



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску медицину



Вања Граховац

**ЗНАЧАЈ И КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ
ИНФЕКЦИЈА СЛАТКОВОДНИХ РИБА**

Дипломски рад

Нови Сад, 2024.



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**
Департман за ветеринарску медицину



Кандидат:
Вања Граховац

Ментор:
Др Николина Новаков

ЗНАЧАЈ И КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ ИНФЕКЦИЈА СЛАТКОВОДНИХ РИБА

Дипломски рад

Нови Сад, 2024.

**КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ
ДИПЛОМСКОГ РАДА**

Др Николина Новаков, ванредни професор - Ментор
за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Департман за ветеринарску медицину

Др Нада Плавша, редовни професор - Председник комисије
за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Департман за ветеринарску медицину

Др Драгица Стојановић, редовни професор – III члан
за ужу научну област Фармакологија и токсикологија
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Департман за ветеринарску медицину

ЗНАЧАЈ И КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ ИНФЕКЦИЈА СЛАТКОВОДНИХ РИБА

КРАТАК САДРЖАЈ

Аквакултура представља грану привреде са великим годишњим растом на светском нивоу који је дуго износио око 9.6%. Један од главних лимитирајућих фактора за даљи раст и развој аквакултуре јесу болести риба, укључујући болести гљивичне етиологије. У Републици Србији доминантно се у аквакултури гаје рибе из фамилије *Cyprinidae* и *Salmonidae* и највећи изазов тренутно представља контрола сапролегниозе. Инфекција риба сапролегнијом, јавља се у свим водама широм света и једна је од најраспрострањенијих болести копнених риба како у језерима тако и у водотоцима. Болест избија тамо где су присутни патогени сојеви: одсуство сапролегнијазе се приписује одсуству патогених сојева. Споре најлакше и најчешће продиру у тело рибе када је оштећена површина коже или шкрге (механички, паразитарном или бактеријском инфекцијом) и када је риба слаба, неспособна да производи супстанце које би је заштитиле. Једна од најосетљивијих фаза је вештачки мрест. Код шарана и ципринида бранхиомикоза шкрга представља значајну инфекцију риба. У контроли гљивичних инфекција риба треба обухватити многе елементе од набавке матица и вештачког мреста, нарочито контролу сапролегниозе код пастрмске икре. Биосигурносне мере свакако су неизоставне када говоримо о превентиви, а нарочито дезинфекција која укључује употребу различитих препарата у зависности од објеката и врсте риба које се гаје. Генерално, треба радити на активном надзору и адекватно планирати стратегије за контролу болести које се доминантно базирају на биосигурносним мерама и контролисаној употреби антимицотика и препарата који ефикасно делују на гљивице, а дозвољени су за употребу у аквакултури.

Кључне речи: *гљивице, сапролегниоза, бранхиомикоза, контрола, рибе*

SIGNIFICANCE AND CONTROL OF FUNGAL INFECTIONS OF FRESHWATER FISH

SUMMARY

Aquaculture represents a branch of the economy with a large annual growth at the world level, which for a long time was around 9.6%. One of the main limiting factors for the further growth and development of aquaculture is fish diseases, including diseases of fungal etiology. In the Republic of Serbia, fish from the Cyprinidae and Salmonidae families are dominantly grown in aquaculture, and the biggest challenge currently is the control of saprolegniosis. Saprolegnia fish infection occurs in all waters around the world and is one of the most widespread diseases of terrestrial fish in both lakes and streams. The disease occurs where pathogenic strains are present: the absence of saprolegniasis is attributed to the absence of pathogenic strains. Spores most easily and often penetrate the fish body when the surface of the skin or gills is damaged (mechanically, by parasitic or bacterial infection) and when the fish is weak, and unable to produce substances that would protect it. One of the most sensitive stages is artificial spawning. In carp and cyprinids, gill branchiomycosis is a significant fish infection. In the control of fungal infection of fish, many elements should be included from the procurement of queens and artificial spawning, especially for the control of saprolegniosis in trout roe. Biosecurity measures are certainly indispensable when we talk about prevention, especially disinfection, which includes the use of different preparations depending on the facilities and the type of fish that are grown. In general, it is necessary to work on active surveillance and adequately plan disease control strategies that are dominant in biosecurity measures and the controlled use of antimycotics and preparations that work effectively against fungi and are allowed for use in aquaculture.

Keywords: *fungi, saprolegniosis, branchiomycosis, control, fish*

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА	3
3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	4
3.1. ИСТОРИЈАТ ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА РИБА	4
3.2. ПОЈАМ САПРОЛЕГНИОЗЕ	5
3.2.1. ЕТИОЛОГИЈА И ЕПИЗООТИОЛОГИЈА	6
3.2.2. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС	7
3.2.3. ИМУНОЛОШКИ ОДГОВОР ДОМАЋИНА НА САПРОЛЕГНИЈУ	8
3.2.4. КЛИНИЧКА СЛИКА	10
3.2.5. ДИЈАГНОСТИКА ГЉИВИЦА	12
3.3. БРАНХИОМИКОЗА	17
3.3.1. ЕТИОЛОГИЈА И ЕПИЗООТИОЛОГИЈА БРАНХИОМИКОЗЕ	18
3.3.2. КЛИНИЧКА СЛИКА БРАНХИОМИКОЗЕ	19
3.3.3. ДИЈАГНОСТИКА БРАНХИОМИКОЗЕ	20
3.4. ЗНАЧАЈ ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА	22
3.5. КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА	23
3.5.1. ПРЕВЕНТИВНЕ МЕРЕ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА	23
3.5.2. КОНТРОЛА САПРОЛЕГНИОЗЕ	25
3.5.3. ТЕРАПИЈСКЕ МЕРЕ У КОНТРОЛИ БРАНХИОМИКОЗЕ	29
4. ЗАКЉУЧАК	31
5. ЛИТЕРАТУРА	32

1. УВОД

Више од 67.7% гајених риба у светским оквирима се односи на слатководне рибе. Република Србија спада у земље са традиционалном производњом шаранских и пастрмских риба, и као таква заузима значајно место у Европи.

Риба је одувек представљала значајан део људске исхране. Рибље месо је богато протеинима, минералима, витаминима и есенцијалним масним киселинама које се налазе у рибљој масти. Када узмемо у обзир да је потенцијал за развој слатководног рибарства у Србији заиста велик, као и могућност унапређења постојеће производње применом савремених технологија гајења, долазимо до закључка да је онда итекако важно осврнути се и на лимитирајуће факторе у аквакултури, а свакако да један од њих представљају и гљивична обољења слатководних риба.

За свако интензивирање производње неопходно је обезбедити добре физиолошке карактеристике, а наравно и повољно здравствено стање риба. Значајну улогу обухватају адекватни амбијентални услови, густина насада, манипулација рибом, избалансирана исхрана, одговарајућа припрема рибњака, измрзавање, уситњавање земљишта и дезинфекција. Сви ови фактори су неопходни како не би дошло до појаве обољења различите етиологије, у које спадају и гљивична обољења риба.

У Републици Србији доминантно се у аквакултури гаје рибе из фамилије *Syringidae* и *Salmonidae* и највећи изазов тренутно представља контрола *сапролегниозе*, као водеће гљивичне инфекције, али поред ње, значајно место заузима и *браниомикоза шкрга*. Болест изазвана *сапролегнијом* избија тамо где су присутни патогени сојеви: одсуство сапролегнијазе се приписује одсуству патогених сојева. Споре најлакше и најчешће продиру у тело рибе када је оштећена површина коже или шкрге (механички, паразитарном или бактеријском инфекцијом) и када је риба слаба, неспособна да производи супстанце које би је заштитиле. Једна од најосетљивијих фаза је вештачки мрест.

Плесни, које изазивају микозе су микроскопски организми који производе филаментозне творевине на различитим супстратима. У основи, плесни су

хетеротропни организми који нутритивно зависе од органског супстрата. Класификовани су као посебан филум, Мусота, талоидне биљке (Thallophyta).

Још увек је широко распрострањено мишљење да је зараза риба гљивицама углавном секундарни проблем. Међутим, постоје докази да гљивице могу утицати на здраву рибу у одређеним околностима. Са становишта рибопатолога, постоје микозе које ометају функцију органа и убијају рибу, а такође и микозе које сукцесивно лишавају природну снагу рибљем организму, доводећи га у кахектично стање [1].

2. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА

Ово истраживање је неопходно како би се истакао значај гљивичних болести слатководних риба које су честе и често погрешно дијагностификоване, а изазивају велики број угинућа, из тог разлога постоји потреба да се прикажу најновије стратегије у њиховој контроли.

