

اثر سمیت غذای آلوده به آفلاتوکسین B₁ 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 پزند^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 پذیرش: ۱۵ مهر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۲۳ تیر ۱۳۹۲

چکیده

آفلاتوکسین‌ها مواد شیمیایی سمی هستند که به وسیله انواع قارچ‌ها (*Aspergillus flavus* & *Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوند که بطور کلی به عنوان کپک شناخته می‌شوند. آفلاتوکسیکوزیس بیماری است که در اکثر انواع ماهیان بر اثر تغذیه از غذای آلوده به آفلاتوکسین‌ها ایجاد می‌گردند. این مطالعه جهت کسب اطلاعات کاربردی در ارتباط با تاثیرات آفلاتوکسین B₁ در مورد گونه 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 ۱۵۰۰، ۱۸۵۰، ۲۳۰۰، ۲۸۵۰ و ۳۵۰۰ آفلاتوکسین B₁ و دو شاهد در ۳ 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 داد که افزایش میزان غلظت سم (۳۵۰۰ ppb و ۲۸۵۰) علاوه بر بروز تغییرات رفتاری، تاثیر معنی داری بر کارایی شاخص‌های رشد و تغذیه شامل درصد افزایش وزن (bw%)، بیومس نهایی، ضریب چاقی (K)، رشد روزانه (GR) و نرخ رشد ویژه (SGR) داشت (P < ۰/۰۵). همچنین بیش‌ترین میزان تلفات در تیمار حاوی بیش‌ترین غلظت سم (۳۵۰۰ ppb) که از روز ۶ آغاز گردید مشاهده شد. پس از ۵۲ روز بچه ماهیان تغذیه شده با غذای حاوی ۳۵۰۰ ppb آفلاتوکسین B₁ درصد بازماندگی کمتری (۴۷/۵۰٪) را نسبت به تیمارهای ۲۸۵۰ ppb (۵۷/۵۰٪)، ۲۳۰۰ ppb (۶۵٪)، ۱۸۵۰ ppb (۸۰٪) و ۱۵۰۰ ppb (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 < ۰/۰۵).

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

مقدمه

آفلاتوکسیکوزیس بیماری است که در اکثر انواع ماهیان بر اثر تغذیه از غذای آلوده به آفلاتوکسین‌ها ایجاد شود. آفلاتوکسین‌ها مواد شیمیایی هستند که به وسیله انواع قارچ‌ها (*Aspergillus flavus* & *Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوند که بطور کلی به عنوان کپک شناخته می‌شوند. دانه‌های روغنی همچون تخم پنبه، بادام زمینی، ذرت، گندم، تخم آفتاب گردان، غذای ماهی و به طور کلی تمام غذاها می‌توانند به آفلاتوکسین‌ها آلوده شوند. چهار آفلاتوکسین اصلی شامل آفلاتوکسین‌های B₁، B₂ و G₁، G₂ می‌باشند و آفلاتوکسین B₁ یکی از قویترین آفلاتوکسین‌های عامل ایجاد کننده سرطان به طور طبیعی در حیوانات می‌باشد (مرتضوی، ۱۳۷۶). ازون برون (*Acipenser stellatus*) از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین گونه‌های تاسماهیان دریای خزر است 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 ۱۳۷۷ به 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 و نقل و

انبارش قبل از رسیدن به دست مصرف کننده و یا در دوره نگهداری و انبارش نامناسب 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 آذربایجان می‌توان به مطالعات Farabi (۲۰۰۶) در بررسی تاثیر غذای حاوی سم آفلاتوکسین B₁ بر فیل ماهیان جوان، Sepahdari (۲۰۱۰) در بررسی کمی و کیفی جراحات‌های پوستی، رشد و بازماندگی ناشی از مصرف خوراکی مقادیر مختلف آفلاتوکسین B₁ در فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) اشاره نمود. سوابق تحقیق در خارج از کشور بسیار گسترده و اطلاعات زیادی در خصوص تاثیر آفلاتوکسین B₁ در مورد بیشتر گونه‌های پرورشی ماهی شامل: قزل‌آلای رنگین کمان (Hendricks, 1994; Halver, 1969)، 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 B₁ در مورد این گونه ایجاب نمود که اطلاعات کاربردی از این دست در جهت موفقیت کامل در زمینه پرورش این گونه فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

