Archive of SID

(DOI): 10.22092/ISFJ.2020.122061 ۲۹(٤) ۱-۱۰ مجله علمی شیلات ایران

مقاله علمی–پژوهشی:

معرفی برخی شاخص‌های سرم، ایمنی و خون به عنوان شاخص سلامت در مولدین قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) عاری از عوامل بیماریزای خاص

مریم قیاسی*[۱]، محمد بینایی[۱]، ابولفضل سپهداری[۲]، سید محمد جلیل ذریه زهرا[۲]، رضا صفری[۱]، شاپور کاکولکی[۲]، مهتاب یارمحمدی[۳]، محدث قاسمی[٤]، محمد جواد تقوی رستمی[۱]

*ghiasimaryam4@gmail.com

۱ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
۲ - موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳ – موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
۴ – پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

چکیده

در این بررسی تلاش شده است با ارزیابی برخی از شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی به مبنایی جهت تعیین سلامت مولدین نسل پایه SPF در مرکز نگهداری آنها دست یافت. بدین منظور، طی سه مرحله نمونه‌برداری قبل، همزمان و بعد از تکثیر از ماهیان مولد نگهداری شده در مرکز SPF واقع در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی (تنکابن) و دو مزرعه منتخب (S و F) از تامین کنندگان مولد برای این مرکز، نمونه برداری شد. شایان ذکر است، نمونه‌برداری در مرکز SPF و مزارع منتخب از ماهیان متعلق به گله‌های مشترک انجام شد. در هر مرحله پس از بیهوشی و خونگیری از ماهیان میزان هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین تام، آلبومین، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، IgM تام سرم و لیزوزیم اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد، قبل از فصل تکثیر میزان هموگلوبین، ALT و IgM در بین ماهیان سه مرکز تفاوت معنی‌داری نداشت ولی میزان لیزوزیم ماهیان مرکز SPF به طور معنی‌داری از ماهیان مزرعه S و از نظر عددی از مزرعه F بیشتر بود. نتایج فصل تکثیر نشان داد، میزان هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، AST، ALT و میزان لیزوزیم در بین ماهیان سه مرکز فاقد تفاوت معنی‌داری بود در حالیکه میزان ALP ماهیان مرکز SPF در مقایسه با مزرعه F تفاوت معنی‌داری داشت. پس از فصل تکثیر میزان هماتوکریت و وزن ماهیان گروه SPF به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان دو مزرعه دیگر بود و هموگلوبین، IgM و لیزوزیم گاهی به طور معنی دار یا از نظر عددی از ماهیان دو مزرعه دیگر بیشتر بود. براساس نتایج حاصل از این بررسی بنظر می‌رسد، استفاده از شاخص‌های خون و سرم می‌تواند به عنوان ابزاری جهت ارزیابی شرایط سلامت و نیز کیفیت شرایط نگهداری، مدیریت تغذیه، پرورش و بهداشت مورد استفاده قرار گیرد.

لغات کلیدی: آلبومین، شاخص سلامت، هماتوکریت، قزل آلای رنگین کمان، عوامل بیماریزای خاص

