفائح أو خيوط أولية (Primray gill lamellae) تنشأ منها صفائح ثانوية (Secondary gill lamellae)، تقع بصورة عمودية على الحواف العليا

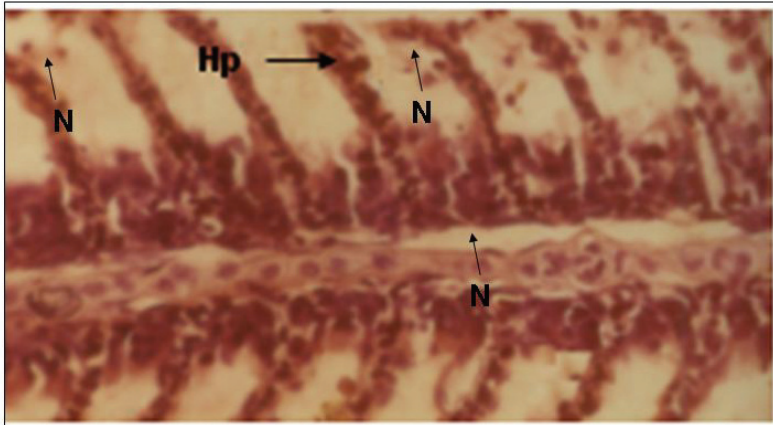
والسفلى لكل صفيحة أولية، تكون مغطاة بنسيج ظهاري مكوّن من طبقتين من الخلايا المفصولة عن بعضها بواسطة خلايا داعمة Pillar cell (شكل ١). أظهرت الخياشيم المصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. بعد ١٨ و ٢٥ يوماً على الإصابة تغيرات نسيجية. فقد لوحظ بعد ١٨ يوماً فرط التنسج Hyperplasia في الصفائح الخيشومية الثانوية (شكل ٢) واحتقان الأوعية الدموية (Congestion) مع وجود نخر في الصفائح الخيشومية الثانوية. أما بالنسبة للأسماك المصابة بعد ٢٥ يوماً فقد لوحظت زيادة في شدة التأثيرات المرضية النسيجية، حيث لوحظ فرط التنسج والاندماج (Fusion) في بعض الصفائح الخيشومية وتكس خلايا هذه الصفائح مع النزف الشديد واحتقان الأوعية الدموية، فضلاً عن فقدان الشكل النظامي للصفائح الخيشومية الثانوية والنخر في الطبقة الظهارية لهذه الصفائح (شكل ٣)، فضلاً عن حالة التضخم (Hypertrophy) في الصفائح الخيشومية الثانوية مع وجود الخيوط الفطرية بين طبقاتها (شكل ٤).

التغيرات النسيجية المرضية في الكبد

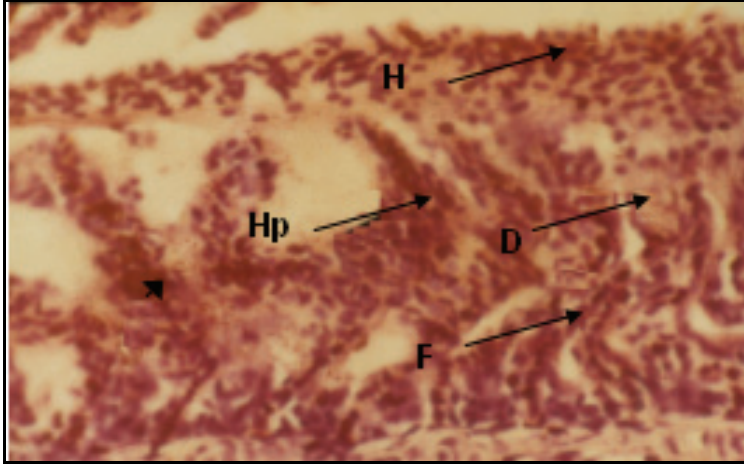
يتألف نسيج الكبد الطبيعي في الأسماك من الخلايا الكبدية المرتبة على شكل حبال متطاولة أو شعاعية تتخللها الجيبانيات الكبدية Sinusoids والأوعية الدموية الشعرية الكبدية (Hepatic capillaries) (شكل ٥)، وتنتشر القنيات الصفراوية (Bile ductile) والأوعية الدموية بالبرنشيمة الكبدية وتحاط بالكولاجين. ظهرت على أكباد الأسماك المصابة بتغيرات مرضية بعد الإصابة، فقد تمثلت التغيرات بعد ١٨ يوماً بتفكك الخلايا الكبدية، وتحطم البعض منها، وتجمع للخلايا الالتهابية (Inflammatory cells) واحتقان الأوعية الدموية (شكل ٦). أما التغيرات بعد ٢٥ يوماً فقد أظهرت حالات التنكس (Degeneration)، والنخر النسيجي للعديد من الخلايا الكبدية مسبباً فقدان الشكل السوي للخلايا، فضلاً عن انعدام قدرة التمييز بين حدود هذه الخلايا (شكل ٧).