بچه ماهیان ازون برون پس از عادت دهی به غذای دستی با میانگین وزنی 0.12 ± 0.09 در ۷ تیمار ۳ و

آنالیز به وسیله HPLC (به طریق کروماتوگرافی مایع با کارایی عالی و خالص سازی با ستون ایمونوآفینیتی) 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 صحرانی (WTW-Multi 340I) در محل اندازه گیری شد.

با انجام زیست سنجی های 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 شاخص های رشد، بر اساس فرمول های زیر محاسبه و تعیین شد:

شاخص وضعیت (%): (Shapawi *et al.*, 2007)

$$K = (BWF / TL^3) \times 100$$

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

W₀ = وزن اولیه

t = طول مدت پرورش

تکرار (دو شاهد و ۵ غلظت مختلف) در مخازنی با ابعاد ۳۵ × ۵۰ سانتی متر و حجم 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 میلی گرم آفلاتوکسین B₁ (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 غلظت ها تعیین و پس از محاسبه، غلظت های ۰/۷۵، ۰/۹۲۵، ۱/۱۵، ۱/۴۲۵، ۱/۷۵ میلی لیتر از محلول استوک ۱۰ میلی لیتر به هر کدام از تیمارها معرفی شدند. مقادیر ۱/۵، ۱/۸۵، ۲/۳، ۲/۸۵ و ۳/۵ میلی گرم سم در کیلوگرم (ppm) (۰/۰۰۱ برابر ppb) با محاسبات لگاریتمی در نظر گرفته شد (فرمول ۱).

فرمول ۱: محاسبه لگاریتمی غلظت ها

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

n = تعداد غلظت ها

b = غلظت نهایی

a = غلظت ابتدایی

مقادیر تعیین شده به جیره های آزمایشی بر اساس ۲

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 جیره های

آزمایشی و شاهد به منظور تعیین و تایید میزان سم جهت

نرخ رشد ویژه (Ronyai et al. 1990)

$$S.G.R = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100$$

$L_n W_t$ = لگاریتم نپین وزن نهایی

$L_n W_0$ = لگاریتم نپین وزن اولیه

t = طول مدت پرورش

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 برخوردار بودند 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 تیمار بندی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P < 0/05$) (جدول ۱).

بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه به منظور مقایسه میانگین وزن و طول بچه ماهیان در تیمارها و شاهد در انتهای دوره اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما بر اساس نتایج حاصل میزان وزن و طول نهایی در تیمارها نسبت به شاهد از روند کاهشی برخوردار بوده‌اند، به طوری که تیمار ۴ و ۵ که حاوی بالاترین میزان سم بوده‌اند دارای کمترین میانگین وزنی بودند (جدول ۲) 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 معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/05$) (جدول ۲).

در انتهای دوره (روز ۵۲) از هر گروه تیماری ۱۲ عدد ماهی (از هر تکرار ۴ عدد) به صورت تصادفی خون گیری از سیاهرگ ساقه دم به وسیله سرنگ‌های ۱ و ۲ سی سی به عمل آمد. نمونه‌های خون به ویالی مجزا جهت بررسی فاکتورهای 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 (کازمی 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 آنزیم‌های اختصاصی کبدی، آلانین آمینو ترانسفراز (ALAT) که قبلا با نام گلو تامیک پروئیک ترانس آمیناز (GPT) نامیده می‌شد و آسپرات آمینو ترانسفراز (ASAT) که قبلا با نام گلو تامیک 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 ۱۷ و رسم نمودارها از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۰۳ استفاده شد. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل

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

تیمار	وزن اولیه (گرم)	طول اولیه (سانتی متر)	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 شاهد 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 ± ۱۰/۱۹ ^{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 ± ۰/۰۶	۱۷/۸۷ ± ۰/۰۲	۷۶/۹۱ ± ۰/۷ ^a	۳۴/۶۳ ± ۲/۷ ^a	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۱ ^a	۰/۰۱ ± ۰/۰۰۵ ^a

حروف غیر همنام در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد

تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb) از هفته دوم تا هشتم ۴۰٪ تلفات و تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb) از هفته اول تا هشتم ۵۰٪ تلفات داشته است (شکل ۱).

بر اساس نتایج به منظور مقایسه میزان الکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارات ترانس آمیناز (AST) در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف سم آفلاتوکسین با شاهد انتهای دوره اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($P < 0/05$) و میزان آنزیم های مذکور خون بچه ماهیان در تیمارها با افزایش میزان غلظت افزایش یافته است و به لحاظ

میزان بازماندگی بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده است. نتایج نشان می دهد که میزان بازماندگی در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته و کمترین میزان بازماندگی در تیمار ۵ مشاهده شده که به لحاظ آماری اختلاف معنی دار با شاهدها و سایر تیمارها داشته است ($P < 0/05$) (جدول ۳). در ارتباط با روند تلفات، پس از ۸ هفته بررسی مشخص شد که شاهدها تا پایان دوره هیچ گونه تلفاتی نداشتند تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb) از هفته هفتم ۱۰٪ تلفات، تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb) از هفته چهارم تا هشتم ۲۰٪ تلفات، تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb) از هفته سوم تا هشتم ۴۰٪ تلفات،

و همکاران (۲۰۰۴) در تغذیه تیلایپای 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 مشاهده کردند. همچنین Sepahdari و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودند که تغذیه فیل ماهی پرورشی با غذای حاوی مقادیر ۱۰۰ppb و ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۰ آفلاتوکسین B₁ پس از دو ماه اختلاف معنی داری 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 مشابه 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.

آماري اختلاف معنی داری با شاهدها داشته‌اند (P<۰/۰۵) (جدول ۴).

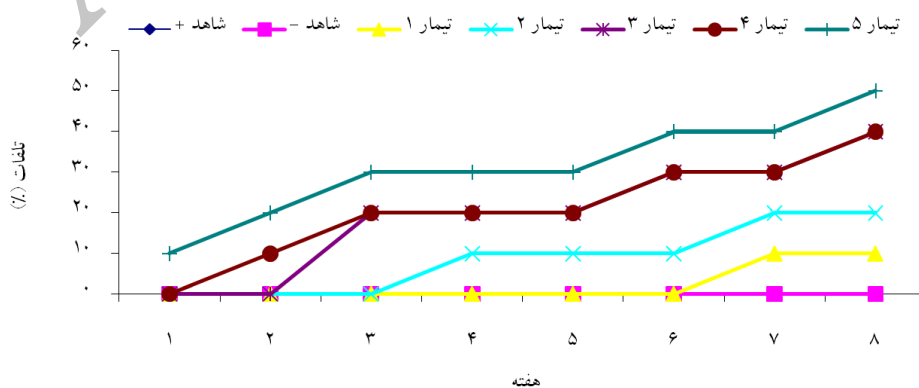
جدول ۳: مقایسه میانگین میزان بازماندگی تیمارها در پایان دوره

فاکتور	تیمار	خطای استاندارد ± میانگین
	کنترل +	۱۰۰ ^f
	کنترل -	۱۰۰ ^f
تیمار ۱	(۱۵۰۰ ppb)	۹۳/۷۵ ± ۱/۸ ^c
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 معنی دار آماری می‌باشد

