اثرسمیت غذای آلوده به آفلاتوکسین B_1 بر رشد، بازماندگی و برخی آنزیم‌های کبدی بچه ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*)

جلیل جلیل پور*[۱]، حبیب وهاب زاده رودسری[۱]، ابوالفضل سپهداری[۲]، ذبیح الله پژند[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۳- ۱۴۱۵۵

۳ - موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۴۶۴- ۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: ۲۳ تیر ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۱۵ مهر ۱۳۹۲

چکیده

آفلاتوکسین‌ها مواد شیمیایی سمی هستند که به‌وسیله انواع قارچ‌ها (*Aspergillus flavus & Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوندکه بطورکلی به عنوان کپک شناخته می‌شوند. آفلاتوکسیکوزیس بیماری است که در اکثر انواع ماهیان بر اثر تغذیه از غذای آلوده به آفلاتوکسین‌ها ایجاد می گردند. این مطالعه جهت کسب اطلاعات کاربردی در ارتباط با تاثیرات آفلاتوکسین B_1 در موردگونه ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) انجام پذیرفت. بچه ماهیان ازون برون با میانگین وزن اولیه ۰/۱۲ ± ۷/۹۰ گرم پس از عادت دهی، با تراکم ۱۰ عدد در مخازنی با حجم ۵۰ لیتر در شرایط یکسان برای همه تیمارها در غلظت‌های پیش‌بینی شده با مقادیر ppb ۱۵۰۰، ۱۸۵۰، ۲۳۰۰، ۲۸۵۰و ۳۵۰۰ آفلاتوکسین B_1 ودو شاهد در۳ تکرار بررسی شدند. تغذیه بچه ماهیان در تیمارهای آزمایشی و شاهد تا پایان آزمایش روزانه در ۳ نوبت و به مدت ۵۶ روز انجام شد. نتایج نشان دادکه افزایش میزان غلظت سم (ppb۳۵۰۰و ۲۸۵۰) علاوه بر بروز تغییرات رفتاری، تاثیر معنی داری برکارایی شاخص‌های رشد و تغذیه شامل درصد افزایش وزن (bw%)، بیومس نهایی، ضریب چاقی(K)، رشد روزانه(GR) و نرخ رشد ویژه (SGR) داشت ($P<0/05$). همچنین بیش‌ترین میزان تلفات در تیمار حاوی بیش‌ترین غلظت سم (ppb۳۵۰۰) که از روز ۶ آغاز گردید مشاهده شد. پس از ۵۲ روز بچه ماهیان تغذیه شده با غذای حاوی ppb ۳۵۰۰ آفلاتوکسین B_1 درصد بازماندگی کمتری (٪۴۷/۵۰) را نسبت به تیمارهای ppb ۲۸۵۰ (٪۵۷/۵۰)، ppb ۲۳۰۰ (٪۶۵)، ppb ۱۸۵۰ (٪۸۰) و ppb ۱۵۰۰ (٪۹۳/۷۵) داشتند، در مطالعات فاکتورهای بیوشیمیایی خون با افزایش مقدار سم در غذا تغییرات و اختلاف‌های آماری در میزان آنزیم‌های کبدی ALP,ALT,AST مشاهده شد($P<0/05$).

کلمات کلیدی: ازون برون (*Acipenser stellatus*)، آفلاتوکسیکوزیس، رشد، بقا، آنزیم‌های کبدی.

* عهده دار مکاتبات (✉). tjalilpoor@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