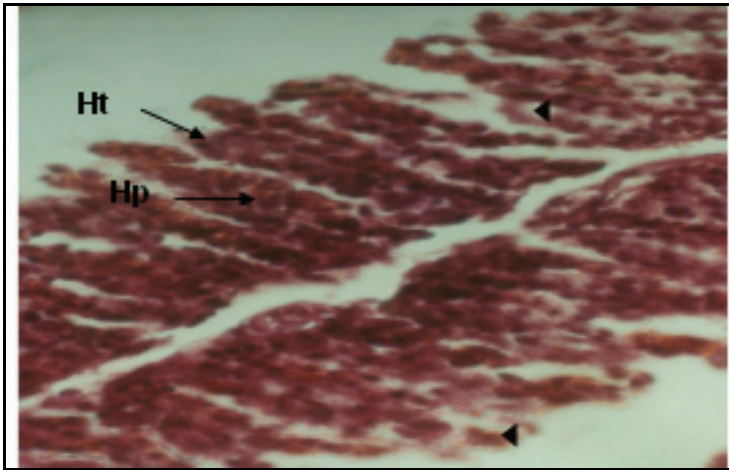
شكل ١. مقطع طولي في خياشيم سمكة كارب اعتيادي تلاحظ فيها الصفائح الخيشومية الثانوية (SI) والخلايا الداعمة (PC) وخلايا الكلورايد (CC) وخلايا الكوبلت (GC) والجيوب الدموية (BS) (صبغة H&E، X٤٠٠).



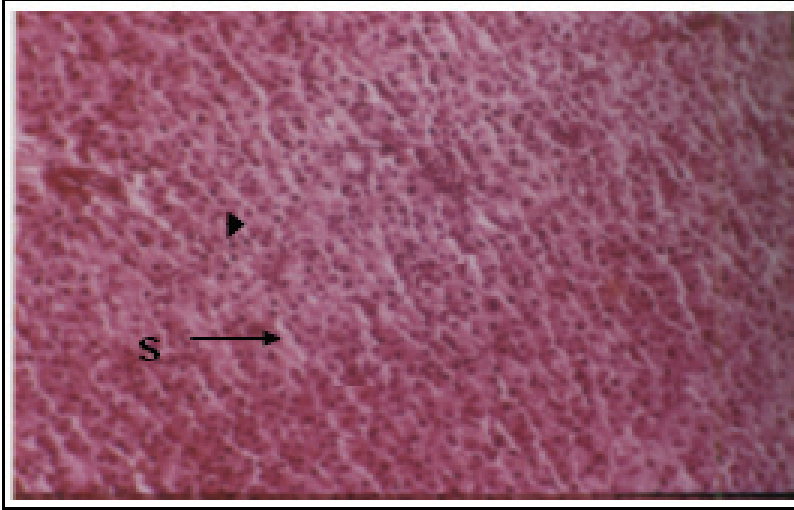
شكل ٢. مقطع في خياشيم سمكة كارب اعتيادي بعد ١٨ يوماً على الإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. يلاحظ حصول فرط التنسج (Hp) والنخر (N) بين الصفائح الخيشومية (X٤٠٠، صبغة H&E).