Основни циљ истраживања је да се прикажу различите превентивне и терапијске методе које су доступне у профилакси и контроли гљивичних болести код слатководних риба. Резултати који се очекују ће омогућити сагледавање јасне слике о актуелним начинима контроле гљивичних инфекција различитих врста слатководних риба.

3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

3.1. ИСТОРИЈАТ ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА РИБА

Први записи о оомицетама¹ које су инфицирале рибе датирају још од средине 19. века. Давне 1877. године први пут је описана гљивична инфекција која је повезана са лососом, *salmon disease* у рекама између Енглеске и Шкотске.

Поједини истраживачи сматрају да се као етиолошки фактор овог обољења могу навести одређене врсте гљивице, односно *Saprolegnia ferax*. Други сматрају да се обољење првобитно везује за бактерије, а да секундарно долази до гљивичне инфекције.

Тек у двадесетом веку можемо пронаћи јасно описан случај који укључује Сапролегнију. У питању је обољење под називом *UDN – ulcerative dermal necrosis*, где примарне лезије, мале, овалне, ерозије, напредују у улцерисане, хеморагичне лезије. Доказ да је Сапролегнија етиолошки фактор произилази из студије да се ране лезије овог обољења могу успешно третирати малахнит зеленим, супстанцом која се успешно користи у лечењу гљивичних инфекција [2].



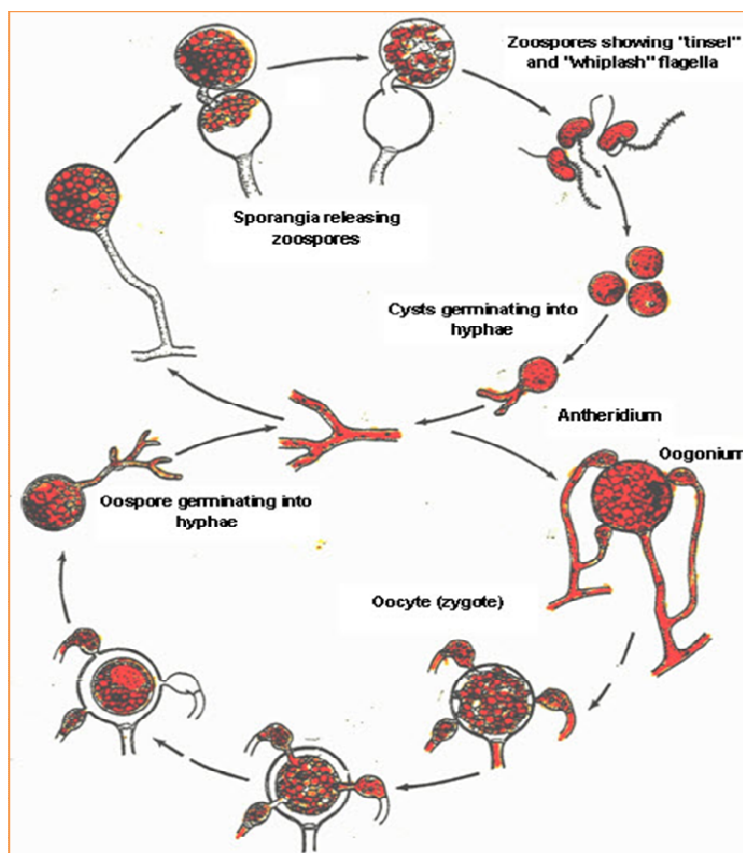
Слика 1 – *Ulcerative dermal necrosis*, приказ лезија које настају као последица обољења [3].

¹ Оомиците су класификоване у царство гљива због њиховог филаментног раста и других карактеристика по којима су сличне гљивама.

3.2. ПОЈАМ САПРОЛЕГНИОЗЕ

Сапролегниоза је главни род водених гљивица које су одговорне за инфекцију слатководних риба и јаја. Ова гљивица је присутна у слатководним екосистемима широм света.

Инфекција рибе сапролегнијом назива се сапролегниоза и односи се на било коју болест риба или рибљих јаја која је узрокована врстама из породице *Saprolegniaceae* (*Oomycotina*). Инфекција погађа рибља јаја и младе рибе у мрестилиштима широм света, а изазвана је патогеном оомицетом *Saprolegnia parasitica*. Оомицете су класификоване у царство гљива због њиховог филаментног раста и других карактеристика по којима су сличне гљивама [4,5].



Слика 2 – Животни циклус оомицета [5]

Оомиците су подељене у три поткласе :

1. *Saprolegniomicetidae*
2. *Rhipidiomycetidae*
3. *Peronosporomycetidae* [5,6]

Патогени за рибе и животиње, односно оомиците које припадају поткласи *Saprolegniomicetidae*, могу се поделити на три главна рода : *Saprolegnia*, *Achlya* и *Aphanomices*.

Врсте у оквиру рода *Saprolegnia* класификоване су према полним и морфолошким карактеристикама. У препознатљиве врсте можемо убројати *S. diclina*, *S. ferak*, *S. australis* и *S. parasitica* [6].

3.2.1. ЕТИОЛОГИЈА И ЕПИЗООТИОЛОГИЈА

Сапролегниозе представљају гљивичне болести различитих врста риба и икре. Узрочници обољења су ниже гљиве из родова *Achlya* и *Saprolegnia*, најчешће *S. parasitica*.

Већина врста су сапрофити и присутне су у воденом окружењу (вода, седимент) и сматрају се опортунистичким патогенима. Инфекцију изазивају тек након повреде или бактеријских или паразитских инфекција. *S. parasitica* спада у врсте које могу бити примарни узрочник обољења и изазвати системску микозу [1].

Ове гљивице изазивају промене на кожи, шкргама и икри, а обољење се јавља у хроничној или субакутној форми. Рибе из породице *Salmonidae* су чести домаћини овог обољења.



Слика 3 – Промене код шарана услед деловања гљивица из рода *Saprolegnia* [1]

Saprolegnia parasitica представља озбиљан проблем у расту и напредовању аквакултуре. Сапролегноза изазвана од стране ове гљивице напада рибу и икру у инкубационом периоду. Сматра се да десет посто свих излежених лососа бива инфицирано сапролегниозом, с тим у вези, економски губици изазвани овом гљивицом су од великог значаја [5,6,7].

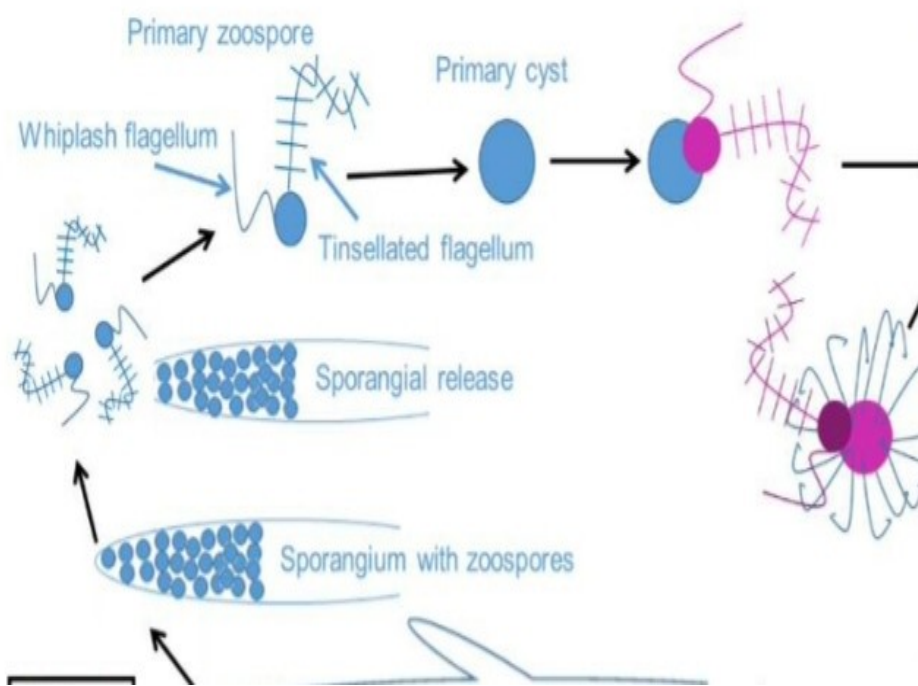
Током инкубирања икре, гљивице се обично населе на неоплођеним и оштећеним јајима, а након тога инфекција захвата и здрава. На овај начин може бити уништено и до сто процената оплођене икре. Спољашња гљивична инфекција се преноси путем воде, помоћу инфективних бифлагеларних зооспора које ослобађају хифе сапролегније. Амбијентални стрес и повреде играју важну улогу у настанку инфекције која се често јавља и у време мреста риба, нарочито пастрмских [1].