مقدمه

آفلاتوکسیکوزیس بیماری است که در اکثر انواع ماهیان بر اثر تغذیه از غذای آلوده به آفلاتوکسین‌ها ایجاد شود. آفلاتوکسین ها مواد شیمیایی هستندکه به‌وسیله انواع قارچ‌ها (*Aspergillus flavus* & *Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوندکه بطورکلی به عنوان کپک شناخته می‌شوند. دانه‌های روغنی همچون تخم پنبه، بادام زمینی، ذرت، گندم، تخم آفتاب‌گردان، غذای ماهی و به طور کلی تمام غذاها می‌توانند به آفلاتوکسین‌ها آلوده شوند. چهار آفلاتوکسین اصلی شامل آفلاتوکسین‌های B_1، B_2 و G_1، G_2 می‌باشند وآفلاتوکسین B_1 یکی از قویترین آفلاتوکسین‌های عامل ایجاد کننده سرطان به طور طبیعی در حیوانات می‌باشد(مرتضوی، ۱۳۷۶). ازون برون (*Acipencer stellatus*) از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین گونه‌های تاسماهیان دریای خزراست که در آغاز قرن اخیر صید سالیانه آن بالغ بر ۱۰۸۰۰ تن بوده که در اثر صید نامعقول این مقدار به طور قابل ملاحظه‌ای افت کرده است. همچنین میزان استحصال خاویار از این ماهی در سال ۱۳۷۷به ۴۹۵۸۲ کیلوگرم تنزل یافته (غنی‌نژاد، ۱۳۷۴). استفاده از غذای مرطوب و ترکیبی طی دوره عادت دهی به غذای دستی، کاربرد مواد اولیه (گندم، تخم آفتاب گردان، سورگوم، ذرت، پودر ماهی و....) جهت ساخت غذا در مزرعه که اگر در شرایط نامناسب و غیر بهداشتی (دما و رطوبت بالا) نگهداری شوند، مکان مناسبی جهت رشد عوامل قارچی و تولید سم آفلاتوکسین می‌باشند. در این ارتباط و با توجه به استفاده روز افزون از غذاهای پلت تولید شده در داخل و یا خارج از کشور (وارداتی) توسط پرورش دهندگان ماهیان خاویاری، این غذاها می‌توانند به صورت اولیه و طی پروسه حمل ونقل و انبارش قبل از رسیدن به دست مصرف کننده و یا در دوره نگهداری و انبارش نا مناسب در مزرعه پرورشی آلوده و در زمان تغذیه باعث مسمومیت بچه ماهیان شوند. در داخل کشور پراکنش اطلاعاتی بسیار محسوسی وجود دارد و از جمله معدود تحقیقات انجام شده در آبزیان می‌توان به مطالعات Farabi (۲۰۰۶) در بررسی تاثیر غذای حاوی سم آفلاتوکسین B_1 بر فیل ماهیان جوان، Sepahdari (۲۰۱۰) در بررسی کمی و کیفی جراحت‌های پوستی، رشد و بازماندگی ناشی از مصرف خوراکی مقادیر مختلف آفلاتوکسین B_1 در فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) اشاره نمود. سوابق تحقیق در خارج از کشور بسیار گسترده و اطلاعات زیادی در خصوص تاثیرآفلاتوکسین B_1 در مورد بیشتر گونه‌های پرورشی ماهی شامل: قزل‌آلای رنگین‌کمان (Halver, 1969 ; Hendricks, 1994)، گربه ماهی کانالی (Lovel 1984; Jaantrarotai *et al*., 1990)، کپور معمولی (Svobodova *et al.*, 1982)، روهو (Sahoo and Mukherjee, 2001; Sahoo *et al* ., 2003) باس دریایی (El-Sayed *et al.*, 2009)، تیلا پیا (Abdelhamid *et al.*, 2007) سخت پوستانی نظیر (*Penaeus stylirostris*, *P. vanami* Lightner *et al.*, 1982) و میگوی سیاه ببری *P. monodon* (Boonyaratpalin *et al.*, 2001) موجود است. عدم وجود اطلاعات در ارتباط با تاثیرات آفلاتوکسین B_1 در مورد این گونه ایجاب نمودکه اطلاعات کاربردی ازاین دست در جهت موفقیت کامل در زمینه پرورش این گونه فراهم‌گردد.

مواد و روش‌ها

بچه ماهیان ازون برون پس از عادت دهی به غذای دستی با میانگین وزنی ۰/۱۲± ۷/۹۰ در ۷ تیمار و ۳

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

تکرار (دوشاهد و ۵ غلظت مختلف) در مخازنی با ابعاد ۳۵ ×۵۰ سانتی‌متر وحجم ۵۰ لیتر در یک سیستم با جریان ورودی و خروجی آب چاه مجهز به سیستم هوادهی و در شرایط یکسان برای همه تیمارها از نظر شرایط فیزیکی و شیمیایی و تحت کنترل نگهداری شدند.

یک میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) در ۱۰ میلی لیتر الکل متانول (Jantrarotai and Lovel, 1990; Jantrarotai *et al.*, 1990) حل شد و بر اساس میانگین وزن بدن ماهی غلظت‌ها تعیین و پس از محاسبه، غلظت‌های ۰/۷۵، ۰/۹۲۵، ۱/۱۵، ۱/۴۲۵، ۱/۷۵ میلی‌لیتر از محلول استوک ۱۰ میلی‌لیتر به هر کدام از تیمارها معرفی شدند. مقادیر ۱/۵، ۱/۸۵، ۲/۳، ۲/۸۵و ۳/۵ میلی‌گرم سم در کیلوگرم (ppm) (۰/۰۰۱ برابر ppb) با محاسبات لگاریتمی در نظر گرفته شد (فرمول ۱).

فرمول ۱: محاسبه لگاریتمی غلظت‌ها

$$x = \frac{\text{Log b} - Log\ a}{\text{n} - 1}$$

n= تعداد غلظت‌ها

b= غلظت نهایی

a= غلظت ابتدایی

مقادیر تعیین شده به جیره‌های آزمایشی بر اساس۲ درصد بیومس موجود در هر تیمارافزوده گردید. یک جیره فاقد آفلاتوکسین با عنوان شاهد منفی و یک جیره حاوی ۱ سی سی اتانول به عنوان جیره شاهد مثبت تعیین گردید (Raghavan *et al.*, 2011; Abdelhamid *et al.*, 2007). بخشی از جیره‌های آزمایشی و شاهد به منظورتعیین وتایید میزان سم جهت آنالیز به‌وسیله HPLC (به طریق کروماتوگرافی مایع با کارآیی عالی و خالص سازی با ستون ایمونوافینیتی) به آزمایشگاه همکار استاندارد علوم حیاتی فاروق ارسال و بر اساس استاندارد ملی ایران (شماره ۶۸۷۲، ۱۳۸۲) مقادیر سم موجود در غذا تعیین گردید. غذا دهی در تیمارهای آزمایشی و شاهد تا پایان آزمایش روزانه از ساعت ۱۶:۰۰ – ۰۸:۰۰ انجام شد (Raghavan *et al.*, 2011). دما، اکسیژن محلول و pH آب با استفاده از دستگاه اکسیژن متر و pH متر صحرائی (WTW-Multi 340I) در محل اندازه‌گیری شد.