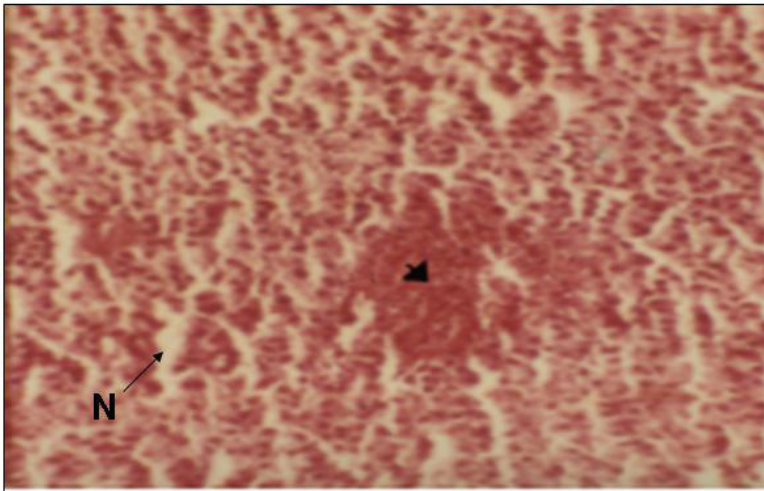
شكل ٣. مقطع في خياشيم سمكة كارب اعتيادي بعد ٢٥ يوماً على الإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. يلاحظ فرط التنسج (Hp) واندماج الصفائح الخيشومية المتجاورة (F) وتتكس خلايا هذه الصفائح (D) مع النزف الشديد (H) واحتقان الجيوب الدموية (◀) (X٤٠٠، صبغة H&E).



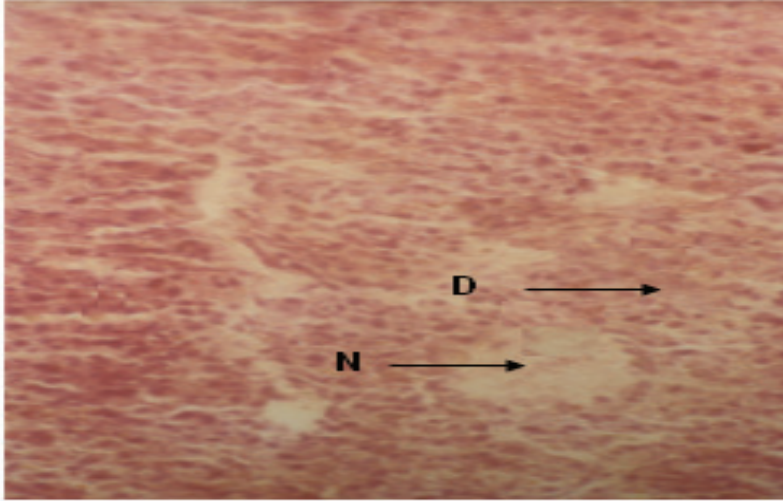
شكل ٤. مقطع في خياشيم سمكة كارب اعتيادي بعد ٢٥ يوماً على الإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. يلاحظ فرط التنسج الحاد (Hp)، والتضخم (Ht)، مع وجود الخيوط الفطرية بين طبقات الصفائح الخيشومية (◀) (X٤٠٠، صبغة H&E).



شكل ٥. مقطع عرضي في الكبد لسمكة كارب اعتيادي، يلاحظ حبال الخلايا الكبدية (▼)، والجيبانبات الدموية (S) (X٢٠٠، صبغة H&E).