***نویسنده مسئول**

www.SID.ir

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

مقدمه

به دلیل شرایط بوم شناختی و سازگاری با شرایط زیست محیطی و رشد سریع، قزل آلای رنگین کمان یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی در ایران است (راستیان نسب و همکاران، ۱۳۹۶). براساس آمار سازمان شیلات ایران، از آغاز دهه ۱۳۸۰ صنعت پرورش این ماهی از رشد چشمگیری برخوردار بوده بطوریکه میزان تولید این ماهی از ۲۳۱۳۸ هزار تن در سال ۱۳۸۲ به ۱۶۵۷۸۷ هزار تن در سال ۱۳۹۵ رسیده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۶). براساس آمار جهانی ، ایران در بین ۸ کشور عمده تولید کننده قزل آلای رنگین کمان با وزن کمتر از سه کیلوگرم بعد از ترکیه دارای مقام دوم در جهان است (Tveteras, 2017). هر چند تولید آبزی‌پروری به عنوان غذا، صنعتی رو به گسترش است، لیکن بیماری‌ها یکی از مهمترین عوامل محدودکننده و زیان‌بار بر این صنعت است. مطالعات نشان می‌دهد که خسارات وارده از محل بروز بیماری‌ها به این صنعت در حدود ۱۲ – ۱۰ درصد ارزش تولیدات است (Terech-Majewska, 2016). به همین دلیل در صنعت آبزی‌پروری، پیشگیری و کنترل بیماری‌های عفونی به صورت یک اصل حیاتی درآمده است و مهمترین روش کنترل، ممانعت از انتشار عوامل عفونی در محیط‌های پرورشی آبزیان است. اگرچه اعمال قرنطینه، استفاده از درمان‌های پیشگیری کننده، ممانعت از مواجهه ماهیان تازه وارد با آب آلوده، استفاده از جیره غذایی عاری از عوامل بیماری‌زا و ضد عفونی کردن آب، روش‌هایی کارساز بوده است (Kent *et al*., 2009; Tveteras, 2017) ولی چون برخی بیماری‌های عفونی به صورت عمودی نیز انتقال می‌یابند، موارد مذکور قادر به ممانعت از انتقال آنها نیستند. در چنین شرایطی تنها راه مطمئن جلوگیری از انتقال عامل بیماری‌زا، ایجاد جمعیت ماهیان عاری از عوامل بیماریزای خاص (SPF)[1] است (Whipps and Kent 2006; AFS-FHS, 2007). اطلاق نام SPF به گروهی از جانوران به معنی عاری بودن آن گروه جانوری از یک یا چند عامل بیماری‌زای اختصاصی است که موجب مرگ و میر و تلفات در آن گونه خاص می‌شود. ولی بدین معنا نیست که آن گونه فاقد سایر عوامل بیماری‌زاست. در گروه‌های SPF، عاری بودن از عامل بیماری‌زا ناشی از مقاومت ذاتی نیست بلکه این ویژگی در یک برنامه پایش و غربالگری دائمی طی چندین نسل بدست می‌آید (Shinde and Kumar Gupta, 2016). به طور کلی، ارزیابی شاخص‌های رشد یکی از ابزارهای معمول تعیین سلامت ماهیان است زیرا هر گونه تغییر نامناسب در این شاخص‌ها می‌تواند نشان از بروز استرس ناشی از شرایط محیطی حاکم و کیفیت نامناسب جیره غذایی باشد که سلامت ماهیان قزل آلا را با مشکل مواجهه ساخته است (Adams and Ryon 1994; Goede and Barton 1990; Munkittrick 1992). در مطالعات انجام شده بر سلامت ماهیان بجز شاخص‌های رشد در برخی مطالعات، از شاخص‌های سرمی و خونی نیز استفاده شده است. در مطالعه وضعیت سلامت ماهیان قزل آلای رودخانه San Juan (آمریکا)، Catherine Sykes و Caldwell (۲۰۰۱) علاوه بر شاخص‌های رشد، از ارزیابی پروتئین تام سرم و هماتوکریت نیز استفاده نمودند. آنالیز شاخص‌های سلولی و بیوشیمیایی خون روشی بسیار مفید است زیرا به دلیل وجود کیت‌های تجاری و ابزار آلات مناسب، روشی ساده است. همچنین چندین نمونه طی مدت کوتاهی مورد آزمایش قرار می‌گیرند و در این روش نیازی به کشتن ماهی نمی‌باشد (Nakagawa *et al*., 2007). آنالیز داده‌های بدست آمده از این آزمایش‌ها می‌تواند تغییرات پاتوفیزیولوژیک حاد یا مزمنی که به تغذیه، کیفیت آب، سموم و بیماری‌ها نسبت داده می‌شوند، مشخص نمایند (Hrubec *et al*., 2001). مطالعات نشان داده است، هورمون‌های جنسی سبب تغییرات در شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان می‌شوند (Kortet *et al*., 2003; Swain *et al*., 2007). لذا، در این مطالعه سعی شده است تا با استفاده از منابع و با تکیه بر عوامل خونی، سرمی و ایمنی تا حدودی دورنمایی از صحت مدیریت تغذیه، پرورش و بهداشت گله مولدین نسل پایه SPF در مقایسه با مراکزی که اقدام به تولید بچه ماهی می‌کنند، بدست آید.

