

اثر عصاره‌های متانلی، آبی و هیدروالکلی طاووسی و بادرنجبویه بر قارچ آلوده کننده ماهی‌ها (ساپروولگنیا) در مقایسه با اثر آنتی بیوتیک

ساناز گگونانی^۱، راضیه تقوی زاد^{۱*}

۱- گروه زیست شناسی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۴

چکیده

آلودگی به قارچ ساپروولگنیا در ماهی‌های خوراکی و زینتی از مشکلات متداول استخرهای پرورش ماهی و آکواریوم‌هاست و ضررهای اقتصادی به همراه دارد. عصاره‌های آبی، متانلی و هیدروالکلی از گیاهان طاووسی و بادرنجبویه به روش ماسراسیون و به کمک روتاری تهیه شد. چهار غلظت ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره‌ها به کار گرفته شد. قارچ از باله دم ماهی‌های آلوده، جداسازی و در محیط کشت ساپورو دکستروز آگار کشت داده شد. برای تأثیر عصاره‌ها از روش چاهک استفاده شد. از نرم افزار GraphPad Prism و آزمون‌های واریانس و توکی استفاده شد. در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر، عصاره آبی بادرنجبویه با میانگین هاله عدم رشد 17.73 ± 1.1 mm قرار داشت و عصاره متانلی اثر مهارکنندگی رشد را داشته، در مرتبه بعدی عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه با هاله عدم رشد 2.12 ± 15.4 mm داشت. آنتی بیوتیک نیستاتین هیچ هاله عدم رشدی نداد، بنابراین به کارگیری عصاره‌های طاووسی میانگین هاله عدم رشد 2.12 ± 15.4 mm داشت. آنتی بیوتیک نیستاتین هیچ هاله عدم رشدی نداد، بنابراین به کارگیری عصاره‌های گیاهی می‌تواند جایگزین خوبی به جای آنتی بیوتیک و مالا شیت گرین باشد. به خصوص استفاده از عصاره آبی بادرنجبویه توصیه می‌شود چون بیشترین تأثیر را داشته و برای سلامتی ماهی و انسان مفید است.

کلمات کلیدی: آبی، بادرنجبویه، ساپروولگنیا، طاووسی، ماهی.

مقدمه

ساپرولگنیا از رده اوومیست‌ها، راسته ساپرولگنیال‌ها، خانواده ساپرولگنیاسه است (Bruno and Wood, 1994). ساپرولگنیاهای قارچ‌هایی آبی با هایفه‌هایی منشعب، شاخه شاخه، بدون دیواره عرضی با هسته‌های دیپلوئید هستند و تنها، اندام‌های تولید مثلی آنان از دیگر قسمت‌های هایفه بوسیله دیواره عرضی جدا می‌شوند. آن‌ها در دیواره خود مانند سایر اوومیست‌ها بجای کیتین دارای سلولز هستند و تولید مثل به دو صورت غیر جنسی (با تولید زئوسپوراژیوم و اسپورهای متحرک) و جنسی (با تولید اووگونیوم، آنتریدی و تخم) در آن‌ها دیده می‌شود (چلییان و مجد، ۱۳۸۰).

ساپرولگنیاهای قارچ‌هایی هستند که در اکوسیستم‌های آب شیرین در سرتاسر دنیا وجود دارند. «ساپرولگنیازیس» نوعی بیماری قارچی در ماهی‌ها و تخم‌های آنان است که عامل آن از قارچ‌های خانواده ساپرولگنیاسه است (Noga, 1996). برخی از گونه‌های آن ممکن است در آب‌های شور مزه تا مصیبه (محللی که آب شور و شیرین رودخانه به هم می‌رسند و مخلوط می‌گردند) یافت شوند البته باید در نظر داشت که شوری بالای ۲/۸ قسمت در هزار انتشار این قارچ‌ها را محدود می‌کند (مخیر، ۱۳۸۲). با توجه به اینکه هاگ این قارچ‌ها توسط پرندگان، موی حیوانات، آب و ... می‌توانند منتقل گردند. بنابراین احتمال حضور قارچ در اکوسیستم‌های آب شیرین مانند مزارع پرورشی، آکواریوم و ... چندان دور از انتظار نیست (Noga, 1996) به همین دلیل ساپرولگنیا جزء گسترده‌ترین عوامل قارچی و بیماری‌زایی ماهیان آب شیرین و تخم آن‌ها می‌باشد (نوروزی و همکاران، ۱۳۸۱). دستکاری ژنتیکی ماهی، تغییر درجه حرارت، وجود آلودگی

انگلی و افزایش بار مواد آلی امکان ابتلا با ساپرولگنیازیس را بیشتر می‌کند (Bruno and Wood, 1994). ناگفته نماند که وجود این قارچ در حد معقول به فساد و تجزیه جانورانی که در آب می‌میرند کمک می‌کند و سبب نظم جریان چرخه مواد در آب‌ها می‌شود.