شكل ٦. مقطع في كبد سمكة كارب اعتيادي بعد ١٨ يوماً على الإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp.، يلاحظ احتقان الأوعية الدموية (►) مع وجود النخر النسيجي (N)، وتفكك الخلايا الكبدية (X٤٠٠ صبغة H&E).



شكل ٧. مقطع في كبد سمكة كارب اعتيادي بعد ٢٥ يوماً على الإصابة بالفطر *Saprolegnia* sp.، يلاحظ التنكس الخلوي (D)، مع وجود النخر النسيجي (N) (X٢٠٠، صبغة H&E).

المناقشة

كشفت الدراسة الحالية عن تغيرات مظهرية في أسماك الكارب الاعتيادي المعرضة للإصابة المخترية بالفطر *Saprolegnia* sp. خلال مدتي التجربة. تمثلت في ظهور التقرحات الجلدية وتحطم (destruction) الأنسجة الظهارية والنواتج ربما الأنزيمات الهاضمة التي يفرزها الفطر ليتمكن من الحصول على متطلباته الغذائية. ذُكر أن ظهور التقرحات الجلدية ناتج عن النشاط الأيضي الذي تمارسه هذه الفطريات على الأنسجة، بافراز الأنزيمات اللازمة لتحليلها (Anonymous, 2000b و Torto-Alalibo و Fregeneda Grandes *et al.*, 2000، و Fregeneda *et al.*, 2005 و Anderson *et al.*, 2006). أما فريجنندا وآخرون (Fregeneda *et al.*, 2001) فقد وجدوا أن إحصار المناطق المجاورة للتقرحات الجلدية كان بسبب تمزق الأوعية الدموية بواسطة الخيوط الفطرية التي تنفذ داخل الأنسجة.

بينت الدراسة الحالية أن الإصابة بالفطر كانت أكثر حصولاً على الزعانف مقارنة مع باقي أجزاء سطح الجسم، وهذا يرتبط بنقص أعداد الخلايا الكأسية (Goblet cells) على الزعانف (Braun *et al.*, 1990) ونقص إنتاج المخاط (mucus) بزيادة فترة التعرض بالفطر الملاحظ في الدراسة الحالية، ويتوافق مع النظرية القائلة أن طبقة المخاط في الأسماك عبارة عن حاجز كيميائي فعال (Fregeneda Grandes *et al.*, 2000).

لوحظت تغيرات سلوكية في أسماك الكارب الاعتيادي المصابة بالفطر خلال تجارب الدراسة الحالية، تمثلت بعدم الاستقرار والحركة السريعة للغطاء الخياشيمي ومحاولة الصعود نحو سطح الماء فضلاً عن فقدان التوازن وصعوبة التنفس بعد ٢٥ يوماً من التعرض للإصابة. يمكن أن تعزى الاضطرابات الحركية في أسماك الكارب الاعتيادي المصابة إلى التلف الخيشومي الملاحظ نسيجياً والذي يؤثر سلباً في كفاءة أخذ الأوكسجين الذائب في الماء وهذا مشابه لما أكدته كل من فريجندا وآخرون، وديربرو وآخرون (Fregeneda Grandes *et al.*, 2001 و Durborow *et al.*, 2003) في أسماك السالمون المرقط *Salmo trutta* و تيرني وفاريل (Tierney & Farrell, 2004) في أسماك السالمون الأحمر *Oncorhynchus nerka* المصابة بفطريات الجنس *Saprolegnia* بأن حصول التغيرات السلوكية في الأسماك المعرضة للإصابة بالفطر هي نتيجة لتأثيرات هذا الفطر في نسيج الخياشيم مسبباً بذلك اختلالاً في وظائف خلاياها التنفسية، وجعلها غير قادرة على الاستفادة من الأوكسجين.