با انجام زیست سنجی‌های انجام شده و با توجه به اطلاعات به دست آمده از طول و وزن ماهیان، میزان غذای مصرفی و زمان دوره پرورش و تشکیل بانک اطلاعاتی، محاسبات آماری شاخص‌های رشد، بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه وتعیین شد:

شاخص وضعیت (٪) (Shapawi *et al*., 2007)

$K = (BWF/ TL3) \times 100$

BWF = متوسط وزن نهایی(گرم)

TL = طول کل(سانتی متر)

درصد افزایش وزن بدن (Hung *et al.* 1989)

$\%BWI = 100 \times (BWf - BWi)/BWi$

BWI = متوسط وزن اولیه (گرم)

BWF = متوسط وزن نهایی (گرم)

نرخ رشد (Ronyai *et al*. 1990)

$G.R = (Wt - W0)/t$

W_t = وزن نهایی

W_0 = وزن اولیه

t = طول مدت پرورش

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

نرخ رشد ویژه (Ronyai *et al*. 1990)

$S.G.R = (\ln Wt - \ln W0)/t \times 100$

$L_n W_t$ = لگاریتم نپرین وزن نهایی

$L_n W_0$ = لگاریتم نپرین وزن اولیه

t = طول مدت پرورش

در انتهای دوره (روز ۵۲) از هرگروه تیماری ۱۲ عدد ماهی (از هر تکرار ۴ عدد) به صورت تصادفی خون گیری از سیاهرگ ساقه دمی به وسیله سرنگ‌های ۱ و۲ سی سی به عمل آمد. نمونه‌های خون به ویالی مجزا جهت بررسی فاکتور های سرمی خون منتقل گردید. قبل از خون گیری یک قطره هپارین برای جلوگیری از انعقاد خون به سرنگ‌ها اضافه شد. برای جلوگیری از فساد خون‌های گرفته شده تا رسیدن به آزمایشگاه نمونه‌ها را در یخچال نگهداری شدند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). جهت تعیین آلکالن فسفاتاز (ALP) از کیت شرکت پارس آزمون و با روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) استفاده شد. جهت اندازه گیری آنزیم های اختصاصی کبدی، آلانین آمینو ترانسفراز (ALAT) که قبلا با نام گلوتامیک پیروئیک ترانس آمیناز (GPT) نامیده می‌شد و آسپرتات آمینو ترانسفرز (ASAT) که قبلا با نام گلوتامیک اگزال استیک ترانس آمیناز نامیده می‌شد با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون از روش IFCC (فدراسیون بین المللی شیمی بالین و طب آزمایشگاهی) استفاده گردید.

کلیه آنالیزها و تحلیل‌های آماری توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷و رسم نمودارها از نرم افزارExcel ویرایش ۲۰۰۳ استفاده شد. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها علاوه بر آمار عمومی و توصیفی، از آزمون Shapiro-Wilk و رسم نمودار هیستوگرام استفاده گردید. جهت مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون چند وجهی دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

طبق آزمون Kolmogorov-Smirnov داده‌ها در تکرارها و تیمارها از توزیع نرمال برخورداربودند و بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway Anova) به منظور مقایسه میانگین وزن، طول و بیومس بچه ماهیان بین تیمارها و شاهد در بیومتری آغازین جهت تیماربندی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱).

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میانگین وزن و طول بچه ماهیان در تیمارها وشاهد درانتهای دوره اختلاف معنی‌دارآماری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). اما بر اساس نتایج حاصل میزان وزن و طول نهایی در تیمارها نسبت به شاهد ازروندکاهشی برخوردار بوده‌اند، به طوری‌که تیمار۴ و۵ که حاوی بالاترین میزان سم بوده‌اند دارای کمترین میانگین وزنی بودند (جدول۲) بر اساس نتایج میزان بیومس نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب چاقی و نرخ رشد ویژه بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده و در تیمار ۴ و ۵ کمتر از سایر تیمارها و شاهد بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید($P<۰/۰۵$) (جدول ۲).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

جدول ۱: مقایسه میانگین وزن ، طول و بیومس اولیه در تیمارهای مختلف و شاهد

تیمار	وزن اولیه(گرم)	طول اولیه (سانتی‌متر)	بیومس اولیه (گرم)
کنترل +	۷/۵۱ ±۰/۱۳	۱۴/۸۵ ±۰/۲	۷۵/۱۵ ±۱/۳۵
کنترل -	۷/۷۳ ±۰/۱۵	۱۴/۸ ±۰/۰۵	۷۷/۳۵ ±۱/۵۰
تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb)	۷/۷۸ ±۰/۱۷	۱۵/۵۱ ±۰/۵۲	۷۷/۸۸ ±۴/۷۸
تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb)	۸/۰۷ ± ۰/۰۵	۱۵/۷۶ ± ۰/۱۴	۸۰/۷ ± ۰/۵
تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb)	۸/۵۲ ± ۰/۱۲	۱۵/۸۳ ± ۰/۲۶	۸۵/۲۹ ± ۱/۲۳
تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb)	۸/۰۵ ± ۰/۱۲	۱۵/۱۰ ± ۰/۲۰	۸۰/۵۹ ± ۱/۶۴
تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb)	۷/۶۵ ± ۰/۰۵	۱۴/۷۷ ± ۰/۰۹۵	۷۶/۵ ± ۰/۵