طاووسی *Spartium junceum L.*، درختچه‌ای به ارتفاع ۱-۳ متر از تیره نخود و از گیاهان زینتی است که معمولاً در اردیبهشت ماه دارای گل‌های فراوان و معطر می‌گردد. برگ‌های بسیار کوچک و اندک دارد. با وجودی که مخصوص نواحی مدیترانه‌ای است ولی سازگاری خوبی با نقاطی مانند تهران و کرج یافته است. معمولاً در باغ‌های گیاه‌شناسی، پارک‌ها و گاهی حیات منازل دیده می‌شود (مظفریان، ۱۳۹۲). طاووسی با داشتن گل آذین خوشه‌ای و پرگل استفاده از گل‌های این گیاه برای عصاره‌گیری مقرون به صرفه تمام می‌شود.

از طاووسی به عنوان ضد تومور، ضد میکروب، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان، ضد درد و آرامش‌بخش یاد شده است (Cerchiara et al., 2013). Baxter و همکاران (۱۹۹۸) یک فیتوآلکسین به نام sparticarpin از گیاه طاووسی جدا کرده‌اند. این مواد معمولاً ترکیبات باز دارنده‌ای هستند که دارای طیف تاثیر وسیع بوده و از نظر ساختمانی نیز دارای تنوع زیادی می‌باشند و به منظور کنترل آفات و کاهش خسارت محصولات کشاورزی استفاده شده‌اند.

گیاه بادرنجبویه یا ملیس *Melissa officinalis L.* از تیره نعناست و پراکندگی وسیعی در ایران دارد چه به صورت دست کاشت و چه به صورت خودرو خصوصاً در شمال و سایر مناطقی که رطوبتش تأمین شود می‌-

عامل تأثیرگذار در عصاره‌ها و اسانس‌ها را مواد آلی یا فرار معرفی می‌کنند ولی ما در این بررسی به یک ماده معدنی تأثیرگذار نیز پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

قارچ ساپروولگنیا *Saprolegnia sp.* از روی ماهی آلوده به این قارچ جداسازی شد. شناسایی و خالص‌سازی توسط مشاهدات دقیق میکروسکوپی انجام شد و برای تکثیر به محیط‌های کشت منتقل شد. گیاهان بادرنجبویه *Melissa officinalis L.* و طاووسی *Spartium junceum L.* از منطقه محمدشهر کرج شناسایی و جمع‌آوری گردید. اندام‌های هوایی بادرنجبویه و گل‌های طاووسی به طور جداگانه پس از خشک شدن در سایه، پودر شده برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) انجام شد و از سه نوع حلال در عصاره‌گیری استفاده شد:

الف- روش تهیه عصاره آبی

از روش (Azwanida (2015) با کمی تغییر استفاده شد. ۱۰ گرم گیاه پودر شده، به میزان ۱/۵ برابر آب افزوده شد و ۴۸ ساعت روی شیکر قرار داده شد. سپس از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد و در دستگاه روتاری به مدت ۳ ساعت قرار داده شد. عصاره غلیظی حاصل شد که در دسیکاتور کاملاً خشک گردید و تا زمان اثردهی در یخچال نگهداری شد.

ب- روش تهیه عصاره متانولی

از روش (Azwanida (2015) با کمی تغییر استفاده شد. ۱۰ گرم گیاه پودر شده، به نسبت ۱:۱۰ متانول افزوده

روید. کل بخش هوایی گیاه معمولاً کاربرد دارد (نظریان و عمویی، ۱۳۹۴).

Abdel-Naime و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند، عصاره خام بادرنجبویه و اجزای مشتق شده از عصاره خام آن فعالیت ضد قارچی قابل توجهی در برابر *Candida albicans* و دو گونه دیگر از این جنس نشان داده است. ساعتچی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی‌های خود گزارش نمودند که عصاره الکلی بادرنجبویه و سنبل‌الطیب فعالیت ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی زیادی را نشان داده و می‌توانند به عنوان منابع طبیعی نگهدارنده در صنعت غذا و دارو استفاده گردند. فیروزبخش و همکاران (۱۳۸۴) اثر ضد قارچی عصاره‌های گیاهان گزنه و ریحان را بر ساپروولگنیا مثبت ارزیابی کردند. پذیرا (۱۳۹۶) فعالیت ضد قارچی آویشن بر ساپروولگنیا را مستلزم به کارگیری غلظت‌های بیشتری از اسانس آن نسبت به قارچ آسپرژیلوس دانست.