[1] Specific pathogen free (SPF)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

روش کار

مکان و زمان نمونه برداری

در این مطالعه نمونه برداری طی زمان‌های قبل (۳ ماه قبل از تکثیر)، همزمان و بعد از تکثیر (دو ماه بعد از تکثیر) و در سه مکان انجام شد که شامل مرکز نگهداری مولدین SPF در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی (در منطقه دوهزار تنکابن)، مزرعه S (در منطقه سه هزار تنکابن) و مزرعه F (در منطقه گزنک حاشیه رودخانه هراز) بودند. شایان ذکر است، مبنای تأمین ماهیان از این دو مزرعه برای مرکز SPF پاک بودن آنها از ویروس سه بیماری اخطار کردنی IPN، IHN و VHS بود که قبل از انتقال ماهیان بر اساس آزمایش‌های ویروس‌شناسی این مسئله تایید شده بود. همچنین نمونه‌برداری در مرکز SPF از ماهیان تأمین شده از این دو مزرعه انجام شد و نمونه‌برداری در این دو مزرعه نیز از همان گله‌هایی انجام شد که تعدادی از ماهیان آنها به مرکز SPF انتقال داده شده بودند.

نمونه برداری

در هر مرحله نمونه برداری ۳۰ قطعه ماهی (در هر محل) صید و با استفاده از عصاره گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند. بعد از توزین (استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱گرم) خونگیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ استریل انجام گرفت. با خونگیری از هر ماهی (حدود ۲ میلی‌لیتر)، ۰/۵ میلی‌لیتر از آن درون میکروتیوب حاوی هپارین (۳۰ میکرولیتر) و ۱/۵ میلی-لیتر آن به میکروتیوب بدون هپارین منتقل شد. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شدند.

انجام آزمایش‌های خون، سرم و ایمنی شناسی

از نمونه خون‌های هپارینه برای اندازه‌گیری میزان هماتوکریت خون به روش میکروهماتوکریت و اندازه‌گیری هموگلوبین با روش سیانومت هموگلوبین استفاده شد (Blaxhall and Daisley, 1973). نمونه‌های خون در میکروتیوب‌های فاقد ماده ضد انعقاد، به دستگاه سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس سرم جداسازی شده تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری فاکتورهای پروتئین تام، آلبومین، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و IgM تام سرم با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران) و با دستگاه اتوآنالایزر (مدل Eurolyser, Belgium) صورت گرفت (Binaii *et al.*, 2014). میزان فعالیت لیزوزیم سرم با استفاده از روش Ellis (۱۹۹۰) تعیین شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus leutus* صورت گرفت. به طور خلاصه،۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری تهیه شده در بافر سیترات سدیم ۰/۰۵ مولار و pH برابر ۶/۲ به میزان ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه، جذب نوری ۰/۵ و ۴/۵ دقیقه بعد از انکوباسیون در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، قرائت شد. در این مطالعه از لیزوزیم سفیده تخم مرغ لیوفیلیزه شده (Sigma، USA) به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار۱۸ SPSS و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین گروه‌های مختلف بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans Multiple- range test) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($p<0.05$) (Zar, 2007).