جدول ۲: مقایسه میانگین عوامل رشد تیمارهای مختلف و شاهدها در انتهای دوره

تیمار	وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (سانتی متر)	بیومس نهایی (گرم)	درصد افزایش وزن	ضریب چاقی	نرخ رشد ویژه
کنترل +	۱۲/۰۴ ±۰/۰۶	۱۷/۶ ±۰/۱	۱۲۰/۴ ±۰/۶ ^{d}	۶۰/۲۵ ±۲/۰۸ ^{b}	۰/۲۲ ±۰/۰۰۴ ^{c}	۰/۹۰ ±۰/۰۲۴ ^{f}
کنترل -	۱۲/۱ ±۰/۳	۱۷/۸۲ ±۰/۲	۱۲۱/۴ ±۳/۱ ^{d}	۵۶/۹۲ ±۰/۹ ^{b}	۰/۲۲ ±۰/۰۰۱ ^{c}	۰/۸۶ ±۰/۰۱۱ ^{f}
تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb)	۱۱/۴ ±۰/۳	۱۷/۵۱ ±۰/۵	۱۱۴/۴۵ ±۱۰۱/۹ ^{cd}	۴۶/۸۰ ±۱/۴ ^{ab}	۰/۲۱ ±۰/۰۱ ^{bc}	۰/۷۳ ±۰/۰۱۸ ^{e}
تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb)	۱۰/۱ ± ۰/۲	۱۷/۸۳ ± ۰/۲	۱۰۹/۸ ± ۱/۸^{cd}	۳۶/۰۷ ± ۳/۰۷^{a}	۰/۱۹ ± ۰/۰۱^{ab}	۰/۵۹ ± ۰/۰۴۳^{d}
تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb)	۱۱/۳ ± ۰/۰۶	۱۷/۸۳ ± ۰/۰۴	۱۰۱/۸۸ ± ۰/۵^{bc}	۳۲/۷۶ ± ۲/۶^{a}	۰/۱۹ ± ۰/۰۱^{ab}	۰/۳۴ ± ۰/۰۳۷^{c}
تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb)	۱۰/۶ ± ۰/۲	۱۷/۸۶ ± ۰/۰۹	۸۵/۲۴ ± ۱/۵^{ab}	۳۲/۲۱ ± ۰/۴^{a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۱^{a}	۰/۱۰ ± ۰/۰۰۶^{b}
تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb)	۱۰/۳ ± ۰/۶	۱۷/۸۷ ± ۰/۰۲	۷۶/۹۱ ± ۰/۷^{a}	۳۴/۶۳ ± ۲/۷^{a}	۰/۱۸ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۰۱ ± ۰/۰۰۵^{a}

حروف غیر همنام در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دارآماری می‌باشد

میزان بازماندگی بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده است. نتایج نشان می دهدکه میزان بازماندگی در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته وکم‌ترین میزان بازماندگی درتیمار۵ مشاهده شده که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار با شاهدها وسایر تیمارها داشته است($P<۰/۰۵$)(جدول۳).

در ارتباط با روند تلفات، پس از ۸ هفته بررسی مشخص شدکه شاهدها تا پایان دوره هیچ گونه تلفاتی نداشتند تیمار۱ (۱۵۰۰ ppb) از هفته هفتم۱۰٪ تلفات، تیمار۲ (۱۸۵۰ ppb)از هفته چهارم تا هشتم ۲۰٪ تلفات، تیمار۳ (۲۳۰۰ ppb) از هفته سوم تا هشتم ۴۰٪ تلفات، تیمار۴ (۲۸۵۰ ppb) از هفته دوم تا هشتم۴۰٪ تلفات و تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb) از هفته اول تا هشتم۵۰٪ تلفات داشته است (شکل۱).

بر اساس نتایج به منظور مقایسه میزان الکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس‌آمیناز(ALT) وآسپارتات ترانس آمیناز (AST) در خون بچه ماهیان بین غلظت‌های مختلف سم آفلاتوکسین با شاهد انتهای دوره اختلاف معنی‌دارآماری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) و میزان آنزیم های مذکور خون بچه ماهیان در تیمارها با افزایش میزان غلظت افزایش یافته است و به لحاظ

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

آماری اختلاف معنی‌داری با شاهدها داشته‌اند (P<۰/۰۵) (جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه میانگین میزان بازماندگی تیمارها در پایان دوره