ساپروولگنیا علاوه بر استخرها و آکواریوم‌ها گاه در رودخانه‌ها هم گریبانگیر ماهی‌ها می‌شود. در برخی موارد صاحبان استخرها از موادی مانند مالاشیت گرین برای نابودی این قارچ استفاده می‌کنند ولی این ماده برای سلامتی انسان مضر است. در سال ۱۹۹۱، اداره غذا و دارو در آمریکا (FDA) پس از مشخص شدن اثرات مضر مالاشیت گرین نظیر سرطان‌زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی و تجزیه‌کنند آن در طبیعت، استفاده از این دارو را ممنوع اعلام کرد (Pottinger and Day, 1999). از این رو بر آن شدیم تا از اثرات آنتاگونیستی عصاره گیاهان برای نابودی این قارچ استفاده کنیم و در نهایت آن را با آنتی بیوتیک نیستاتین مقایسه نمودیم. از دیگر نکات مثبت این تحقیق این است که در اکثر بررسی‌ها

به میزان ۳۹ گرم بر لیتر از محیط کشت تهیه و با حرارت شفاف شد، سپس اتوکلاو شد. هدف از استفاده این محیط کشت، اختصاصی بودن این محیط برای سوش‌های قارچی می‌باشد. کشت در این محیط کشت به طور چهار مرحله‌ای و متراکم انجام شد. سوسپانسیون از کلنی‌ها تهیه شد و با نیم مک فارلند مقایسه شد تا کدورتی مشابه داشته باشند. آنگاه به محیط کشت بعدی منتقل شد.

ج- کشت در محیط کشت مولر هینتون آگار

محیط کشت مولر هینتون آگار از نوع مرک آلمان مورد استفاده قرار گرفت. از روش Golus و همکاران (۲۰۱۶) با کمی تغییر استفاده شد. مقدار ۱۷/۵ گرم از پودر محیط کشت مولر هینتون آگار در ۵۰۰ سی سی آب مقطر تهیه و اتوکلاو شد. اثردهی عصاره‌ها به روش چاهک انجام شد. کمترین غلظت برای تشکیل هاله ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود بقیه غلظت‌ها ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر انتخاب شد. در همه کشت‌ها اثر دهی هر سه نوع عصاره آبی، الکلی و هیدروالکلی با غلظت‌های فوق بر قارچ ساپروولگنیا انجام شد. همچنین اثر غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک نیستاتین بر ساپروولگنیا آزمایش شد و در واقع به جای عصاره‌ها از آنتی‌بیوتیک استفاده شد.

چ- سنجش گوگرد به روش وزنی

۲ گرم گیاه خشک با ۱۰۰ میلی لیتر آب عصاره-گیری و صاف شد. با افزودن اسید کلریدریک و به حجم رساندن، روی حرارت قرار داده و به آن کلرید باریم اضافه شد. بعد از قرار دادن در حمام آبی و صاف کردن محلول حاصل با کاغذ واتمن شماره ۴۲،

شد و ۷۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد و هر ۲۴ ساعت یکبار از کاغذ صافی عبور داده شد و مجدداً به نسبت ۱:۱۰ متانول افزوده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه روتاری قرار داده شد. عصاره غلیظی که از روتاری ایجاد شد در دسیکاتور قرار داده شد تا عصاره خشکی حاصل شود. عصاره خشک تا زمان اثردهی در یخچال نگه‌داری شد.

پ- عصاره هیدروالکلی

از روش (Azwanida 2015) با کمی تغییر استفاده شد. ۱۰ گرم گیاه پودر شد. نسبت ۲۰:۸۰ از متانول و آب تهیه شد و مدت ۷۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. هر ۲۴ ساعت یکبار از کاغذ صافی عبور داده شد و مجدداً متانول و آب افزوده شد. به منظور تغلیظ در دستگاه روتاری به مدت ۱ ساعت قرار داده شد و برای خشک شدن کامل در دسیکاتور قرار داده شد. عصاره خشک حاصل تا زمان اثردهی در یخچال نگه‌داری شد.

ت- کشت در محیط کشت سابورود کستروز برات

قارچ زیر هود لامینار در محیط سابورود کستروز برات (مرک آلمان) کشت داده شد و بعد از تشکیل کلنی به محیط کشت بعدی انتقال یافت. مطابق با روش (Sabouraud^a 1892) و با کمی تغییر.

ث- کشت در محیط کشت اختصاصی سابورود کستروز آگار

برای تهیه محیط کشت اختصاصی سابورود کستروز آگار، این ماده از نوع مرک آلمان خریداری گردید. از روش (Sabouraud^b 1892) با کمی تغییر استفاده شد.

نتایج

اثردهی سه نوع عصاره متانلی، آبی هیدروالکلی گیاهان بادرنجبویه و طاووسی در چهار غلظت بر روی قارچ آلوده‌کننده ماهی‌ها «سپروولگنیا» بررسی شد و در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. همچنین مقایسه دو گیاه همزمان با اثردهی جداگانه یک نوع عصاره بر قارچ در شکل‌های ۱ و ۲ و ۳ آورده شده و نیز مقایسه همزمان تأثیر سه نوع عصاره هر گیاه بر قارچ در شکل‌های ۴ و ۵ آمده است.