3.2.2. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС

Животни циклус сапролегније је комплексан и укључује и асексуалну и сексуалну фазу. Једна јединка садржи и мушки и женски пол.

Асексуална фаза започиње продукцијом примарних зооспора унутар врхова хифа познатих као спорангије. Смањење доступних нутритијената или изненадни пад температуре представљају два фактора која изазивају формирање зооспора.

Примарне зооспоре су активне само неколико минута пре него што се учауре, односно формирају цисту, клијају и отпусте секундарну зооспору. Секундарна зооспора такође прелази у цисту која поседује кукице којима се прихвата за домаћина. Када се нађу на домаћину цисте клијају и стварају мицелијум [8].



Слика 4 – Шематски приказ животног циклуса сапролегније [6]

Сексуална фаза развојног циклуса постоји како би се омогућило преживљавање током неповољних услова средине. Она укључује производњу *antheridium* и *oogonium* које се уједињују за оплодњу и стварају ооспору. Ооспора може да преживи екстремне температуре и да обустави клијање и стварање мицела, док услови не постану повољни [9].

3.2.3. ИМУНОЛОШКИ ОДГОВОР ДОМАЋИНА НА САПРОЛЕГНИЈУ

Имунолошки систем рибе је слабо развијен када говоримо о прилагођавању, односно адаптацији на услове средине. Самим тим, очекивани су већи проблеми приликом промена услова средине, али и оштећења коже и шкрга. И најмање лезије

на кожи рибе представљају предиспонирајући фактор за инфекцију сапролегнијом [10].

Кожа риба је орган који окружује тело и штити га од механичких, хемијских и патогених утицаја. Она се састоји од покожице (*epidermis*) и крзна (*corium*). Границу између ова два слоја чини мукополисахаридна базална мембрана. Покожица је прекривена кутикулом мукополисахаридног порекла, а луче је епителне ћелије. Она садржи многобројне ензиме, као што су протеазе, затим комплемент и друге имунолошке молекуле, имуноглобулине, лизозоме и слободне масне киселине, за које се верује да имају противпатогену активност.

Приликом значајног пада температуре средине у којој риба борави, долази до губитка слузавости покожице која постаје сува и предиспонирана за инфекцију сапролегнијом. Такође, сам пад температуре супримира фагоцитозу, опсонизацију и активацију комплемента [1,10].

У покожици између епителних ћелија се налазе три врсте једноћелијских жлезда:

1. Мукозне – слузне
2. Бокасте – кичасте
3. Гранулиране – зрнасте

Слузне ћелије су пехарастог или овалног облика и на површину луче секрет гликопротеинске природе. Слузни омотач при кретању смањује трење тела са водом, штити организам од патогених агенаса, помаже осмотске процесе, таложи суспендоване честице муља у води и даје риби карактеристичан мирис. Бокасте – кичасте ћелије су велике и издужене, а смештене су у средњем и доњем слоју покожице. Производе веома битну материју која се назива „материја страха“ и она се излучује из повређене коже како би и друге рибе могле осетити опасност. Функција гранулираних жлезданих ћелија још увек није довољно добро проучена [1].

Само мали број циркулишућих леукоцита рибе су неутрофили, самим тим функција макрофага је заиста битна и може се рећи кључна када је у питању сапролегнија.

Самим тим, можемо закључити да је за инфекцију сапролегнијом битан фактор снижена температура средине у којој риба борави, јер тиме слаби њен имунолошки одговор. Такође, риба под стресом, са спољашњим лезијама и повредама, представља погодан домаћин за развој инфекције [10].

3.2.4. КЛИНИЧКА СЛИКА

Када су у питању рибе и сапролегнија, најчешће су инфицирани шарани и биљоједне рибе, пастрмке и икра за време лежења. У ситуацијама као што су болести, трауме при раду и мресту, лошем транспорту, стварају се повољни услови за развој гљивица. Обољевају све старосне категорије, али су најосетљивије икра, ларве и матични примерци, по истискивању полних продуката. Дугачке хифе сапролегније се хватају за шкрге и друге делове тела рибе – главу, труп, пераја, где може доћи и до отпадања репа (Слика 5) [1].



Слика 5 – Отпадање репа код калифорнијске пастрмке као последица деловања гљивица из рода *Saprolegnia* [1]

Болест која захвата кожу одраслих јединки је лако препознатљива, а исто тако је врло једноставно уочити је. Оомиците се населе и умножавају на оштећеној кожи и шкргама. Захваћено подручје коже бива прекривено наслагама узрочника који изгледа попут вате сиво – беле боје (Слика 6) [11].



Слика 6 – Атлантски лосос заражен гљивицом *Saprolegnia parasitica* [12]

Рибе заражене сапролегнијом пливају летаргично и могу остати умртвљене неколико дана пре смрти [11].

Када говоримо о икри и инфекцији сапролегнијом, важно је напоменути да је таква икра окружена белим хифама (Слика 7). Икра тада има сиво-белу боју и равномерно је окружују хифе гљивице из рида *Saprolegnia*. Оваква инфекција доводи до угинућа.

Болести погодује органско загађење воде, недостатак кисеоника, повишена температура средине и неквалитетно прихрањивање [1].



Слика 7 – Рибља икра инфицирана гљивицом из рода *Saprolegnia* [12]

3.2.5. ДИЈАГНОСТИКА ГЉИВИЦА

Гљивице представљају узрочника тешких обољења слатководних риба, а самим тим су и значајан фактор у економским губицима у аквакултури. Због тога је неопходна адекватна и што прецизнија идентификација овог узрочника.

Дијагностика се може поставити на основу типичних промена на кожи, шкргама или икри. Други видови дијагностиковања гљивица су:

Методe изолације

Миколошки преглед је саставни део комплекса прегледа здравља риба и ради се мање више истовремено са бактериолошким прегледом. Полупаразитске и паразитске гљиве се добијају свеже од домаћина узимањем инокулума из сумњивог ткива на агар медијуму, коришћењем загрејане и охлађене езе. Ако је мицелијум присутан у ткиву, узорак се може површински дезинфиковати како би се спречила секундарна контаминација спорама у ваздуху. Дезинфекција се врши потапањем у 1% формалдехид у трајању од 1 до 5 минута. Затим се узорак пребацује у 70% алкохол и на крају у стерилну воду у којој се добро испере. Када се изолује стварна врста, такође је могуће држати узорак под брзим млазом воде да би се испрала секундарна инфекција [1].

Култивација

Сврха култивације је добијање чистих култура за проучавање морфологије гљивица, њихове варијабилности и услова раста, као и за испитивање целокупне онтогенезе. Узгој се обично врши на синтетичким агар подлогама. Узгајањем, појединачним гљивичним ћелијама се омогућава да произведе своје потомство које се онда сматра култивисаним сојем. Разлике између сојева исте врсте су физиолошке (нпр. производња ензима или токсина), а могу бити и морфолошке (нпр. различита боје, изглед гљивичног раста итд.). На медијуму за култивацију, сој ствара колоније моноспора или мултиспоре које се спајају и формирају израслину. Колонија се састоји од површинског и супстратног мицелијума и ови облици се могу разликовати на различитим супстратима.

а) Медији за култивацију

Поред уобичајених подлога за бактеријску културу као што је крвни агар и др., рибље гљиве се такође могу узгајати на подлогама природних супстрата. Од њих један од најчешће коришћених је агар од слатког сирупа (1000 ml слирупа разблажен до половине концентрације, 20 g агара). Од синтетичких подлога користе се Сабоурауд-ов агар (40 g глюкозе, 10 g пептона, 1000 ml дестиловане воде, 15 g агара), Сабоурауд-ов конзервирајући агар за збирне културе (30 g пептона, 1000 ml дестиловане воде, 20 g агара) или Czapek агар (3 g NaNO_3 , 1 g KH_2PO_4 , 0.5 g KCl , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 30 g сахарозе, 15 g агара, 1000 ml дестиловане воде). Ови медијуми су погодни за морфолошко проучавање мицелијума и органа спорулације. Медији са ниским садржајем хранљивих материја су погодни за одржавање сојева у сакупљањим културама [1].