نتایج

نتایج نمونه برداری قبل از تکثیر

نتایج نشان داد میزان هموگلوبین و IgM تام سرم در بین ماهیان سه محل مورد بررسی فاقد تفاوت معنی‌دار بود. میزان هماتوکریت و ALP ماهیان مزرعه F به طور

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

معنی‌داری بیشتر از ماهیان مرکزSPF بود ($p<0.05$) و این دو شاخص در بین ماهیان دو مزرعه تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. مقایسه میزان پروتئین تام سرم و آنزیم AST نشان داد که این دو فاکتور بین ماهیان مرکز SPF و مزرعه S فاقد تفاوت معنی دار بودند ($p>0.05$)، ولی میزان این دو شاخص در ماهیان مزرعه F نسبت به ماهیان دو گروه دیگر به طور معنی‌داری بیشتر بودند ($p<0.05$). میزان آلبومین و CPK ماهیان مرکز SPF نسبت به دو گروه دیگر به طور معنی‌داری کمتر بود ($p>0.05$). بیشترین میزان لیزوزیم در ماهیان مرکز SPF مشاهده شد که در مقایسه با ماهیان مزرعه S افزایش معنی‌داری داشت ($p<0.05$) ولی در مقایسه با ماهیان مزرعه F افزایش عددی داشت ($p>0.05$). نتایج توزین ماهیان نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سه گروه ماهیان وجود دارد ($p<0.05$) و کمترین و بیشترین میانگین وزن بترتیب در ماهیان مزرعه S، مرکز SPF و مزرعه F وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱ : مقایسه میانگین برخی فاکتورهای خون، سرم و وزن مولدین قزل آلای رنگین کمان در مرکز SPF و مزارع منتخب قبل از زمان تکثیر

Table 1: Comparison of the some blood and serum indices and weight of rainbow trout brood stock in SPF center and selected farms before propagation time

شاخص	مرکز نگهداری ماهیان		
	مرکز SPF	مزرعه F(هراز)	مزرعه S(سه هزار تنکابن)
هماتوکریت(٪)	۴۲/۶۵ ± ۱/۴۲^{a}	۴۷/۵۵ ± ۱/۱۵^{b}	۴۴/۴۰ ± ۱/۱۰^{ab}
هموگلوبین($grdL^{-1}$)	۸/۸۲ ± ۰/۴۱^{a}	۹/۲۵ ± ۰/۲۰^{a}	۹/۴۵ ± ۰/۳۰^{a}
پروتئین تام سرم($grdL^{-1}$)	۵/۵۷ ± ۰/۲۰^{a}	۶/۸۶ ± ۰/۳۰^{b}	۶/۲۲ ± ۰/۲۳^{a}
آلبومین($grdL^{-1}$)	۳/۴۲ ± ۰/۱۳^{a}	۴/۶۵ ± ۰/۲۳^{c}	۴/۰۱ ± ۰/۱۴^{b}
IgM تام سرم($mgdL^{-1}$)	۸۷/۱۵ ± ۸/۵۲^{a}	۹۵/۸۹ ± ۵/۴۴^{a}	۷۹/۶۶ ± ۰/۴۸^{a}
لیزوزیم(μgmL^{-1})	۵/۰۸ ± ۰/۵۶^{b}	۴/۵۶ ± ۰/۶۴^{ab}	۳/۱۸ ± ۰/۴۸^{a}
(IU)AST	۱۱۵/۶۶ ± ۱۲/۱۱^{b}	۳۱۰/۷۷ ± ۳۲/۱۳^{b}	۱۶۴/۰۲ ± ۱۱/۳۲^{a}
(IU)ALT	۹/۳۷ ± ۰/۸۲^{a}	۲۵/۴۵ ± ۱/۷۰^{b}	۲۴/۶۹ ± ۳/۶۲^{b}
(IU)ALP	۲۵۵/۵۳ ± ۱۶/۲۲^{a}	۳۱۹/۷۴ ± ۲۱/۶۸^{b}	۲۹۵/۱۴ ± ۱۸/۱۶^{ab}
(IU)CPK	۱۱۶۲/۵۹ ± ۱۵۶/۲۹^{a}	۴۸۸۳/۲۹ ± ۵۳۷/۷۲^{c}	۲۵۲۵/۸۳ ± ۱۹۹/۹۰^{b}
وزن(g)	۱۵۷۹/۲۵ ± ۸۱/۶۹^{b}	۲۳۱۲/۹۰ ± ۹۰/۷۱^{c}	۱۳۲۰/۶۰ ± ۶۵/۰۷^{a}