شکل ۱ نشان می‌دهد از عصاره‌های متانلی این دو گیاه تنها طاووسی بر سپروولگنیا مؤثر است. شکل ۲ نشان می‌دهد از عصاره‌های آبی این دو گیاه تنها بادرنجبویه بر سپروولگنیا مؤثر است. شکل ۳ نشان می‌دهد عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه به مراتب مؤثرتر از طاووسی است.

شکل ۴ نشان می‌دهد در تأثیر بادرنجبویه بر سپروولگنیا، عصاره آبی بیشتر از هیدروالکلی نقش دارد و متانلی بی‌تأثیر است. شکل ۵ نشان می‌دهد در تأثیر طاووسی بر سپروولگنیا، عصاره متانلی بیشتر از هیدروالکلی نقش دارد و عصاره آبی بی‌تأثیر است.

نتیجه سنجش گوگرد نشان داد؛ بادرنجبویه ۱۱/۷٪ و گیاه طاووسی ۶/۶۷٪ گوگرد در وزن خشک دارند.

رسوبات سولفات باریوم حاصل شده بر کاغذ صافی چند بار با آب داغ شسته و در کوره الکتریکی با دمای ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از خشک شدن با ترازوی دقیق وزن شد و تفاضل وزنی با نمونه شاهد محاسبه شد. درصد ماده خشک گیاه تعیین و در فرمول زیر جاگذاری شد (امامی و همکاران ۱۳۷۷):

$$S\% = (a-b) \times 13.74/W \times V1/V2 \times 100/DM$$

a: وزن رسوب سولفات باریوم بر حسب گرم

b: تفاوت وزن کروزه حاوی کاغذ صافی صافی بر حسب گرم

V1: حجم نهایی عصاره به دست آمده از عمل هضم بر حسب میلی‌لیتر

V2: حجمی از عصاره به کار رفته جهت تهیه رسوب بر حسب میلی‌لیتر

W: وزن نمونه گیاه جهت تهیه عصاره بر حسب گرم

DM: درصد ماده خشک گیاه

همه آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شد و برای مقایسه نتایج از نرم‌افزار 7 GraphPad Prism, version و آزمون‌های واریانس یک طرفه و دو طرفه و توکی استفاده شد.

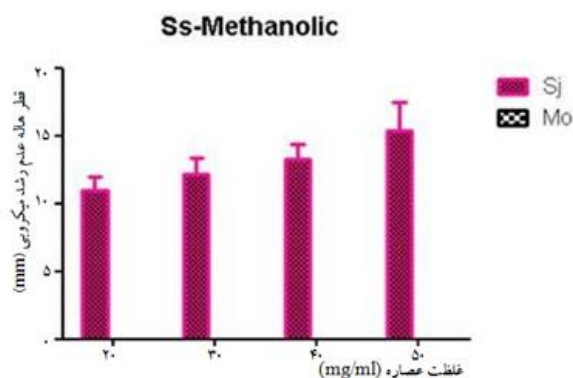
جدول ۱: تاثیر سه نوع عصاره متانلی، آبی و هیدروالکلی بادرنجبویه در چهار غلظت متفاوت (A,B,C,D) بر ساپروولگنیا و اندازه قطر هاله عدم رشد

غلظت عصاره بادرنجبویه (mg/ml)				نوع عصاره
قطر هاله عدم رشد میکروبی (mm)				بادرنجبویه
D(۵۰): ۰±۰	C(۴۰): ۰±۰	B(۳۰): ۰±۰	A(۲۰): ۰±۰	متانلی
D(۵۰): ۲۰/۸±۱/۰۶	C(۴۰): ۱۷/۹±۱/۰۱	B(۳۰): ۱۵/۳۳±۱/۱۵	A(۲۰): ۱۳/۷±۱/۱	آبی
D(۵۰): ۱۷/۷۳±۱/۱	C(۴۰): ۱۶/۲۷±۱/۱	B(۳۰): ۱۳/۱±۱/۰۱	A(۲۰): ۱۰/۶۷±۱/۱۵	هیدروالکلی

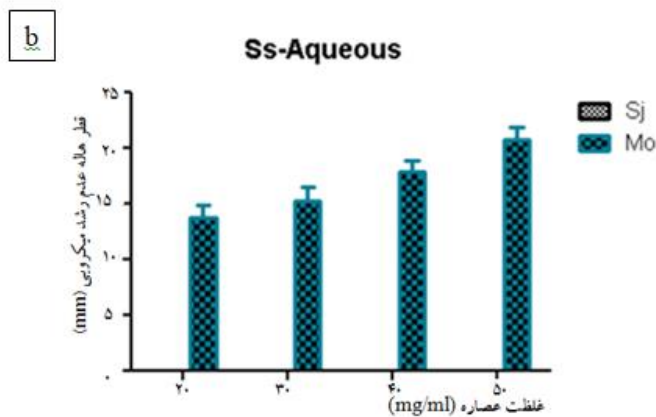
جدول ۲: تاثیر سه نوع عصاره متانلی، آبی و هیدروالکلی طاووسی در چهار غلظت متفاوت (A,B,C,D) بر ساپروولگنیا و اندازه قطر هاله عدم رشد