بحث

در بیومتری نهایی اختلاف معنی دار آماری بین میانگین وزن تیمارها با شاهد مشاهده نشد (P<۰/۰۵). اما بر اساس نتایج میزان وزن نهایی در تیمارها به لحاظ عملی نسبت به شاهد از روند کاهشی برخوردار بوده‌اند، به طوری که تیمار ۴ و ۵ به ترتیب با میانگین وزنی ۰/۱۸ ± و ۱۰/۶۵ و ۱۰/۲۹ ± که حاوی بالاترین میزان سم بودند دارای کمترین میانگین وزنی بوده‌اند. Cagauan



شکل ۱: مقایسه میزان تلفات تیمارها در طول دوره

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

تیمار	الکالین فسفاتاز ALP	آلانین ترانس آمیناز ALT	آسپارات ترانس آمیناز AST
کنترل +	247/5 ± 2/5 ^a	3 ± 0/5 ^a	293 ± 5/5 ^a
کنترل -	304 ± 6 ^a	3/5 ± 0/5 ^a	325/5 ± 3 ^a
تیمار ۱ (۱۵۰۰ ppb)	473 ± 28 ^c	5 ± 0/7 ^{ab}	275 ± 40/5 ^a
تیمار ۲ (۱۸۵۰ ppb)	409 ± 1 ^{abc}	4 ± ERR ^{ab}	441/5 ± 1/5 ^b
تیمار ۳ (۲۳۰۰ ppb)	387/5 ± 2/5 ^{abc}	3/5 ± 0/5 ^a	501/5 ± 48/5 ^{bc}
تیمار ۴ (۲۸۵۰ ppb)	346 ± 19 ^b	4/5 ± 1 ^{ab}	613/5 ± 33/5 ^c
تیمار ۵ (۳۵۰۰ ppb)	424 ± 19 ^{bc}	6 ± 1 ^b	501 ± 32 ^{bc}

حروف غیر همنام در ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد

در این ارتباط و بر اساس نتایج، میانگین بیومس نهایی بچه ماهیان بین تیمارها و شاهدها اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید ($P < 0/05$). و میزان بیومس نهایی بچه ماهیان در کلیه تیمارهای حاوی سم کمتر از شاهدها بوده است. ضریب چاقی نیز به عنوان یکی دیگر از شاخص های رشد محسوب می شود و عبارت است از رابطه وزن ماهی بر حسب گرم و طول بر حسب سانتیمتر که هر چه مقدار ضریب چاقی بزرگ تر باشد، وزن نسبت به طول معین ماهی، بالاتر خواهد بود که می توان نتیجه گرفت ماهی چاقتر و رشد آن بیشتر است (Shapawi *et al.*, 2011). در این بررسی میزان ضریب چاقی بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده و کاهش معنی داری در تیمار ۴ و ۵ نسبت شاهدها مشاهده گردید.

Caguan و همکاران (۲۰۰۴) در تغذیه تیلایای نیل با غذای ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد غذای کپک زده اختلاف معنی داری را بین میانگین بیومس نهایی گروهها مشاهده کردند. در آن مطالعه میانگین بیومس نهایی به ترتیب در تیمار حاوی ۱۰۰ درصد غذای کپک زده ۹۳/۷۷ گرم، ۵۰ درصد ۹۱/۶۰ گرم و ۱۰ درصد ۱۶۲/۰۷ گرم بوده که نسبت به شاهد با میانگین بیومس ۲۳۳/۸۳ گرم از بیومس کمتری برخوردار بودند. همچنین گزارش Chaves-Sanches و همکاران (۱۹۹۴) نشان می دهد که تغذیه تیلایای نیل با مقدار ۱/۸۸ میلی گرم آفلاتوکسین B₁ در جیره غذایی در طی مدت ۲۵ روز منجر به کاهش رشد و بیومس می شود. Abdelhamid و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر مواد ضد آفلاتوکسین در جیره مشخص نمودند که ماهیان تیلایا تغذیه شده با غذای حاوی ۱۰۰ ppb آفلاتوکسین B₁ از درصد افزایش وزن کمتری نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی مواد ضد توکسین برخوردار بودند. همچنین در گربه ماهی روگاهی تغذیه شده با ۲/۱۵ میلی گرم آفلاتوکسین B₁ در جیره غذایی به مدت ۱۰ هفته تغییرات معنی داری در رشد مشاهده نشد و در تغذیه با میزان ۱۰ میلی گرم آفلاتوکسین B₁ 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.