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است. مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

نتایج نمونه برداری همزمان با تکثیر

نتایج حاصل از ارزیابی شاخص‌های خون، سرم و وزن در این مرحله نشان داد، هیچ تفاوت معنی‌داری در میانگین هماتوکریت، هموگلوبین، AST، ALT، آلبومین، توتال پروتئین، IgM تام سرم و لیزوزیم در بین گروه‌های مورد بررسی وجود نداشت ($p>0.05$). نتایج میانگین ALP نشان داد، این فاکتور در ماهیان مرکز SPF به طور معنی داری بیشتر از ماهیان مزرعه F بوده ($p<0.05$)، ولی بین ماهیان مزرعه S و دو گروه دیگر، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p>0.05$). میزان CPK در ماهیان مزرعه S به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه دیگر بود ($p<0.05$) و میانگین وزن در ماهیان مرکز SPF طی این مرحله به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان مزرعه S بود ($p<0.05$) (جدول ۲).

نتایج نمونه‌برداری بعد از زمان تکثیر

نتایج نشان داد که میزان پروتئین تام سرم، آلبومین، ALP و CPK در بین ماهیان سه گروه فاقد تفاوت معنی‌دار بود ($p>0.05$). میزان هماتوکریت، هموگلوبین، IgM تام سرم، ALT و لیزوزیم به طور معنی‌داری در ماهیان مرکز SPF

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

افزایش یافتند و دارای تفاوت معنی‌داری با ماهیان هر دو مزرعه یا با ماهیان یک مزرعه بودند.

جدول ۲: مقایسه میانگین برخی فاکتورهای خون، سرم و وزن مولدین قزل آلای رنگین کمان در مرکز SPF و مزارع منتخب زمان تکثیر

Table 2: Comparison of the some blood and serum indices and weight of rainbow trout brood stock in SPF center and selected farms at the propagation time

شاخص	مرکز نگهداری ماهیان		
	مرکز SPF	مزرعه F (هراز)	مزرعه S (سه هزار تنکابن)
هماتوکریت(٪)	۴۱/۵۰ ±۳/۱۳^{a}	۴۲/۹۰ ± ۶/۹۹^{a}	۴۵/۵ ± ۶/۵۳^{a}
هموگلوبین($grdL^{-1}$)	۷/۱۴ ± ۰/۶۵ ^{a}	۷/۳۷ ± ۰/۹۳^{a}	۷/۷۱ ± ۱/۱۰^{a}
پروتئین تام سرم($grdL^{-1}$)	۶/۰۰ ± ۰/۶۵ ^{a}	۴/۶۷ ± ۱/۰۵^{a}	۵/۶۸ ± ۰/۶۲^{a}
آلبومین($grdL^{-1}$)	۴/۴۷ ± ۰/۶۱ ^{a}	۳/۲۹ ± ۰/۳۷^{a}	۴/۷۷ ± ۰/۵۴^{a}
IgM تام سرم($mgdL^{-1}$)	۹۳/۸۰ ± ۱۰/۱۹^{a}	۸۹/۲۹ ± ۱۴/۶۵^{a}	۱۰۵/۴۹ ± ۱۵/۳۷ ^{a}
لیزوزیم(μgmL^{-1})	۲/۸۴ ± ۰/۶۴^{a}	۲/۵۲ ± ۰/۵۶^{a}	۲/۱۴ ± ۰/۴۳^{a}
(IU)AST	۲۴۴/۴۹ ± ۵۵/۴۸^{a}	۱۲۰/۱۱ ± ۲۰/۵۵ ^{a}	۲۲۵/۱۴ ± ۴۱/۷۰ ^{a}
(IU)ALT	۱۱/۲۲ ± ۱/۹۲^{a}	۷/۴۴ ± ۱/۷۴^{a}	۱۲/۳۹ ± ۲/۴۴^{a}
(IU)ALP	۲۸۸/۲۹ ± ۲۰/۵۹^{b}	۱۶۷/۷۴ ± ۳۲/۶۴ ^{a}	۲۳۷/۰۰ ± ۳۸/۷۷ ^{ab}
(IU)CPK	۴۵۶۹/۲۹ ± ۱۴۸۲/۷۵^{ab}	۲۱۶۲/۳۸ ± ۱۰۹۳/۷۲^{a}	۹۲۰۶/۵۶ ± ۱۶۶۰/۸۹^{b}
وزن(g)	۲۴۳۵/۰۰ ± ۱۵۵/۲۴^{b}	۲۰۷۲/۳۰ ± ۳۴۲/۹۶ ^{ab}	۱۵۰۶/۰۰ ± ۹۰/۸۰ ^{a}