غلظت عصاره طاووسی (mg/ml)				نوع عصاره
قطر هاله عدم رشد میکروبی (mm)				طاووسی
D(۵۰): ۱۵/۴±۲/۱۲	C(۴۰): ۱۳/۳±۱/۱۳	B(۳۰): ۱۲/۲۳±۱/۱۳	A(۲۰): ۱۱/۰۳±۱	متانلی
D(۵۰): ۰±۰	C(۴۰): ۰±۰	B(۳۰): ۰±۰	A(۲۰): ۰±۰	آبی
D(۵۰): ۱۰/۱۷±۱/۰۴	C(۴۰): ۷/۶۷±۱/۱۵	B(۳۰): ۷/۲۷±۱/۱	A(۲۰): ۵/۴۳±۰/۵۱	هیدروالکلی

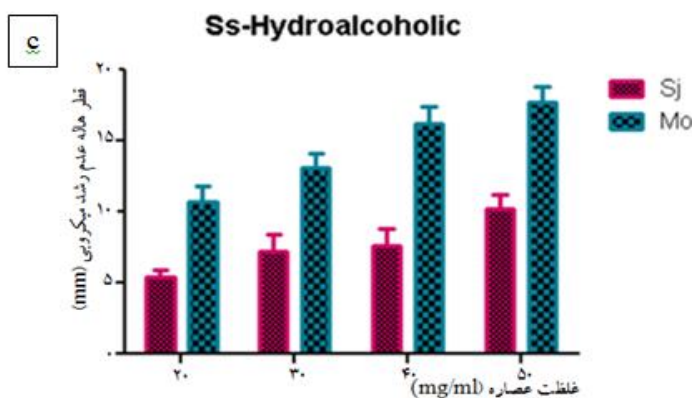
a



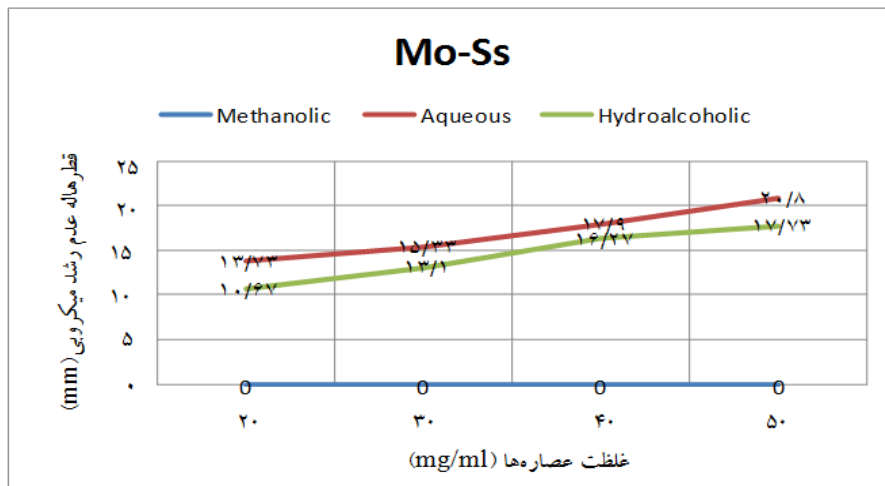
شکل ۱: مقایسه تاثیر عصاره متانلی دو گیاه بادرنجبویه و طاوسی بر ساپروولگنیا؛ Sj = طاوسی، MO = بادرنجبویه، SS = ساپروولگنیا



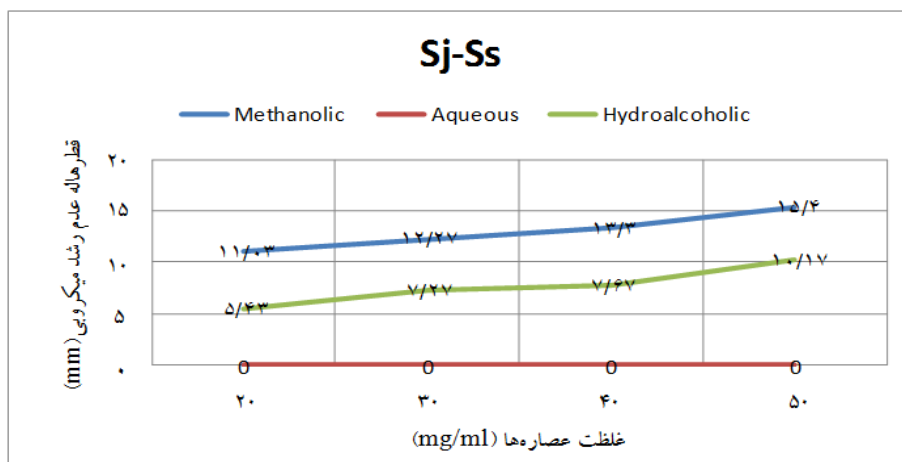
شکل ۲: مقایسه تاثیر عصاره آبی دو گیاه بادرنجبویه و طاوسی بر ساپروولگنیا؛ Sj = طاوسی، MO = بادرنجبویه، SS = ساپروولگنیا