Инокулација

У просторијама у којима се врши инокулација мора се одржавати савршена чистоћа. Сто на коме се ради треба обрисати крпом натопљеном дезинфекционим средством; 4% формалдехида или 3% хлорамина са детергентом треба користити када се посао заврши (пожељно пре напуштања лабораторије). Када се Петријеве посуде отварају, поклопце треба пажљиво подићи. Мале посуде (спрувете) се отварају по потреби само на кратко, грла посуда треба загрејати пре и после преношења инокулама, а чепове од вате испећи на површину. Праве или савијене езе користе се за реинокулацију плесни и филаментозних гљивица. Споре се морају пренети заједно са мицелијумом да би се избегла стерилност соја. Инокулисане спрувете и Петријеве посуде стављају се у термостат на собној температури.

Очување култура

Да бисте континуирано одржавале културе гљива, реинокулирајте их два или три пута годишње. Врсте које брзо расту требају реинокулацију сваки други месец, друге једном у 4-6 месеци. Ниске температуре (4–10°C) успоравају раст и омогућавају културама да преживе до годину дана без поновне инокулације. Гљиве које обилно спорулирају се реинокулишу преношењем спора помоћу езе. У случају гљивица са лошом спорулацијом, делови културе се преносе са агаром. За ову сврху су погодне савијене инокулационе игле од дебеле жице.

Методe припреме

Плесни и филаментозне гљивица прво треба евалуирати са аспекта њихову навиких општих карактеристика прегледом под бинокуларним смикроскопом или микроскопом са малим увећањем најбоље са фазним контрастом. Препарати који служе за детаљно проучавање могу бити изворни, полутрајни или трајни.

а) Нативни препарати се испитују у капи воде. Боје се или воденим раствором неутралне црвене (разблажење 0,01 %) или метилен плаве (0,01 %). Ове боје боје плазму. За бојење ћелијског зида користе се водени раствор крезил плавог или раствор конго црвене у амонијаку (3 g конго црвене на 100 ml H₂O плус додатак од 2 ml амонијака).

б) За бољу бистрину користе се хлоралхидрат, лактофенол или лактофуксин. Лактофенол је најбољи: додаје му се метиленско плаво да појача боју, а део мицелијума са органима за размножавање се преноси у то помоћу езе. Овако обрађен препарат прекрива се микро покривним стаклом и пажљиво се загрева на умереној ватри да изађе мехур ваздуха; при томе се пажљиво компресује. Састав лактофенола: чисти кристални фенол 20 g, млечна киселина 20 g, глицерол 40 g, дестилована вода 20 g. Препарат се чува у смеђем суду.

ц) Глицерол желатин се користи за трајне препарате: дестилована вода 42 ml, глицерол 30 ml, желатин 7 g, фенол 1 g. За уоквиривање се може користити ацетонски лак или синтетички лак. Погодан је и DuNoyer-ов цемент (загревати 20 g анхидрованог ланолина на пешчаном купатилу 30 мин, а затим наставити загревање уз мешање ланолина са 80 g розина који се додаје у грудвицама). За наношење цемента може се користити дебела жица савијена у троугао: жица загрејана на високој температури полаже се на површину цемента који се топи и лако се наноси на ивице покривног стакла.

Мофолошке карактеристике

Инфекције које изазивају гљивице класе Oomycetes спадају међу најпознатије и најраспрострањеније микозе риба. Карактеристична особина по којој се Oomycetes разликују од других класа гљива је присуство покретних спора (зооспора) са две флагеле (пернате и глатке), које се развијају у зооспорангијама. У великом делу Oomycetes ово је главни начин несексуалне репродукције; други начини су преко хламидоспора и геме. Удруживање језгара непокретних гамета ствара спору дебелог

зида (ооспоре). Оомицете се такође разликују од већине гљива по томе што имају целулозу у својим зидовима. Осим тога, већина оомицета има диплоидно језгро када су у вегетативној фази. Све оомицете производе филаменте зване хифе које, за разлику од виших гљива, имају ограничен број септа. Групација хифа чини мицелијум.

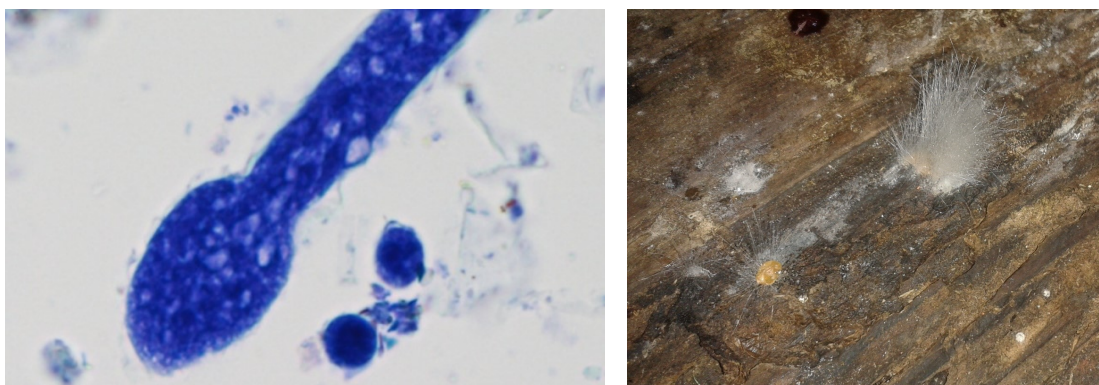
Класа Oomycetes се дели на четири реда: *Legenidiales*, *Perenosporales*, *Leptomitales* и *Saprolegniales*. Од тога, род *Pythium* из реда *Perenosporales*, род *Leptomitus* из реда *Leptomitales* и осам родова из реда *Saprolegniales* (*Achlya*, *Aphhanomyces*, *Calyptralegnia*, *Dictyuchus*, *Leptolegnia*, *Pythiopsis*, *Saprolegnia*, *Thraustotheca*) се сматрају најзначајнијим паразитским гљивицама риба. Најраспрострањеније врсте које паразитирају рибе укључују представнике родова *Achlya* и *Saprolegnia*, који ће бити детаљније обрађени у наставку.

Врсте рода *Saprolegnia* (Слика 8) имају две врсте зооспора. Примарна зооспора, која има облик зрна са флагелама на крају, енцистира кратко након напуштања зооспорангијума. Тада циста може угинути и произвести мицелијум или формирати секундарну зооспору у облику бубрега са бочним флагелама: перната ће бити усмерена напред, а глатка назад. Секундарна зооспора живи дуже и такође формира цисту. Циста може пролиферирати због формирања мицелија или може произвести секундарну зооспору.

Инфекција риба сапролегнијом, јавља се у свим водама широм света и једна је од најраспрострањенијих болести копнених риба како у језерима тако и у водотоцима. Болест избија тамо где су присутни патогени сојеви: одсуство сапролегнијаза се приписује одсуству патогених сојева. Споре најлакше и најчешће продиру у тело рибе када је оштећена површина коже или шкрге (механички, паразитарном или бактеријском инфекцијом) и када је риба слаба, неспособна да производи супстанце које би је заштитиле. Код салмонида осетљивост на сапролегнијазу је изазвана излагањем стресу: стрес подиже ниво кортикостероида у крвној плазми, потискујући тако инфламаторну реакцију и подстичући катаболизам протеина, регулисан кортикостероидима. У завршној фази то доводи до дефицита протеина, што заузврат доводи до атрофије скелетних мишића и супресије синтезе колагена. Недостатак колагена доводи до лоше регенерације лезија на кожи.

Лабораторијска дијагностика реда *Saprolegniales* се врши након рутинске изолације на уобичајеним агарним подлогама (крвни агар, Ордалов агар). Чиста култура гљивица без бактерија се добија методом поновљеног тапкања, пожељно на

агар медијум са екстрактом грашка или на агару слатких сирупа. Врсте се најбоље идентификују у води од конопље након инкубације културе на 18–20°C. Други поступак који се може применити је да се од оболеле рибе или икре узме комад мицелијума и стави у стерилне Петријеве посуде са стерилном дестилованом водом где се додају стерилисано преполовљено семе конопље. Гљиве почињу да расту два до три дана касније. Прање и преношење у стерилну воду се понављају много пута да би се узастопно добила макрокултура мање или више без бактерија. Врсте гљива се затим дијагностикују према морфологији хифа и репродуктивних органа. Сапролегније се фиксирају мешавином 90% алкохола (94 дела) и 40% формалдехида (6 делова) [1].