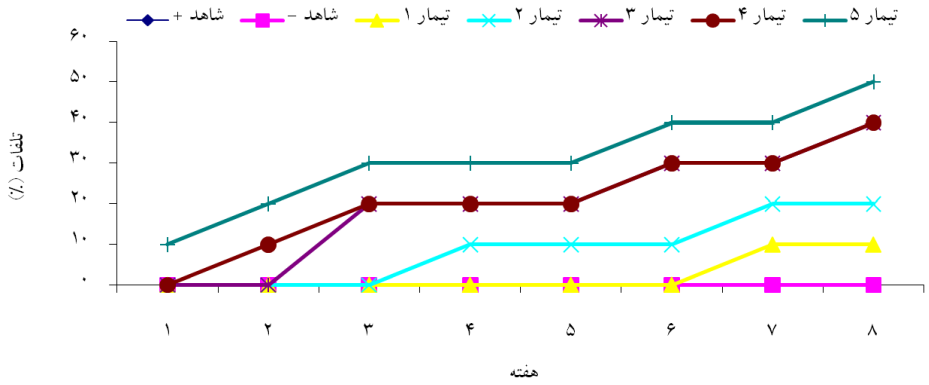
فاکتور	تیمار	خطای استاندارد ± میانگین
	کنترل +	۱۰۰ f
	کنترل -	۱۰۰ f
	تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb)	۹۳/۷۵ ±۱/۸ e
بازماندگی	تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb)	۸۰ ±۲/۷ d
	تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb)	۶۵ ± ۱/۹ c
	تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb)	۵۷/۵ ±۲/۵ b
	تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb)	۴۷/۵۰ ±۲/۵ a

حروف غیر همنام در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد

بحث

در بیومتری نهایی اختلاف معنی دارآماری بین میانگین وزن تیمارها با شاهد مشاهده نشد (P<۰/۰۵). اما بر اساس نتایج میزان وزن نهایی درتیمارها به لحاظ عملی نسبت به شاهد از روندکاهشی برخوردار بوده‌اند، به طوری‌که تیمار ۴ و ۵ به ترتیب با میانگین وزنی ۰/۱۸± ۱۰/۶۵ و ۰/۵۹± ۱۰/۲۹ که حاوی بالاترین میزان سم بودند دارای کمترین میانگین وزنی بوده‌اند. Cagauan و همکاران (۲۰۰۴) در تغذیه تیلاپیای نیل با غذای ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کپک زده اختلاف معنی داری را بین میانگین وزن نهایی گروه‌ها مشاهده نکردند. اما در تیمار حاوی ۱۰۰، ۵۰ و ۱۰ درصد میانگین وزنی کمتری نسبت به شاهد مشاهده‌کردند. همچنین Sepahdari و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودندکه تغذیه فیل ماهی پرورشی با غذای حاوی مقادیر ppb۱۰۰و ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۰ آفلاتوکسین B_1 پس از دو ماه اختلاف معنی‌داری آماری را با میانگین وزنی گروه شاهد نشان نداد اما کاهش وزن قابل تاملی را در تیمارهای حاوی مقادیر مختلف سم نسبت به شاهد مشاهده نمودند.

اگر چه میانگین وزن نهایی در تیمارها می‌تواند یک نمای کلی از وضعیت رشد به ما نشان دهد اما با توجه به اینکه محاسبه وزن نهایی در انتهای دوره حاصل جمع وزن بچه ماهیان موجود بر تعداد می‌باشد ممکن است در گروه‌های با تعداد متفاوت به میانگین‌های مشابهه رسید، لذا با نتایج حاصل از میانگین وزن نهایی نمی‌توان اطلاعات دقیقی در ارتباط با وضعیت رشد بچه ماهیان موجود استنباط نمود و با استفاده از سایر عوامل رشد مانند بیومس و درصد افزایش وزن نتایج دقیق‌تری حاصل خواهد شد.



شکل ۱: مقایسه میزان تلفات تیمارها در طول دوره

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

جدول ۴: مقایسه میانگین آنزیم های کبدی در خون بچه ماهیان بین غلظت‌های مختلف سم آفلاتوکسین با شاهد

تیمار	الکالین فسفاتاز ALP	آلانین ترانس آمیناز ALT	آسپارتات ترانس آمیناز AST
کنترل +	۲۴۷/۵ ± ۲/۵ [a]	۳ ± ۰/۵ [a]	۲۹۳ ± ۵/۵ [a]
کنترل -	۳۰۴ ±۶ [a]	۳/۵ ± ۰/۵ [a]	۳۲۵/۵ ±۳ [a]
تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb)	۴۷۳ ±۲۸ [c]	۵ ± ۰/۷ [ab]	۲۷۵ ±۴۰/۵ [a]
تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb)	۴۰۹ ±۱ [abc]	۴ ± ERR [ab]	۴۴۱/۵ ± ۱/۵ [b]
تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb)	۳۸۷/۵ ±۲/۵ [abc]	۳/۵ ± ۰/۵ [a]	۵۰۱/۵ ± ۴۸/۵ [bc]
تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb)	۳۴۶ ±۱۹ [b]	۴/۵ ±۱ [ab]	۶۱۳/۵ ± ۳۳/۵ [c]
تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb)	۴۲۴ ±۱۹ [bc]	۶ ±۱ [b]	۵۰۱ ± ۳۲ [bc]

حروف غیر همنام در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دارآماری می‌باشد

در این ارتباط و بر اساس نتایج، میانگین بیومس نهایی بچه ماهیان بین تیمارها و شاهدها اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). و میزان بیومس نهایی بچه ماهیان در کلیه تیمارهای حاوی سم کمتر از شاهدها بوده است. ضریب چاقی نیز به عنوان یکی دیگراز شاخص‌های رشد محسوب می‌شود و عبارت است از رابطه وزن ماهی بر حسب گرم و طول بر حسب سانتیمتر که هر چه مقدار ضریب چاقی بزرگ‌تر باشد، وزن نسبت به طول معین ماهی، بالاتر خواهد بود که می‌توان نتیجه گرفت ماهی چاقترورشد آن بیشتر است (Shapawi *et al*., 2011). در این بررسی میزان ضریب چاقی بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده وکاهش معنی‌داری در تیمار ۴ و ۵ نسبت شاهدها مشاهده گردید.