شکل ۳: مقایسه تاثیر عصاره هیدروالکلی دو گیاه بادرنجبویه و طاوسی بر ساپروولگنیا؛ Sj = طاوسی، MO = بادرنجبویه، SS = ساپروولگنیا



شکل ۴: مقایسه تأثیر سه عصاره با غلظت‌های مختلف بادرنجبویه بر ساپروولگنیا. MO ، ساپروولگنیا $SS =$



شکل ۵: مقایسه تأثیر سه عصاره متانلی، آبی و هیدروالکلی با غلظت‌های مختلف طاووسی بر ساپروولگنیا. طاووسی $Zk =$ ساپروولگنیا $SS =$

بحث

هایی مانند فوزاریوم، ریزوبوس، اسپرژیلوس، آلترناریا و چند قارچ دیگر به جز ساپروولگنیا را بررسی نمودند. در پژوهش کنونی عصاره آبی بادرنجبویه مؤثرتر از سایر عصاره‌ها تشخیص داده شد. در این راستا فیروزبخش و همکاران (۱۳۹۴) نیز که اثر ضد قارچی عصاره‌های گیاهی را بر ساپروولگنیا بررسی کردند، عصاره آبی گیاهانسان را مؤثرتر گزارش کردند. این برخلاف تصور برخی است که برای حلال‌های آلی نقش مؤثرتری در استخراج مواد مؤثره قائل هستند.

در پژوهش کنونی عصاره متانلی بادرنجبویه هیچ تأثیری بر ساپروولگنیا نداشت. این نتیجه با نتایج سجادی و همکاران (۱۳۹۳) که حلال‌های مختلفی را در عصاره‌گیری از بادرنجبویه به کار بردند و عصاره متانلی بادرنجبویه بر علیه قارچ ریزوکتونیا (عامل بیماری ساق زخم توتون) را از همه مؤثرتر اعلام نموده اند همسویی ندارد. بنابراین می‌شود نتیجه گرفت که نوع عصاره تنها یک بعد از خاصیت آنتاگونیستی است و بعد مهم دیگر، گونه قارچی است که بسته به گونه، هر یک از

خسارت ناشی از صدمات قارچ ساپروولگنیا بر ماهی‌ها زیاد است و باید درصدد مقابله با آن برآیم به طوری که قیاسی و همکاران (۱۳۹۱) با مطالعه ۴۰۵۰ عدد تخم ماهی سفید، گزارش نمودند تنها قارچ آبی آلوده‌کننده تخم ماهی سفید طی سه سال بررسی فقط از جنس ساپروولگنیا بوده است.

در پژوهش کنونی عصاره آبی بادرنجبویه به طور معناداری ($P < 0.05$) در غلظت‌های ۲۰-۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هاله عدم رشد نشان داده است اما عصاره متانلی بادرنجبویه هیچ تأثیری بر ساپروولگنیا نداشت. غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بادرنجبویه مناسب‌ترین غلظت پیشنهادی برای تأثیرگذاری است چون به یکباره در این غلظت، هاله عدم رشد بیشتری داده است (۲۰/۸ میلی‌متر).

نتایج ما با نتایج ساعتچی و همکاران (۱۳۸۷) که فعالیت ضد قارچی زیادی از گیاه بادرنجبویه در برابر قارچ‌ها گزارش کرده‌اند همسویی دارد. آن‌ها قارچ-

اروپایی تنها ۰/۶۳٪ گوگرد تعیین کرده‌اند. می‌توان بخشی از خاصیت ضد عفونی کنندگی این دو گیاه و خاصیت ضد عفونی کنندگی بیشتر بادرنجبویه نسبت به طاووسی را به میزان زیاد گوگرد آن‌ها نسبت داد که به طور طبیعی در این دو گیاه هست.