Слика 8 - Споре и хифе *Saprolegnia parasitica* обојене лактофенол плавом бојом/изглед *S.parasitica* хифа на захваћеној икри калифорнијске пастрмке [1]

Молекуларна дијагностика

Молекуларна дијагностика је поузданија метода и извршава се на бржи и лакши начин него морфолошка. То је идентификација која је заснована на молекуларном баркодирању, на основу кратких стандардизованих фрагмената геномске ДНК. Значајна молекуларна метода је свакако *PCR* [13].

3.3. БРАНХИОМИКОЗА

Бранхиомикоза је гљивично обољење риба које се, пре свега, односи на шарана, дивљег и рибњачког, њихове хибриде, караша, лињака и штуке, а понекад и пастрмке. То је акутно гљивично обољење чији је други назив *трулеж шкрга* [1].

Када говоримо о бранхиомикози, потребно је да се осврнемо на степен угинућа рибе, који је знатан, али осим тога, економски значај такође игра велику улогу. Због тога је контрола и ових гљивичних обољења веома битна, као што је то случај и са гљивицама из рода *Saprolegnia*.

За појаву гљивичних обољења су кључни фактори који се односе на квалитет воде у којој риба борави. Фактори који су значајни за бранхиомикозу су :

- Температура воде
- Кисеоник
- Азотни отпад
- Бактерије и други патогени који могу пореметити резултате биолошке анализе воде и њихово тумачење

Посебно је потребно обратити пажњу на температуру воде, коришћење органских ђубрива и висок ниво азотних материја у води [14].

Узрочници бранхиомикозе риба су *Branchiomyces sanguinis* и *Branchiomyces demigrans* [1]. Промене које изазивају су приказане на слици 9.



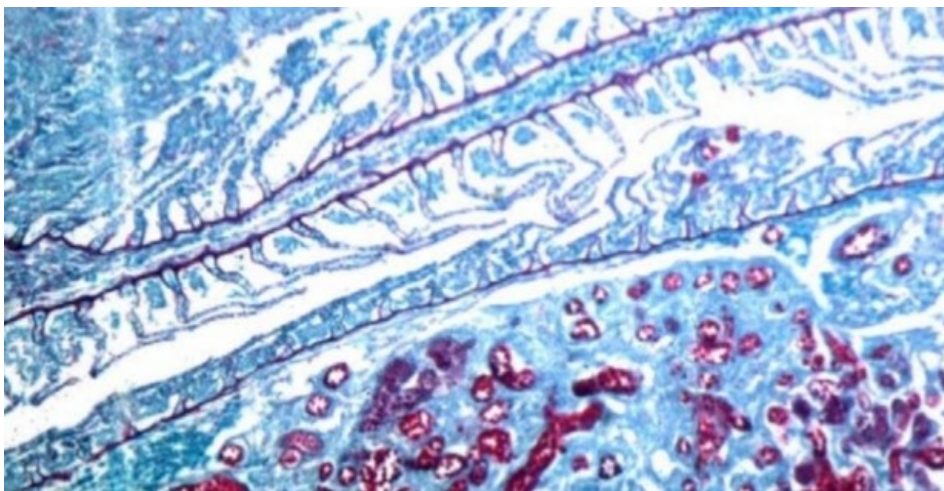
Слика 9 – Приказ трулежи шкрга шарана са бледим и некротичним деловима на примеру 1 и 2 [15]

3.3.1. ЕТИОЛОГИЈА И ЕПИЗООТИОЛОГИЈА БРАНХИОМИКОЗЕ

Бранхиомикоза је обољење које изазивају гљивице *Branchiomyces sanguinis* и *Branchiomyces demigrans*. Јавља се најчешће у Европи, а регистровано је и на нашим рибањацима. Обољење се јавља у топлијим пределима, у летњем периоду када је температура воде преко 20°C [1].

Ова гљивична инфекција избија у виду епизоотија² на рибањацима где се риба слабо храни, где је слаб проток воде и стога је вода оптерећена великом количином органске материје. Као главни фактори за настанак обољења се наводе : висока температура воде (преко 20°C), низак ниво раствореног кисеоника у води, висок ниво азотних материја, цветање алги, велика густина насељености риба, ниска *pH* вредност воде 5.8-6.5. [1,17].

Хистолошки преглед шкржних филамената инфицираних риба показује пролиферацију хифа (Слика 10). Пречник хифа *Branchiomyces sanguinis* је 8 – 20 микрометара, а пречник спора 5 – 9 микрометара. Пречник хифа *Branchiomyces demigrans* је 13-14 микрометара, а може бити и до 22-28 микрометара. Пречник спора му је око 12 – 17 микрометара. На тај начин можемо разликовати ове две гљивице.



Слика 10 – Хистолошки приказ пресека шкрга са бранхиомикозом обојен *PAS* техником, хифе и споре су приказане црвеном бојом [18]

Инфекција бранхиомикозом се највероватније одвија воденим путем и ограничена је на шкрге, шкржне крвне судове и капиларе, где се наводи да *Branchiomyces sanguinis*

² Појава веома брзог ширења заразне болести међу животињама.

изазива инфекцију шкржних капилара, а да *Branchiomycetes demigrans* инфицира и парехним шкрга.

На почетку спорулације хифе садрже плазмодије са више једара, које се развијају у ћерке плазмодије. Завршна фаза ћелијске деобе даје споронт који је испуњен спорама. Споре се ослобађају из некротичних шкрга и остају у води или падају на дно. Епизоотија напредује брзо и доводи до угинућа у великом броју [18].

3.3.2. КЛИНИЧКА СЛИКА БРАНХИОМИКОЗЕ

Бранхиомикоза или трулеж шкрга је гљивично обољење акутног тока са високим бројем угинућа слатководних риба.

У почетку болести, када споре гљивица продиру у крвне судове шкржних листића, на шкргама се јављају тачкаста крварења. Касније се гљивице умножавају у унутрашњости крвних судова, што у неким деловима доводи до стазе крви, анемије, или потпуне исхемије, па шкрге добијају мрамораст изглед (Слика 11). Као последица исхемије, настаје некроза [1].



Слика 11 – Трулеж шкрга шарана, на слици су приказана крварења и бледа подручја у шкржним листићима [18]

Као последица некрозе долази до отпадања појединих делова шкрга и то од базе шкрга, па оне изгледају као да су исечене маказама (Слика 12).



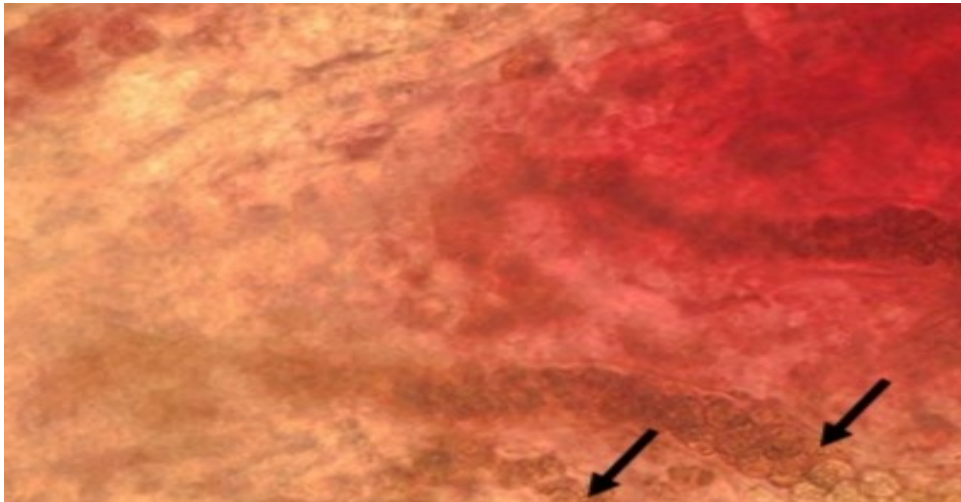
Слика 12 – Приказ некрозе шкрга као последица бранхиомикозе [18]

Губици који настају као последица овог обољења су знатни и износе 20 – 70 посто [1].