أظهرت المقاطع النسيجية في خياشيم وكبد أسماك الكارب الاعتيادي المصابة بالفطر تغيرات مرضية متنوعة أثناء التجربة. ويمكن أن تعزى التغيرات النسيجية في الخياشيم إلى النشاط الأنزيمي للفطر أثناء تغذيته على الأنسجة، فضلاً عن الضرر الميكانيكي الناتج عن اختراق الخيوط الفطرية داخل الأنسجة.

لقد أكد فريجنندا وآخرون (Fregeneda Grandes *et al.* 2001) أن ظهور الأضرار النسيجية في خياشيم الأسماك المصابة كان بسبب التأثير الإنزيمي للفطروتوغل خيوط الفطر بين الخيوط الخيشومية كما هو موضح سابقاً، والاستجابة المناعية (Immunological response) كرد فعل متوقع من الأسماك، فالنخر والنزف الحاصلين في العديد من الخلايا الظهارية المُبطنة للصفائح الخيشومية الثانوية (وكما وضحته نتائج الدراسة الحالية) ناتج عن النشاط الأنزيمي للفطر وتوغل الخيوط الفطرية بين هذه الخلايا التي تؤدي إلى اضطراب التنظيم الأزموزي والأبوني في الخياشيم (Hussein and Hatai, 2001) Kent Mayer, 2006 and). إن هذا الاضطراب سيسبب انتشار الماء من المحيط الخارجي إلى داخل الخلايا الظهارية للصفائح الخيشومية الثانوية، ويؤدي إلى انتفاخ في بعض هذه الخلايا وتحطمها (Wilson *et al.*, 2000).

إن عدم انتظام الصفائح الخيشومية الثانوية واحتقان الأوعية الدموية الذي يمثل في العادة أول مراحل الالتهاب يعود إلى الضرر الميكانيكي للفطر لظهارية هذه الصفائح أثناء اختراق الخيوط الفطرية مؤدياً بالنتيجة إلى عرقلة التبادل الأيوني، وهذا مشابه لما أشار إليه حسين وحاتي (Hussein and Hatai, 2002)، من فشل التنظيم الأزموزي للأسماك المصابة بأنواع الجنس *Saprolegnia*. تمثل رد الفعل المناعي في الخياشيم بأعراض فرط التنسج (Hyperplasia) والتضخم (Hypertrophy) الحاصلين في الظهارية واندماج Fusion خيوطها الثانوية المتجاورة، فهي وسيلة حماية لتقليل المواقع الواهنة في الخياشيم. أحد أسباب الأضرار النسيجية عند الإصابة بأنواع الجنس *Saprolegnia* ناتج عن الاستجابة المناعية للأسماك (Bullis *et al.*, (1990) وHowe and Stehly, (1998) و (Andrew and Phillips (2006).

إن فقدان الترتيب الشعاعي للخلايا الكبدية ووجود الخلايا الالتهابية (cells) (Inflammatory Hepatical) هي علامة بدء الالتهابات حول الجيبانيات الكبدية (sinusoids) والمناطق البابية بسبب مهاجمة هايفات الفطر *Saprolegnia sp.* للهيكل الخلوي (Cytoskeleton) للكبد مسبباً طمس معالم الخلايا (Torto-Alalibo) (et al., 2005). أما أعراض التنكس والتخر في الخلايا الكبدية فهي ناتجة من الاحتقان congestion في بعض الأوعية الدموية بسبب اختراق الخيوط الفطرية (Alvarez et al., 1995). إن الاحتقان الناتج عن ركود الدم يؤدي إلى عدم وصول الأوكسجين والمواد المغذية إلى الخلايا وبذلك يحدث التنكس والنخر (السلطان ومحمود، ١٩٩٩). ذكر حسين وحاتي (Hussein and Hatai 2002) بأن المرض الفطري (Saprolegniasis) إذا لم يعالج سيؤدي إلى الموت نتيجة لتخفيف الدم وفشل التنظيم الأزموزي. يعتمد وقت الموت بصورة رئيسة على موقع الإصابة الأولية، ونوع الأنسجة المحطمة وأهميتها، ومعدل نمو الفطر، وقابلية السمكة على مقاومة الفطر. كما أشار الباحثون أعلاه إلى عدم وجود دليل على أن الإصابة بهذا الفطر يصاحبها تكوين سموم بالرغم من الالتهابات الخفيفة في الأنسجة.