Cagauan و همکاران (۲۰۰۴) در تغذیه تیلاپیای نیل با غذای ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد غذای کپک زده اختلاف معنی داری را بین میانگین بیومس‌نهایی گروه‌ها مشاهده کردند. در آن مطالعه میانگین بیومس نهایی به ترتیب در تیمار حاوی ۱۰۰درصد غذای کپک زده ۹۳/۷۷ گرم ، ۵۰ درصد ۹۱/۶۰ گرم و ۱۰ درصد ۱۶۲/۰۷ گرم بوده که نسبت به شاهد با میانگین بیومس۲۳۳/۸۳ گرم از بیومس کمتری برخوردار بودند. همچنین گزارش Chaves-Sanches و همکاران (۱۹۹۴) نشان می دهدکه تغذیه تیلایای نیل با مقدار ۱/۸۸ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی درطی مدت ۲۵ روز منجر به کاهش رشد و بیومس می‌شود. Abdelhamid و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر مواد ضد آفلاتوکسین در جیره مشخص نمودند که ماهیان تیلاپیا تغذیه شده با غذای حاوی ۱۰۰ppb آفلاتوکسین B_1 از درصد افزایش وزن کمتری نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی مواد ضد توکسین برخوردار بودند. همچنین درگربه ماهی روگاهی تغذیه شده با ۲/۱۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی به مدت ۱۰ هفته تغییرات معنی داری در رشد مشاهده نشد ودر تغذیه با میزان۱۰ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در جیره فقط در ۲۴ درصد از ماهیان تحت آزمایش کاهش رشد مشاهده گردید (Jantrarotai & Lovell, 1990)، که همگی با نتایج حاصل در این بررسی مطابقت دارند.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

میزان رشد روزانه درشاهدها بیش ازسایر تیمارها بوده است و اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). نتایج نشان می‌دهد که میزان نرخ رشد روزانه در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته است و این کاهش در تیمارهای ۱ تا ۵ کاملا مشهود است اما کمترین رشد روزانه در تیمار ۴ با میزان ۰/۰۰۰۳±۰/۰۴۹ و تیمار۵ با رشد روزانه ۰/۰۰۲۴±۰/۰۵ مشاهده شده است. همچنین میزان نرخ رشد ویژه درشاهدها بیش از سایر تیمارها بوده است واختلاف معنی دارآماری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). نتایج نشان دادکه میزان نرخ رشد ویژه در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته است به طوری‌که کم‌ترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۵ با میانگین ۰/۰۰۵±۰/۰۱، در تیمار۴ با میانگین ۰/۰۰۶ ± ۰/۱ و در تیمار۳ با میانگین نرخ رشد ویژه ۰/۰۳۷ ± ۰/۳۴ مشاهده شده است.

Abdelhamid و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر مواد ضد آفلاتوکسین در جیره مشخص نمودندکه ماهیان تیلاپیا تغذیه شده با غذای حاوی ppb۱۰۰ آفلاتوکسین B_1 از نرخ رشد ویژه کمتری نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی مواد ضد توکسین برخوردار بودند. Shehata وهمکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی اثرات‌کاهنده ویتامین C در جیره‌های حاوی آفلاتوکسین B_1 مشخص نمودند که ماهیان نیل تیلاپیا تغذیه شده با غذای حاوی ppb ۳۰۰۰ آفلاتوکسین B_1 از نرخ رشد ویژه کمتری نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی مقادیر مختلف ویتامین C به اضافه توکسین برخوردار بودند. بر اساس گزارش Chaves – Sanchez و همکاران (۱۹۹۴) تغذیه تیلا پی‌ای نیل با مقدار ۱/۸۸ میلی‌گرم درکیلوگرم آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی درطی مدت ۲۵ روز منجر به کاهش رشد ماهیان می‌گردد. نرخ رشد ویژه در تیلاپیلا ی نیل تغذیه شده با ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 در جیره به شکل معناداری متاثر می‌شود ولی این شاخص‌ها در مواجه با میزان ۰/۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 در جیره تغییر قابل ملاحظه‌ای را نشان نمی‌دهد (Tuna *et al*., 2002). مشاهدات مذکور با نتایج (Chaves – Sanchez *et al*., 1994) بر روی تیلاپیای نیل مطابقت داردکه درآن میزان رشد، با مقدار ۰/۹۴ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 تغییری نمی‌یابد ولی در تغذیه با جیره حاوی ۱/۸۸ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 و مقادیر بالاتر در جیره کاهش می‌یابد. تیلاپیای نیل در مقایسه با گربه ماهی روگاهی، گونه حساس‌تری در بروز تغییرات در شاخص‌های رشد می‌باشد (Tuna *et al*., 2002). نتایج حاصل از مقایسه آماری مقادیر آنزیم های کبدی ALP (آلکالین فسفاتاز)، ALT (آلانین ترانس آمیناز) و AST (آسپارتات ترانس آمیناز) در انتهای دوره (جدول ۴) افزایش معنا داری را در تیمارها با افزایش میزان سم آفلاتوکسین B_1 در جیره نشان داد (P<۰/۰۵). تغییرات مشاهده شده در میزان AST , ALT سرم به شکل مشخص به فعالیت‌های کبدی وابسته است و می‌تواند به عنوان ابزاری جهت ارزیابی سلامت سلول هاو تغییرات نفوذ پذیری غشاهای سلولی مد نظر باشد. افزایشALT، AST سرم در مسمومیت با آفلاتوکسین B_1 نه تنها می‌تواند ناشی از اختلال در متابولیسم بافتی پروتئین‌ها به واسطه استرس‌های شیمیایی باشد، بلکه انعکاسی از مسمومیت ایجاد شده در کلیه‌ها است (Sahoo and Mukherjee, 2001).