3.3.3. ДИЈАГНОСТИКА БРАНХИОМИКОЗЕ

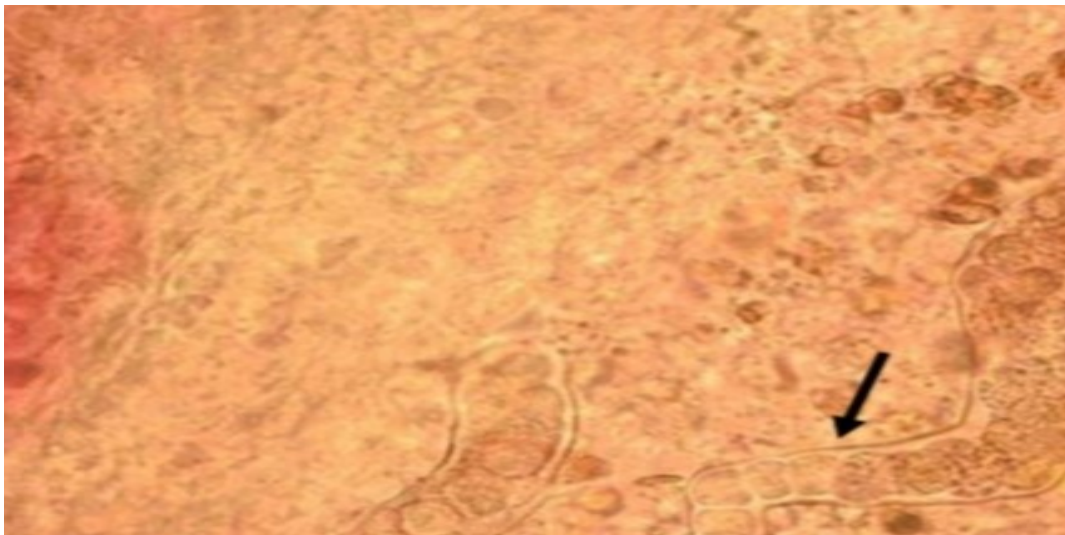
Дијагностиковање бранхиомикозе, односно трулежи шкрга, код слатководних риба свакако започиње јасном клиничком сликом. Јављају се карактеристичне промене на шкргама у виду тачкастих крварења, исхемије и некрозе, где последично може доћи и до отпадања делова шкрга.

Да би се потврдило обољење потребно је урадити детекцију оомицета гљивице *Branchiomycetes*, где се виде споре у васкуларном систему шкрга и шкржном паренхиму. У случају сумње да се ради баш о овом обољењу, раде се технике бојења ткива – PAS техника или бојење сребром.



Слика 13 – Стрелицама су означене хифе гљивице *Branchiomyces* [18]

Branchiomyces се може култивисати, али не постоје серолошке или молекуларне методе које би потврдиле, односно идентификовале изолате. Због тога микроскопски и хистопатолошки преглед којима се идентификује гљивица представљају кључан део дијагностике гљивице (Слике 13 и 14), а култивација се не ради [18].



Слика 14 – Стрелицама су означене споре гљивице *Branchiomyces* [18]

3.4. ЗНАЧАЈ ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА

Значај гљивичних обољења слатководних риба се огледа у томе што је аквакултура грана привреде са великим годишњим растом на светском нивоу, који је дуго износио 9.6 %. Један од главних лимитирајућих фактора за даљи раст и развој аквакултуре су свакако обољења риба, како бактеријске, вирусне и паразитске етиологије, тако и гљивичне.

У републици Србији се највише гаје рибе из фамилије Cyprinidae и Salmonidae. Највећи изазов, што се тиче гљивичних обољења слатководних риба у Србији, јесте контрола сапролегниозе, док бранхиомикоза шарана и ципринида представља нешто мање значајну инфекцију риба. За сапролегниозу је неопходно нагласити да су узрочници болести гљиве из рода *Saprolegnia*, а најчешће *S. parasitica*, које спадају у фамилију *Saprolegniaceae*:

- Већина врста су сарпофити и присутне су у воденом окружењу (вода, седимент) и сматрају се опортунистичким патогенима;
- Нападају рибу тек након повреде или бактеријских и паразитских инфекција;
- Само неке врсте као што је *S. parasitica* могу изазвати системску микозу и сматрају се примарним патогенима [1]

S. parasitica представља озбиљан проблем у расту аквакултурне индустрије. Сапролегнијаза изазвана *S. parasitica*-ом утиче на аквакултуру и јаја за инкубацију. *Saprolegnia parasitica* је економски један од важнијих патогена салмонидних риба, попут лососа и пастрмке, те узрокује десетине милиона долара губитка у аквакултури у целом свету, посебно у Шкотској, Скандинавији, Чилеу, Јапану, Канади и САД [19].

Економски значај гљивичних обољења је изузетно велик и сматра се да само бактеријска обољења риба предњаче у односу на гљивична. Рибље микозе спадају у обољења која се тешко превенирају и лече, посебно у интензивном узгоју риба. Потребно је обратити пажњу на многе факторе средине који могу допринети појави обољења. Стога нам контрола ових обољења представља изазов, али уз одговарајуће биосигурносне мере, гљивична обољења се могу држати под контролом [20].

Генерално, треба радити на активном надзору и адекватно планирати стратегије за контролу болести које се доминантно базирају на биосигурносним

мерама и контролисаној употреби антимикотика и препарата који ефикасно делују на гљивице, а дозвољене су за употребу у аквакултури.

3.5. КОНТРОЛА ГЉИВИЧНИХ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА

Многи елементи играју кључну улогу у контроли гљивичних инфекција риба. Од набавке матица и вештачког мреста, биосигурносне мере и др. Сапролегниоза и бранхиомикоза су најчешће гљивичне инфекције и потребно је са посебном пажњом обухватити све мере како би се спречила инфекција.

Биосигурносне мере свакако су неизоставне када говоримо о превентиви, а нарочито дезинфекција која укључује употребу различитих препарата у зависности од објеката и врсте риба које се гаје. Генерално, треба радити на активном надзору и адекватно планирати стратегије за контролу болести које се доминантно базирају на биосигурносним мерама и контролисаној употреби антимикотика и препарата који ефикасно делују на гљивице, а дозвољени су за употребу у аквакултури.

3.5.1. ПРЕВЕНТИВНЕ МЕРЕ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ОБОЉЕЊА СЛАТКОВОДНИХ РИБА

Основни задатак здравствене заштите риба је спровођење хигијенско-санитарних мера у циљу спречавања појаве болести. Већ у току планирања гајења риба, потребно је осврнути се на:

- утврђивање локације за узгој рибе
- омогућавање потпуног исушивања воде из објекта за гајење
- утврђивање повољног квалитета воде за пуњење рибњака
- онемогућење уласка коровске рибе приликом узимања воде из реципијента
- одржавање рибњака без вишег воденог биља
- постављање решетки и филтера на улаз воде у рибњачке објекте

Када је избор локације у питању, он подразумева и обезбеђење довољних количина воде повољног квалитета у смислу основних физичко-хемијских параметара. Објекте за мрест и гајење младунаца пожељно је лоцирати на таква места где се може користити изворска или бунарска вода.

Извршиоци радова на машинама треба да направе такав пад терена да се са дна рибњака вода може у потпуности испустити. Потпуно исушивање рибњака уз постављање решетки и мрежа при уласку воде у рибњак је једини ефикасан начин смањења коровских риба у рибњаку.

За квалитетан узгој рибе је неопходно организовати простор који ће се користити за дезинфекцију рибарских базена, мрежа и алата који се користе у току рибарске производње. У току овог вида производње, у пракси се често дешава да људи позајмљују рибарски алат са једног рибњака на други, што је изузетно непожељно због могућности преноса заразних болести.

У мере за сузбијање обољења слатководних риба, свакако спада и избор матичног материјала. Само насађивањем младунаца доброг квалитета и повољног здравственог стања можемо обезбедити добре резултате у гајењу рибе.

У току узгоја рибе неопходно је пратити и одржавати у оптималним границама физичко-хемијски састав воде при чему се највећа пажња посвећује :

- количини раствореног кисеоника
- концентрацији водоникових јона
- концентрацији амонијака и других азотних једињења
- концентрацији угљен диоксида

Дезинфекција је најосновнија мера за сузбијање обољења. Њен циљ је да смањи број и уништи узрочнике који су одговорни за појаву болести. Дезинфекцију је потребно спроводити као текућу дезинфекцију базена са рибом која се на шаранским рибњацима спроводи применом гашеног, негашеног и хлорног креча, док се при гајењу пастрмки примењује и профилактичка дезинфекција после сваког циклуса гајења риба, као и завршна дезинфекција после санирања заразних и паразитских инфекција [1].