المراجع

أولاً: المراجع العربية

الدليمي، خلف صوفي (١٩٧٩) مايكروبيولوجيا الأغذية، مطبعة دار الجاحظ للطباعة والنشر، بغداد: ٢٤٠ صفحة.

السلطان، عماد إبراهيم ومحمود، حافظ إبراهيم (١٩٩٩) علم أمراض الحيوانات، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل: ٢٥٩ صفحة.

ثانيًا: المراجع الأجنبية

- Alvarez, F., Villena, A., Zapata, A. and Razquin, B.** (1995) Histopathology of the thymus in *Saprolegnia* infected wild brown trout, *Salmo trutta* L., *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **18**: 181-193.
- Anderson, V., Ssecombes, C. J. and Van West, P.** (2006) Developing a vaccine against the fish pathogen *Saprolegnia parasitica* in salmonids. <http://pmgn.vbi.vt.edu>.
- Andrew, J. and Phillips, A. J.** (2006) Molecular studies of the *Saprolegnia*-fish interaction, <http://pmgn.vbi.vt.edu>.
- Anonymous** (2000b) Fish fungus–*Saprolegnia*. <http://www.Fishdoc.co.uk>.
- Braun, R., Amesen, J. A. and Hjelmeland, K.** (1990), Immunohistological localization of trypsin in mucus-secreting cell layers of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., *J. Fish Dis.*, **13**: 233-238.
- Bullis, R. A., Noga, E. J and Levy, M. G.** (1990) Immunological relationship of the fish pathogenic oomycete *Saprolegnia parasitica* to other oomycetes and unrelated fish. *J. Aquat. Anim. Health.*, **2**: 223-227.
- Canales, M. L. G., Ortiz, J. B., Valle, M. G. and Sarasquete, C.** (2001) Saprolegniasis in wild fish populations. *Cienc. Mar.*, **27**: 125-137.
- Durborow, R. M., Wise, D. J. and Terhune, J. S.** (2003) Saprolegniasis (winter fungus) and branchiomycosis of commercially cultured channel catfish. <http://www.msstate.edu/dept/srac>.
- Eakaphun, B., Paivi, P. V., Henry, K. and Lage, C.** (2003) Prevalence of a single fish-pathogenic *Saprolegnia* sp. clone in Finland and Sweden, *Dis. Aquat. Org.*, **53**: 47-53.
- Fregeneda Grandes, J. M., Fernandez Diez, M. and Aller Gancedo, J. M.** (2000) Ultrastructural analysis of *Saprolegnia* secondary zoospore cyst ornamentation from infected wild trout, *Salmo trutta* L., and river water indicated two distinct morphotypes amongst long-spined isolates, *J. Fish Dis.*, **23**: 147-160.
- Fregeneda Grandes, J. M., Fernandez Diez, M. and Aller Gancedo, J. M.** (2001) Experimental pathogenicity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), of two distinct morphotypes of long-spined *Saprolegnia* isolates obtained from wild brown trout, *Salmo trutta* L., and river water, *J. Fish Dis.*, **24**: 351-359.
- Howe, G. E. and Stehly, G. R.** (1998) Experimental infection of rainbow trout with *Saprolegnia parasitica*. *J. Aquat. Anim. Health*, **10**: 397-404.
- Humason, G. L.** (1972), *Animal Tissue Techniques*, 3rd ed., W. H. Freeman Co., an Francesco: 661 pp.
- Hussein, M. M. A. and Hatai, K.** (2001) *In vitro* inhibition of *Saprolegnia* by bacteria isolated from lesions of salmonids with saprolegniasis, *Fish Pathol.*, **36**: 73-78.
- Hussein, M. M. A. and Hatai, K.,** (2002) Pathogenicity of *Saprolegnia* species associated with outbreaks of salmonid saprolegniasis in Japan, *Fish. Sci.*, **68**: 1067-1072.
- Hussein, M. M. A., Hatai, K. and Nomura, T.** (2002) Saprolegniasis in salmonids and their eggs in Japan, *J. Wildl. Dis.*, **37**: 204-207.
- Johnson, J. R., Seymour, R. L. and Padgett, D. E.** (2002) Biology and systematics of the Saprolegniaceae. <http://www.ilumina-dlib.org>.
- Kent Mayer, R.** (2000) *Saprolegnia*: There's fungus among us. <http://www.hmse.oregonstate.edu>.
- Kent Mayer, R.** (2006) *Saprolegnia*: There's fungus among us. <http://www.tnfish.org/diseases/saprolegnia>.
- Lategan, M. J. and Gibson, L. F.** (2003) Antagonistic activity of *Aeromonas media* strain A199 against *Saprolegnia* sp., an opportunistic pathogen of the Eel, *Anguilla australis* Richardson, *J. Fish Dis.*, **26**: 147-153.