Abdelhamid و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردندکه برخی از مشاهدات در تیلاپیای نیل مواجهه

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

داده شده با آفلاتوکسین B_1 ، بیانگر افزایش فعالیت آنزیم های فسفاتاز و ترانس آمینازدر خون بوده که می‌تواند به واسطه نکروز کبد،کلیه و قلب باشد. با توجه به اثبات اثرات تخریبی آفلاتوکسین B_1 بر هپاتوسیت‌ها (Sahoo and Mukherjee, 2001) که منجر به افزایش ALT، AST و ALP سرم خون می‌شود (Abdelhamid *et al.*, 2004). اثرات مشابه مشاهده شده در افزایش ALT ، AST سرم در تحقیق در ماهیان ازون برون تحت آزمایش با نتایج مطالعات ذکر شده مطابقت دارد.

همان‌طوری‌که ملاحظه می‌شود با افزایش میزان غلظت سم در جیره‌ها کاهش رشد و زنده مانی، و تغییرات درمیزان آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان ازون برون پرورشی مشاهده گردید. نتایج نشان داد که پس از ۵۲ روز در غلظت ppb۳۵۰۰ بیش از ۵۰٪ بچه ماهیان تلف شدند و غلظت ppb ۱۵۰۰ در حدود ۷٪ تلفات مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان دادکه ازون برون گونه ای نسبتاً مقاوم نسبت به سم آفلاتوکسین B_1 بوده و هیچکدام از غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه در حد تحمل بچه ماهیان نبوده است.

پیشنهاد می‌گرددکه مطالعاتی در ارتباط با تاثیر مسمومیت با آفلاتوکسین B_1 در سایر اوزان و محیط‌های پرورشی (آب شور و لب شور) در گونه ازون برون انجام پذیرد. همچنین جهت مدیریت و پیشگیری از آفلاتوکسین‌ها ضمن رعایت موازین بهداشتی در مراحل مختلف شامل تهیه مواد اولیه، ساخت و نگهداری و انبارش، پایش مداوم با انجام آزمایش‌های منظم غذاها بر اساس استانداردهای موجود از لحاظ حضور انواع آفلاتوکسین انجام پذیرد.

سپاسگزاری

از همکاری و مساعدت موسسه تحقیقات شیلات ایران، آقای دکتر محمد پورکاظمی ریاست وقت انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری ودکتر محمود بهمنی ریاست موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر به جهت فراهم نمودن امکان اجرای این تحقیق، همکاران بخش بهداشت و بیماری‌ها آقایان دکتر مهدی معصوم زاده، مهندس مهدی علیزاده، مهندس سهیل بازاری مقدم، دکتر علیرضا شناور ماسوله و خانم مهندس مرجان صادقی راد و همکاران بخش تکثیر و پرورش و فیزیولوژی و بیوشیمی کمال تشکر و قدر دانی را داریم.

منابع

۱. غنی نژاد، د.، ۱۳۷۶. برخی خصوصیات زیستی ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) در آب‌های گیلان- ۱۳۷۳. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱، سال ششم، صفحات ۱۵۰-۱۴۱.

۲. کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی. م.، نصری تجن. م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. چاپ اول، ۱۹۴صفحه.

۳. مرتضوی،ع.، طباطبایی، ف.، ۱۳۷۶. توکسین‌های قارچی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، چاپ اول، ۲۰۶ صفحه.