До поремећаја здравственог стања рибе долази и приликом лоше избалансиране исхране, или приликом лошег складиштења хране за рибе. Неприкладно складиштење хране за рибе нарушава њену хранљиву вредност у смислу разградње протеина, витамина, масти, а долази и до повећања масно-киселинског степена које доводи до потпуне неупотребљивости. Неадекватна избалансираност хране, дефицит есенцијалних аминокиселина, минерала, витамина, огледа се у лошој кондицији и општем слабљењу отпорности организма рибе [1].

3.5.2. КОНТРОЛА САПРОЛЕГНИОЗЕ

Сапролегниоза је гљивична инфекција коју карактеришу видљиве беле или сиве промене у виду влакнастог мицелијума на телу или перајима слатководних риба. Да би се обољење контролисало на квалитетан и поуздан начин потребно је обратити пажњу на бројне мере које се постижу :

- Квалитетним узгојним методама
- Избегавањем повреда риба
- Спровођењем санитарно-дезинфекционих мера
- Спровођењем купки рибе у свим фазама производње
- Спровођењем адекватне терапије уколико дође до обољења

Ове мере нам указују на то да су гљивице рода *Saprolegnia* сапрофити присутни у воденом окружењу и сматрају се опортунистичким патогенима који нападају рибу тек након повреде или бактеријских и паразитских инфекција. Само неке врсте, као што је *Saprolegnia parasitica* могу изазвати примарну системску некрозу [21].

Гљивичне болести риба, а нарочито из рода *Saprolegnia*, као што је већ познато, представљају битан фактор у слатководној аквакултури. Због тога је неопходно спровођење мера контроле за њено сузбијање, а те мере ће бити описане прегледом доступне литературе и добијањем експертских мишљења.

3.5.2.1. ТЕРАПИЈСКЕ МЕРЕ У КОНТРОЛИ САПРОЛЕГНИОЗЕ

Најефикасније средство у контроли гљивица из рода *Saprolegnia* је малахнит зелено, међутим због тератогеног и канцерогеног ефекта његова употреба је забрањена. Формалин је такође средство које се може користити у контроли ових гљивица. Мана код формалина је свакако његово штетно дејство на околину и особље које га користи. Радници не би требали да удишу или да им је кожа у контакту са овим средством. Калијум перманганат се може користити, али је токсичан у води са високим *pH* вредностима, јер може доћи до стварања манган диоксида и његовог последичног таложења на шкргама риба. Калијум перманганат и формалин се никако не смеју мешати. Водоник пероксид представља препарат који је врло погодан за употребу када је сапролегниоза у питању, са минималним утицајем

на животну средину. Натријум хлорид у концентрацији од 15 g/l је леталан за гљивице из рода *Saprolegnia* [1].

У табели 1 приказани су препарати који се користе или су се користили при узгоју слатководних риба. Међу њима су и препарати који ефикасно делују на сапролегниозу. Поред назива препарата, приказани су начин примене, доза и индикација за њихово коришћење.

Табела 1. Превентивне и терапијске мере у узгоју мекоусне пастрмке [19]

Препарат	Начин примјене	Доза	Индикација
		Икра	
Formaldehid p.a.	Купка	1670 ml/m ³ у трајању од 15 минута, сваки 2-3 дан	Сапролегниоза икре
Кухињска со, NaCl	Купка	1% у трајању од 30 минута, сваки 2-3 дан	Сапролегниоза икре
Јод (Jodogal)	Купка	50mg/l јода у трајању 30-60 мин, икра након оплодње	Вирусн, бактеријске болести
		Млађ	
Formaldehid p.a.	Купка	250ml/m ³ у трајању 30-60 минута	Ектопаразити, сапролегниоза
Benzalkonijev hlorid (Omnisan V5%)	Купка	100ml/m ³ у трајању 30-60 мин	Бактеријске инфекције шкрга
Seknidazol 500mg	Перорално (путем хране)	250mg/kg хране, три дана заредом	Цријевни ендопаразити

Кухињска со, NaCl	Купка	1-8% у трајању 15-30 минута	Ектопаразити, сапролегниоза
Кухињска со, NaCl	Купка	3-5% у трајању до 60 минута	Транспорт
		Матице	
Formaldehid p.a.	Урањање	3% трајању од 15 секунди	Ектопаразити, сапролегниоза

Формалин је препарат у виду воденог раствора који садржи приближно 37% формалдехида. Његова примена у аквакултури је значајна и користи се за контролу гљивичних инфекција слатководних риба. Иако одличан као дезинфекционо средство које смањује гљивичне инфекције, употреба формалина је због штетног утицаја на околину и особље које га користи у већини земаља, укључујући и Србију забрањена [1,22]. Формалдехид се за икру користи у виду купке, 1670 ml/m^3 у трајању од петнаест минута сваки други до трећи дан. Када је у питању млађ, такође се користи у виду купке, али у концентрацији од 250 ml/m^3 у трајању од тридесет до шездесет минута. Матице се урањају у 3 % раствор у трајању од 15 секунди [19]. Штетност формалдехида се огледа у утицају на животну средину, јер су речни и језерски системи веома осетљиви и на минималне промене у хемијском саставу, а како рибањаци утичу на њих, лако може доћи до уништавања биљног и животињског света у њима [23]. Када је у питању штетно дејство формалдехида на људе, и особље које га користи у аквакултури, сумња се да ово средство има канцероген ефекат [24].

Натријум хлорид смањује сапролегниозу, што је доказано и експериментално и практично [24]. Он се користи у концентрацији од 1% у виду купке, када је у питању рибља икра, и то у трајању од тридесет минута, сваки други до трећи дан. За млађ се користи у виду купке у концентрацији од 1-8 % у трајању од 15 до 30 минута [19].

Водоник пероксид је оксидационо средство које је ефикасно у сузбијању вируса, бактерија, квасаца, спора гљивица и потенцијални је фунгицид, односно погодан је за спречавање гљивичних инфекција слатководних риба. Водоник пероксид има двоструко дејство. Може се користити као антисептик, али и као механички чистач, јер помаже у одстрањивању распаднутог ткива. Када су у питању

гљивице из рода *Saprolegnia*, многи аутори су потврдили да је водоник пероксид одличан избор за профилаксу и третман риблије икре. Изложеност здраве икре профилактичком третману у трајању од 15 минута, сваки други дан, у концентрацији од 250 – 500 ml/m³ доводи до сузбијања гљивичне инфекције, односно спречавања њене појаве.

Међутим, када је процентуално 10 % икре већ заражено, онда је изложеност при концентрацији од 1000 ml/m³ неопходна како би се инфекција сузбила. Комерцијална средства за сузбијање гљивичних инфекција која садрже водоник пероксид се налазе у продаји са 20 % водоник пероксида и 5 % персирћетне киселине. Ова средства су се показала као ефикасна у сузбијању гљивица у дози од 1000 mg/m³, при изложености икре током 60 минута. Ова супстанца има токсично дејство када се користи за сузбијање гљивица код пастрмке при дози од 250 mg/m³ [25].

Супстанце и препарати који садрже бакар користе се за терапеутске купке риба, иако имају токсично дејство у воденој средини. CuSO₄ x 5H₂O се најчешће користи за сузбијање неких гљивичних, паразитских и бактеријских болести риба. Користи се у облику купке за потапање (концентрација 0,5 g по литру, излагање 1 минут), а добри резултати се такође постижу када се хемикалија нанесе на проточни резервоар.

Још једна супстанца која се користи за третман риба против паразита је бакар у облику оксихлорида [3Cu(OH)₂CuCl₂.H₂O]. Препарати на бази бакар оксихлорида укључују Куприкол 50, који садржи најмање 47,5% активног састојка. Користи се у концентрацији од 30–70 mg по литру 15–30 мин за лечење шарана и амура. Код осталих риба терапијска доза Куприкола 50 је на нивоу леталних концентрација. За убијање водених мекушаца, Куприкол 50 се користи у количини од 15-30 kg по ha (ако је просечна дубина језера 1 m).

На терапеутску ефикасност CuSO₄ x 5H₂O и бакар оксихлорида, као и на њихову токсичност за рибе, значајно утичу физичка и хемијска својства воде (Табела 2), нарочито алкалитет [26].

За контролу сапролегнијазе на икри код каналског сома: додати 10 mg/l бакар сулфата за проточну воду која се користи у лежионицама једном дневно док ембриони (јаја) не развију очи; проток треба да омогући 1 замену сваких 30 минута.