در این ارتباط و بر اساس نتایج، میانگین بیومس نهایی بچه ماهیان بین تیمارها و شاهدها اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید ($P < 0/05$). و میزان بیومس نهایی بچه ماهیان در کلیه تیمارهای حاوی سم کمتر از شاهدها بوده است. ضریب چاقی نیز به عنوان یکی دیگر از شاخص های رشد محسوب می شود و عبارت است از رابطه وزن ماهی بر حسب گرم و طول بر حسب سانتیمتر که هر چه مقدار ضریب چاقی بزرگ تر باشد، وزن نسبت به طول معین ماهی، بالاتر خواهد بود که می توان نتیجه گرفت ماهی چاقتر و رشد آن بیشتر است (Shapawi *et al.*, 2011). در این بررسی میزان ضریب چاقی بچه ماهیان در شاهدها بیش از سایر تیمارها بوده و کاهش معنی داری در تیمار ۴ و ۵ نسبت شاهدها مشاهده گردید.

Caguan و همکاران (۲۰۰۴) در تغذیه تیلایای نیل با غذای ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد غذای کپک زده اختلاف معنی داری را بین میانگین بیومس نهایی گروهها مشاهده کردند. در آن مطالعه میانگین بیومس نهایی به ترتیب در تیمار حاوی ۱۰۰ درصد غذای کپک زده ۹۳/۷۷ گرم، ۵۰ درصد ۹۱/۶۰ گرم و ۱۰ درصد

ماهیان می گردد. نرخ رشد ویژه در تیلایپلای نیل تغذیه شده با ۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ در جیره به شکل معناداری متاثر می شود ولی این شاخص ها در مواجهه با میزان ۰/۲۵ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ در جیره تغییر قابل ملاحظه ای را نشان نمی دهد (Tuna et al., 2002). مشاهدات مذکور با نتایج (Chaves – Sanchez et al., 1994) بر روی تیلایپلای نیل مطابقت دارد که در آن میزان رشد، با مقدار ۰/۹۴ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ تغییری نمی یابد ولی در تغذیه با جیره حاوی ۱/۸ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ و مقادیر بالاتر در جیره کاهش می یابد. تیلایپلای نیل در مقایسه با گربه ماهی روگامی، گونه حساس تری در بروز تغییرات در شاخص های رشد می باشد (Tuna et al., 2002). نتایج حاصل از مقایسه آماری مقادیر آنزیم های کبدی ALP (آلکالین فسفاتاز)، ALT (آلانین ترانس آمیناز) و AST (آسپارات ترانس آمیناز) در انتهای دوره (جدول ۴) افزایش معناداری را در تیمارها با افزایش میزان سم آفلاتوکسین B₁ در جیره نشان داد (P < ۰/۰۵). تغییرات مشاهده شده در میزان ALT، AST، سرم به شکل مشخص به فعالیت های کبدی وابسته است و می تواند به عنوان ابزاری جهت ارزیابی سلامت سلول ها و تغییرات نفوذ پذیری غشاهای سلولی مد نظر باشد. افزایش ALT، AST، سرم در مسمومیت با آفلاتوکسین B₁ نه تنها می تواند ناشی از اختلال در متابولیسم بافتی پروتئین ها به واسطه استرس های شیمیایی باشد، بلکه انعکاسی از مسمومیت ایجاد شده در کلیه ها است (Sahoo and Mukherjee, 2001).