4. Abdelhamid, A.M., Salem, M.F.I., Mehrim, M.A.M., EL-Sharavi, M., 2007. Nutrition's attempts to detoxify Aflatoxic diets of Tilapia fish (fish performance, feed and nutrients utilization, organs indices, residues and blood parameters). In: proceedings of the first Annual Scientific Conference on animal and fish production, Mansura university, Egypt, 24-25 September, 207-230.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

5. Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K., Verakunpiria, V., & Supra sert, D., 2001. Effects of Aflatoxin B1 on growth performance blood components, immune function and histopathological changes in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon Fabricius*). Aquaculture Research, Vol. 32, pp. 388-398.
6. Cagauan, A.G., Tayaban, R.H., Somga, J., Bartolome, R.M., 2004. Effect of aflatoxin-contaminated feeds in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). In: Abstract of the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture (ISTA 6) Section: Health Management and Diseases Manila, Philippines, 12–16 September.
7. Chavez-Sanchez, M.C., Martinez Palacios, C.A., Osorio Moreno, I., 1994. Pathological effects of feeding young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of Aflatoxin B_1. Aquaculture, Vol.127, pp. 49-60.
8. EL-Sayed, Y.S., Hasan Khali, R., 2009. Toxicity, biochemical effects and residue of Aflatoxin B1 In marine water- reared Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Journal of Food and Chemical Toxicology, Vol.47, pp.1606-1609.
9. Farabi, S.M.V., Yousefian, M., Hajimoradloo, A., 2006. Afla-toxicosis in juvenile *Huso huso* fed a contaminated diet. Journal of Applied Ichthyology, Vol. 22, pp. 234-237.
10. Halver, J.E., 1969. Aflatoxicosis and trout hepatoma. In: Aflatoxin: Scientific Background, Control and Implications (Goldblatt, L.A. ed.). Academic Press, New York. pp. 265-306.
11. Hendricks, J.D., 1994. Carcinogenicity of Aflatoxins in nonmam-malian organisms. In: Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance (Eaton, D.L. & Group-man, J.D. eds), Academic Press, San Diego, pp. 102-136.
12. Hung, S.S.O., Aikins, K.F., Lutes, P.B., Xu, R., 1989. Ability of Juvenile White Sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different Carbohydrate source. Journal of Nutrition, Vol. 119, pp. 272-733.
13. Jantrarotai, W., Lovell, R.T., 1990. subchronic toxicity of dietary Aflatoxin B_1 to Channel Catfish. Journal of Aquatic Animal Health, Vol.2, pp.248-254.
14. Jantrarotai, W., Lovell, R.T., Grizzle, J.M., 1990. Acute toxicity of dietary Aflatoxin B_1 to Channel Catfish. Journal of Aquatic Animal Health, Vol. 2, pp.237-247.
15. Lightner, D.V., Redman, R.M., Price, R.L., Wiseman, M.O., 1982. Histopathology of Aflatoxin in the marine shrimp *Penaeus stylirostris* and *p. vannamei*. Journal of invertebrate pathology, Vol. 40, pp. 279-271.
16. Lovell, R.T., 1984. Microbial toxins in fish feeds. Aquaculture Magazine, Vol. 10, pp. 33-36.
17. Raghavan, R., P. Zhu, X., Lei, W., Han, D., Yang, Y., Xie, S., 2011. Low level of Aflatoxin B_1 could cause mortalities in juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser ruthenus* ♂ ×*A. baeri* ♀. Aquaculture Nutrition, Vol.17, pp. 39-47.
18. Ronyai, A., Ruttkay, A., 1990. Growth and food utilization of Wels fry (*Silurus glanis*) fed with Tubifex. Aquaculture, Hungary (Szarvas), Vol. 1, pp. 193– 202.
19. Sahoo, P.K., Mukherjee, S.C., 2001. Immunosuppressive effect of Aflatoxin B_1 in Indian major Carp (*Labeo rohita*). Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, Vol. 24, pp.142-149.
20. Sahoo, P.K., Mukherjee, S.C., Jain, A.K., Mukherjee, A., 2003. Histopathological and electron Microscopic studies of gills and opisthonephros of Rohu, *Labeo rohita* to acute and sub chronic of Aflatoxin B_1 toxicity. Asian fisheries Society, Vol.16, pp. 257-268.
21. Sepahdari, A., Ebrahimzadeh Mosavi, H.A., Sharifpour, I., Khosravi, A., Motallebi, A.A., Mohseni, M., Kakoolaki, S., Pourali, H.R., Hallajian, A., 2010. Effects of different levels of AFB_1 on survival rate and growth factors of Beluga (*Huso huso*). Iranian Journal of Fisheries Science, Vol. 9, pp.141–150.
22. Shapawi, R., Mustafa, S., Ng, W.K., 2011. A Comparison of the Growth Performance and Body Composition of the Humpback Grouper, *Cromileptes altivelis* Fed on Farm-made Feeds, Commercial Feeds or Trash Fish. Journal of Fisheries and Aquatic Science, Vol.6, pp. 522-534.
23. Shehata, S.A., El-Melegy, Kh.M., Ebrahim, M.S., 2009. Toxicity Reduction of Aflatoxin B_1 by Vitamin C in Fish.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]

Journal of the **A**rabian **A**quaculture **S**ociety. Vol. 4, No. 2, pp. 73-86.

24. Svobodova, Z., Piskac, A., Havlikova, J., Groch, L., 1982. The influence of feed with different contents of B_1 Aflatoxin on the **C**arp health condition. Zivocisna vyroba Ceskoslovenska akademie zemedelska Ustav vedeckotechnickych informaci pro zemedelstvi 27(11): 811-820.
25. Tuan, N.A., J.M. Grizzle, R.T. Lovell, B.B., Rottinghaus, G.E., 2002. Growth and hepatic lesions of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Aflatoxin B_1. Aquaculture, Vol. 212, pp. 311-319.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1392.7.4.1.6]