Табела 2. Терапијске концентрације бакар сулфата у води са различитим алкалитетом (mg/L=ppm) [26]

Алкалитет воде (mg/L)	Третман (mg/L)
0-49	Не треба третирати
50-99	0.50-0.75
100-149	0.75-1.00
150-199	1.00-2.00
200+	Неефикасан, таложиће се као CuCO_3

3.5.3. ТЕРАПИЈСКЕ МЕРЕ У КОНТРОЛИ БРАНХИОМИКОЗЕ

Хигијенске мере и одржавање квалитета воде су фактори који највише доприносе спречавању појаве обољења на шаранским рибањацима. Ове мере су већ поменуте у поглављу о профилактичким мерама, али оно што је битно напоменути када је бранхиомикоза у питању је свакако закречавање воде кречом и плавим каменом, те спречавање воденог биља и алги [1].

Уколико се обољење јави, престаје и узгајање рибе у целокупном рибању. Рибањак се празни, суши, механички чисти и дезинфикује кречом. Рибе које су угинуле услед бранхиомикозе се посебно закопавају у јаме испуњене кречом. Рибе које су биле у додиру са узрочником су преносиоци обољења, и никако се не смеју доводити у додир са здравим јединкама или транспортовати са њима [27].

Када је бранхиомикоза у питању, дезинфекција и превентивне мере су кључне како би се спречила појава обољења. Коришћење калијум перманганата у виду раствора има јака оксидациона својства, али је раствор јако нестабилан и припрема се непосредно пред употребу. Он је светло ружичасте боје. Ослобађањем кисеоника, он делује као дезинфекционо средство.

У случају превенције бранхиомикозе могу се користити купке које се користе при превенцији сапролегниозе [28].

Хлор и јод су халогени елементи са антисептичким дејством. Имају широк спектар деловања и сматра се да по јачини деловања на скали од 1 – 4, у растућој

скали где би број 1 представљао најслабије дејство, а број 4 најјаче, њихово деловање на гљивице у односу на ову скалу је 3. Формалдехид би свакако био дезифицијенс избора када су гљивице у питању са јачином деловања од 4. Хлор је јако оксидационо средство и јако је токсичан анисептик. Његова токсичност се регулише применом мањих концентрација. Хлор са органским материјама ствара хлорамине који се везују за аминок групе протеина. Хлорамини су благи антисептици који споро ослобађају хлор. Хлорамини се користе за дезинфекцију воде. Јод је оксидационо средство које има слабије дејство од хлора. Јод делује антисептички, али има и надражајно дејство на кожу [29].

4. ЗАКЉУЧАК

На основу консултоване и прегледане литературе могу се извести следећи закључци:

1. Један од главних лимитирајућих фактора за даљи раст и развој аквакултуре су болести риба, укључујући болести гљивичне етиологије.
2. Када узмемо то у обзир, свакако да ће одговарајућа терапија, а пре свега превентива и добра хигијенска пракса имати велики значај у гајењу рибе.
3. Један од најзначајнијих препарата који се користи у аквакултури за терапију и контролу гљивичних инфекција је бакар сулфат у виду купки, али треба водити рачуна о алкалитету воде и примењеним концентрацијама препарата.
4. У мрестилиштима, нарочито код икре пастрмки се ефикасним показала примена водоник пероксида, потапањем у купке у трајању од 15 до 30 минута.
5. Неопходно је повећати број студија чији су предмет истраживања гљивице које испољавају штетно дејство на организам слатководних риба, јер када разумемо њихову физиологију и патогеност, лакше ћемо открити и ефикасну терапију, која још увек није на завидном нивоу, поготово у случају бранхиомикозе.
6. Контрола гљивичних инфекција ће свакако допринети даљем развоју аквакултуре, а тиме и смањити економске губитке који су значајан фактор у овој индустрији.

5. ЛИТЕРАТУРА

1. Novakov N, Radosavljević V, Ćirković M. Bolesti slatkovodnih riba. Novi Sad: Poljoprivredni fakultet; 2015.
2. Bruno DW, Wood BP. Saprolegnia and other Oomycetes. In Fish Disease and disorders, Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal infections. Edited by PTK. Woo and DW Bruno. CABI publishing, Walling ford, Oxon, U.K. 1999; 599-659.
3. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1749461322000094>
4. Kamoun S. Molecular genetics of pathogenic oomycetes. *Eukaryotic Cell* 003; 2(2):191–9.
5. Phillips AJ, Anderson VL, Robertson EJ, Secombes CJ, Van West P. New insights into animal pathogenic oomycetes. *Trends in Microbiology* 2008; 16:13-9.
6. Van West P. Saprolegnia parasitica, an Oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem. *Mycologist* 2006; 20:99-104.
7. Molina FI, Jong S, Ma G. Molecular characterization and identification of Saprolegnia by restriction analysis of genes coding for ribosomal RNA. *Antonie van Leeuwenhoek* 1995; 68(1):65-74.
8. Willoughby LG, Pickering AD. Viable Saprolegniaceae spores on the epidermis of the salmonid fish *Salmo trutta* and *Salmo alpinus*. *Transactions of the British Mycological Society* 1977; 68: 91-5.
9. Beakes GW, Bartinicki-Garcia S. Ultrastructure of mature oogonium-oospore wall complexes in *Phytophthora megasperma*: a comparison of in vivo and in vitro dissolution of the oospore wall. *Mycological Research* 1989; 93:321-34.
10. Chivers DP, Wisenden BD, Hindman CJ, Michalak TA, Kusch RC, Kaminskyj SG, et al. Epidermal 'alarm substance' cells of fishes maintained by non-alarm functions: possible defence against pathogens, parasites and UVB radiation. *Proceedings of the Royal Society of Biological sciences*, 2007; 274(1625):2611–9.
11. Noga EJ. Water mold infections of freshwater fish: recent advances. *Annual Review of Fish Diseases* 2016; 9:291-304.
12. Sačar M. Genetička analiza izolata oomiceta iz ribnjaka pastrmke. Zagreb: Prehrambeno biotehnološki fakultet. 2020.
13. Noga EJ. Fish disease: diagnosis and treatment. 2nd ed. Iowa State University Press Ames. 2010.

14. Ali EH. Morphological and biochemical alternations of Oomycetes fish pathogen *Saprolegnia parasitica* as affected by salinity, ascorbic acid and their synergistic action. *Mycopathologia* 2005; 159(2):231-43.
15. Khalil HR, Saad TT, Abo Selema AMT, Abdel-Latif MRH. *Branchiomyces demigrans* infection in farm-reared common carp (*Cyprinus Carpio L.*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different localities in Egypt, with special emphasis to the role of environmental stress factors. *International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries (IJISABF)* 2015; 1:15-23.
16. Ramaiah N. A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and corals. *Indian Journal of Marine Sciences* 2006; 35:380–7.
17. Post G. Textbook of fish health. TFH Publications, Neptune City, New Jersey, 1983; 256.
18. Goodwin A. Branchiomycosis. University of Arkansas at Pine Bluff, Aquaculture, Fisheries Center 2012.
19. Shin S, Kulatunga DCM, Dananjaya SHS, Nikapitiya C, Lee J, Zoysa MD. *Saprolegnia parasitica* isolated from rainbow trout in Korea: characterization, antisaprolegnia activity and host pathogen interaction in zebrafish disease model. *Micobiology* 2017; 45:297-311.
20. Meyer FP. Aquaculture disease and health management. *Journal of Animal Science* 1991; 69:4201-8.
21. Mrakovčić M, Brigić A, Buj I, Čaleta M, Mustafić P, Zanela D. Crvena knjiga slatkovodnih riba Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, 2006.
22. Cline TF, Post G. Therapy for trout eggs infected with *Saprolegnia*. *Progressive Fish Culturist* 1972; 34:148-51.
23. Forneris G, Bellardi S, Palmegiano GB, Saroglia M, Sicuro B, Gasco L, Zoccarato I. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture* 2003; 221:157-66.
24. Stuart NC. Treatment of fish disease. *Veterinary Record* 1983; 112:173-7.
25. Marking LL, Rach JJ, Schreier TM. Evaluation of antifungal agents for fish culture. *Progressive Fish Culturist* 1944; 56: 225-31.
26. Novakov N. Bolesti riba i akvatičnih organizama - praktikum. Novi Sad: Poljoprivredni fakultet; 2022.
27. Leaño EM. Fungal diseases. In Health Management in Aquaculture. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 2001; 43-53.
28. Francis-Floyd R, Klinger R. Use of potassium permanganate to control external infections of ornamental fish. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS. 1997.
29. Jezdimirović M. Veterinarska farmakologija, 4. dopunjeno izdanje. Beograd: Fakultet veterinarske medicine, 476-477. 2010.