Abdelhamid و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که برخی از مشاهدات در تیلایپلای نیل مواجهه

میزان رشد روزانه درشاهدتها بیش از سایر تیمارها بوده است و اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P < ۰/۰۵). نتایج نشان می دهد که میزان نرخ رشد روزانه در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته است و این کاهش در تیمارهای ۱ تا ۵ کاملاً مشهود است اما کمترین رشد روزانه در تیمار ۴ با میزان ۰/۰۴۹ ± ۰/۰۰۳ و تیمار ۵ با رشد روزانه ۰/۰۲۴ ± ۰/۰۰۵ مشاهده شده است. همچنین میزان نرخ رشد ویژه درشاهدتها بیش از سایر تیمارها بوده است و اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P < ۰/۰۵). نتایج نشان داد که میزان نرخ رشد ویژه در تیمارها با افزایش میزان غلظت سم کاهش یافته است به طوری که کمترین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۵ با میانگین ۰/۰۱ ± ۰/۰۰۵، در تیمار ۴ با میانگین ۰/۰۰۶ ± ۰/۰۱ و در تیمار ۳ با میانگین نرخ رشد ویژه ۰/۰۳۷ ± ۰/۰۳۴ مشاهده شده است.

Abdelhamid و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر مواد ضد آفلاتوکسین در جیره مشخص نمودند که ماهیان تیلایپلای تغذیه شده با غذای حاوی ۱۰۰ ppb آفلاتوکسین B₁ از نرخ رشد ویژه کمتری نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی مواد ضد توکسین برخوردار بودند. Shehata و همکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی اثرات کاهنده ویتامین C در جیره های حاوی آفلاتوکسین B₁ مشخص نمودند که ماهیان نیل تیلایپلای تغذیه شده با غذای حاوی ۳۰۰۰ ppb آفلاتوکسین B₁ 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 تیلایپلای نیل با مقدار ۱/۸ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ در جیره غذایی در طی مدت ۲۵ روز منجر به کاهش رشد

سپاسگزاری

از همکاری و مساعدت موسسه تحقیقات شیلات ایران، آقای دکتر محمد پور کاظمی ریاست وقت انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری و دکتر 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 عزیززاده، 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، ۱۹۴ صفحه.
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.

داده شده با آفلاتوکسین B₁، بیانگر افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز و ترانس آمیناز در خون بوده که می‌تواند به واسطه نکرز کبد، کلیه و قلب باشد. با توجه به اثبات اثرات تخریبی آفلاتوکسین B₁ بر هیپاتوسیت‌ها (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.

همان‌طوری که ملاحظه می‌شود با افزایش میزان غلظت سم در جیره‌ها کاهش رشد و زنده ماندن، و تغییرات در میزان آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان ازون برون پرورشی مشاهده گردید. نتایج نشان داد که پس از ۵۲ روز در غلظت ۳۵۰۰ ppb بیش از ۵۰٪ بچه ماهیان تلف شدند و غلظت ۱۵۰۰ ppb در حدود ۷٪ تلفات مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان داد که ازون برون گونه‌ای نسبتاً مقاوم نسبت به سم آفلاتوکسین B₁ بوده و هیچکدام از غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه در حد تحمل بچه ماهیان نبوده است.

پیشنهاد می‌گردد که مطالعاتی در ارتباط با تاثیر مسمومیت با آفلاتوکسین B₁ 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.

14. Jantrarotai, W., Lovell, R.T., Grizzle, J.M., 1990. Acute toxicity of dietary Aflatoxin B₁ 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 B₁ 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 B₁ 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 B₁ 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 AFB₁ 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 B₁ by Vitamin C in Fish.
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 B₁. *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 B₁ to Channel Catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, Vol.2, pp.248-254.

- 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 B₁. *Aquaculture*, Vol. 212, pp. 311-319.
- Journal of the Arabian Aquaculture Society. 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 B₁ Aflatoxin on the Carp health condition. *Zivocisna vyroba Ceskoslovenska akademie zemedelska Ustav vedeckotechnickych*

Archive of SID