از سوی دیگر گوگرد یکی از عناصر ضروری در تغذیه ماهی‌هاست که می‌توان با افزودن عصاره‌های گیاهان حاوی گوگرد به استخرها آن را تأمین کرد. این در حالی است که گاه در استخرهای پرورش ماهی افزودن مستقیم عناصر شیمیایی و مواد معدنی با دوز مناسب صورت نمی‌گیرد و سبب تجمع بیش از حد عناصر در پیکر ماهی‌ها می‌شود و تغذیه از این ماهی‌ها می‌تواند عوارض و بیماری‌های زیادی چون سرطان، نقص سیستم ایمنی، آلرژی، مسمومیت غذایی و غیره ایجاد کند ولی اگر عناصر به شکل طبیعی یا ارگانیک در جیره غذایی ماهی‌ها باشد یعنی به صورت ترکیب در یک گیاه، در این صورت جذب آن در حد و اندازه معقول صورت می‌گیرد و ضرری نخواهد داشت.

در مجموع استفاده از گیاهان دارویی به خصوص عصاره آبی بادرنجبویه و عصاره متانلی طاووسی برای متوقف ساختن رشد ساپروولگنیا در استخرهای پرورش ماهی و آکواریوم‌ها توصیه می‌شود. آن‌ها به مراتب بهتر از مواد شیمیایی مانند مالاشیت گرین هستند که بسیار مضر می‌باشد و نیز بهتر از آنتی بیوتیک‌ها هستند که معمولاً دارای عوارض هستند. در به کارگیری عصاره می‌توان با آغشته کردن تخم ماهی‌ها با محلول ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره‌ها عمل کرد و در مراحل نوزادی ماهی‌ها هم چندین بار این کار تکرار شود. در صورت اپیدمی شدن در استخر ماهی‌ها هم می‌توان کل استخر را با این عصاره‌ها ضد عفونی کرد و

قارچ‌ها مقاومت‌های مختلفی در برابر یک عامل آنتاگونیستی دارند.

در مقایسه، عصاره متانولی طاووسی بر قارچ ساپروولگنیا در این پژوهش با معنی‌داری $P < 0.0001$ مؤثر بود. عصاره هیدروالکلی طاووسی نیز عامل بازدارنده رشد خوبی بود و نسبت هاله‌های عدم رشد با افزایش غلظت عصاره‌ها معنی‌دار بود (اغلب $P < 0.0001$) ولی عصاره آبی طاووسی هیچ تاثیری بر ساپروولگنیا نداشت. غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره طاووسی مناسب‌ترین غلظت پیشنهادی برای تأثیرگذاری است چون به یکباره در این غلظت، هاله عدم رشد، افزایش بیشتری نشان داده است.

بنابراین مواد مؤثره گیاهان بسته به خصوصیات شیمیایی‌شان، در برخی از حلال‌ها بهتر حل می‌شوند و در نتیجه تأثیر گذارتر می‌گردند.

در پژوهش کنونی از نیستاتین به عنوان کنترل استفاده شد ولی هیچگونه تأثیر آنتاگونیستی از آن مشاهده نشد، بنابراین ساپروولگنیاها با هر آنتی بیوتیکی هم معدوم نمی‌گردند. اثر آنتاگونیستی خوب بادرنجبویه و طاووسی از یک طرف و داشتن خواص دارویی و بی‌ضرر آن‌ها از سوی دیگر که در عین حال ارزانتر از داروهای شیمیایی و قابل دسترس‌تر می‌باشند می‌تواند استفاده آن‌ها را چه به صورت مستقیم و چه در ساخت محلول‌هایی که به طور آماده در اختیار افراد قرار گیرد میسر سازد.

علاوه بر این، در این بررسی مشخص شد که دو گیاه مورد سنجش، از میزان گوگرد زیادتری نسبت به سایر گیاهان برخوردارند (گوگرد در طاووسی ۶/۶۷٪ و در بادرنجبویه ۱۱/۷٪). در حالی که زاهدچکوری و زاهدچکوری و همکاران (۱۳۹۴) برای گاوزبان

به نوعی ایمن سازی بیولوژیک انجام داد. از نظر قیمت تمام شده هم مقرون به صرفه است چون بادرنجبویه با یکبار کاشت، سالها قابل بهره برداری است و توسط ساقه های استولون رشد و تکثیر فراوان دارد و حتی در کنار استخرهای پرورش ماهی در شمال هم قابل کشت است چون در بسیاری از مناطق شمالی یک گیاه خودرو محسوب می شود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهری که امکانات مالی این پژوهش را فراهم نمودند، سرکار خانم دکتر خلیل مقدم، سرکار خانم دکتر فلسفی (دانشگاه علوم پزشکی) و نیز از کارشناسان محترم آزمایشگاه سرکار خانم مهندس خسروی، سرکار خانم دکتر اعتمادی، جناب آقای مهندس عرفانیان و جناب آقای مهندس محبی برای همکاری صمیمانه شان کمال تشکر را داریم.