- McGinnis, M. R.** (1980) *Laboratory Hand Book of Medical Mycology*, New York Acad. Press, 66 pp.
- Paxton, C. G. and Willoughby, L. G.** (2000) Resistance of perch eggs to attack by aquatic fungi, *J. Fish Biol.*, **57**: 562-570.
- Tierney, K. B. and Farrell, A. P.** (2004) The relationships between fish health, metabolic rate, swimming performance and recovery in return run sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, *J. Fish Dis.*, **27**: 663-671.
- Torto-Alalibo, T., Tian, M., Gajendran, K., Mark, E. W, West, P. V. and Kamoun, S.** (2005) Expressed sequence tags from the oomycete fish pathogen *Saprolegnia parasitica* reveal putative virulence factors, <http://www.biomedcentral.com>.
- Wilson, J. M., Laurent, P., Tufts, B. L., Benos, D. J., Donwitz, M., Wayne Vogl, A. and Randall, D. J.** (2000) NaCl uptake by the branchial epithelium in freshwater teleost fish: An immunological approach to ion-transport in protein localization, *J. Exp. Biol.*, **203**(5): 2279-2296.

Histopathological Effects in the Common Carp *Cyprinus carpio* Experimentally Infected with *Saprolegnia* sp.

Nadirah K. Al-Salim, Najim R. Khamees and Khalidah S. Al-Niaeem

*Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture,
University of Basrah, Basrah, Iraq*

Khalidah_salim@yahoo.com

Abstract. Histopathological effects in gills and liver of the common carp *Cyprinus carpio* were studied after a period of 18 and 25 days of artificial exposure to the fungus *Saprolegnia* sp. A total of 200 female fish samples were involved in the laboratory experiments during the period from November 2005 till February 2006. Fish samples were obtained from fish ponds of Basrah University. Cutaneous ulcers were observed on fish skin with hemorrhage. The infected fishes suffered from loss appetite, abnormal swimming, loss of balance and an increased opercula breathing rate with the mouth wide opened after 25 days of infection. Histopathological changes in the infected gills were hyperplasia of respiratory epithelium and chloride cell and vascular congestion with damage in the secondary gill lamella (18 days of infection). After 25 days of infection sever histopathological effects were noticed, *i.e.* hyperplasia, hypertrophy, fusion of gill lamella, total degeneration of other lamellae, sever hemorrhage and vascular congestion, this lead to loss of the normal shape of gill lamellae. Pathogenic changes in the liver of infected fishes were dissociation of hepatic cards, damage of sinusoids and cellular and vascular congestion (after 18 days of infection). The pathological changes in fish liver after 25 days of infection were focal necroses of many liver cells resulting in complete loss of normal cell shape, and disruption of hepatic architect.