منابع

- ۱- امامی، ع.، بغوری، ا.، فیض الله زاده اردبیلی، م.، ۱۳۷۷. گزارش نهایی بررسی و مقایسه روش های اندازه گیری گوگرد در گیاه، وزارت کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات آب و خاک، کد ۷۶۹۰، نشریه فنی شماره ۱۰۳۰، ۱۰-۱۱.
- ۲- پذیرا، ع.، ۱۳۹۶. فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بر روی قارچ-های جدا شده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus*
- ۳- چلبیان، ف.، مجد، ا.، ۱۳۸۹. تالوفیت ها، انتشارات آبیژه، چاپ دوم، ۲۵۶ ص.
- ۴- زاهد چکوری، س.، قاسم اف.، نعمت.، ۱۳۹۴. بررسی تغییرات برخی از عناصر تغذیه ای پرمصرف، پرولین و پروتئین در گیاه گاوزبان اروپایی *Borago officinalis* L. تحت تنش خشکی، مجله زیست فناوری گیاهان زراعی، شماره یازدهم، ۶۵-۷۵.
- ۵- ساعتچی، آ.، کدیور، م.، سلیمانیا نژاد، ص.، ۱۳۸۷. تاثیر ضد قارچی و آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی بادرنجبویه و سنبل الطیب، هجدمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد مقدس، مقاله کامل، ۱۰-۱.
- ۶- سجادی، س.ا.، مرادی، غ.، عاصمی، ه.، نقی زاده، ف.، رستمی، ف.، اکبرزاده، م.، ۱۳۹۳. اثر ضد قارچی عصاره نه گونه گیاهی روی ساق زخم توتون (*Rhizoctonia solani*)، فصلنامه گیاهپزشکی، (۱)۶، ۸۵-۷۱.
- ۷- فیروزبخش، ف.، ذوالفقاری، آ.، محرابی، ز.، خالصی، م.ک.، ۱۳۹۴. بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره های گیاه گزنه *Urtica dioica* و ریحان *Ocimum basilicum* بر قارچ ساپروولگنیا پارازیتیکا در شرایط آزمایشگاهی، فصلنامه محیط زیست جانوری، (۳)۷، ۲۱۶-۲۱۱.
- ۸- قیاسی، م.، شکری، ح.، بینایی، م.، فارابی س م و.، سعیدی ع ا.، ۱۳۹۱. شناسایی و مقایسه فراوانی عوامل قارچی جدا شده از تخم ماهیان سفید

- Plants, second Edition, London: Taylor and Francis, 992 P.
- 16-Bruno, D.W., Wood, B.P., 1994. Saprolegnia and other Oomycetes. In Fish Diseases and Disorders, Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. Bruno. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, United Kingdom. Edited by P.T.K. Woo and D.W., 599-659.
- 17-Cerchiara, T., Blaiotta, G., Straface, V S., Blesito, E., Liguori, A., 2013. Bioogical Activity of Spartium junceum L. (Fabaceae) Aromatic water. Natural Resources, 4, 229-234.
- 18-Golus, J., Sawicki, R., Widelski, J., Ginalska, G., 2016. The agar microdilution method - a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts. J Appl Microbiol. 121(5):1291-1299.
- 19-Noga, E.J. 2010. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, Wiley-Blackwell, 2nd edition. 536 p.
- 20-Pottinger, T.G Day, J.G., 1999. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for Rainbow Trout: Assasment of pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. Disease of Aquatic Organisms. 36, 129-141.
- 21-Sabouraud^a, R., 1892. Ann. Dermatol. Syphilol.3:1061.
- 22-Sabouraud^b, K., 1892. Ann. Dermatol. Syphilol.3,1061.
- Rutilus frisii kutum*) استان مازندران، نشریه توسعه آبنزی پروری، ۶(۱)، ۹۰-۷۹.
- ۹- مخیر، ب.، ۱۳۸۲. بیماری‌های ماهیان پرورشی، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم، ۵۹۵ ص.
- ۱۰- مظفریان، و.، ۱۳۹۲. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، چاپ هفتم، ۷۵۶ ص.
- ۱۱- نظریان، ح.، عمویی، ع.م.، ۱۳۹۴. بسته کارآفرینی تولید بادرنجبویه. معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری، انتشارات اسرار علم، ۷۰ ص.
- ۱۲- نوروزی، ح.، مجدی نسب، ف.، علوی، ش.، ۱۳۸۱. اپیدمیولوژی بیماری‌های قارچی مشترک انسان و آبزیان، انتشارات شهرآب. چاپ اول، ۱۹۳ ص.
- 13-Abdel-Naime, W.A., Fahim, J.R., Fouad, M.A., Kamel M.S., 2019. Antibacterial, Antifungal, and GC-MS studies of *Melissa officinalis*. South African journal of Botany, 124, 228-234.
- 14-Azwanida, NN., 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, Medicinal & Aromatic Plants, 4:3, 1-6.
- 15-Baxter, H., Harborne, J.B., Moss, G.P., 1999. Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive compounds from