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است. مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

همچنین وزن ماهیان نگهداری شده در مرکز SPF به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان نگهداری شده در دو مزرعه منتخب بود ($p<0.05$) (جدول۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین برخی فاکتورهای خون، سرم و وزن مولدین قزل آلای رنگین کمان در مرکز SPF و مزارع منتخب بعد از تکثیر

Table 3: Comparison of the some blood and serum indices and weight of rainbow trout brood stock in SPF center and selected farms after propagation time

شاخص	مرکز نگهداری ماهیان		
	مرکز SPF	مزرعه F (هراز)	مزرعه S (سه هزار تنکابن)
هماتوکریت(٪)	۵۱/۱۸ ±۶/۴۱^{b}	۴۳/۷۰ ± ۴/۱۶^{a}	۴۲/۷۰ ± ۷/۵۱^{a}
هموگلوبین($grdL^{-1}$)	۹/۶۶ ± ۰/۵۰^{b}	۸/۰۱ ± ۰/۳۱^{a}	۸/۷۶ ± ۰/۶۶^{ab}
پروتئین تام سرم($grdL^{-1}$)	۵/۹۰ ± ۰/۲۹^{a}	۵/۱۰ ± ۰/۳۶^{a}	۵/۸۹ ± ۰/۵۳^{a}
آلبومین($grdL^{-1}$)	۴/۷۱ ± ۰/۳۱^{a}	۳/۹۱ ± ۰/۲۰^{a}	۳/۹۴ ± ۰/۳۳^{a}
IgM تام سرم($mgdL^{-1}$)	۱۴۹/۷۲ ± ۱۱/۵۷^{b}	۱۴۱/۲۸ ± ۷/۳۷^{ab}	۱۰۵/۰۱ ± ۲۰/۸۷^{a}
لیزوزیم(μgmL^{-1})	۴/۰۳ ± ۰/۲۷^{b}	۲/۴۹ ± ۰/۳۹^{a}	۳/۶۱ ± ۰/۳۲^{b}
(IU)AST	۱۸۶/۳۲ ± ۲۰/۴۲^{b}	۱۱۲/۵۸ ± ۱۲/۰۳^{a}	۱۴۴/۲۶ ± ۹/۰۹^{ab}
(IU)ALT	۹/۹۶ ± ۱/۱۴ ^{b}	۴/۱۶ ± ۰/۳۹^{a}	۸/۶۷ ± ۰/۹۶^{b}
(IU)ALP	۲۲۴/۴۹ ± ۲۰/۷۹ ^{a}	۲۱۷/۱۹ ± ۱۸/۸۵^{a}	۲۰۱/۵۳ ± ۲۴/۵۲^{a}
(IU)CPK	۲۴۵۱/۳۲ ± ۱۵۶/۹۵ ^{a}	۲۳۴۰/۸۰ ± ۲۵۸/۹۷^{a}	۲۱۵۳/۵۸ ± ۲۲۷/۳۱^{a}
وزن(g)	۲۶۴۴/۵۴ ± ۱۱۸/۲۸ ^{c}	۱۹۳۸/۰۰ ± ۱۱۴/۲۴^{b}	۱۱۲۰/۰۰ ± ۸۷/۳۰^{a}

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است. مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

بحث

در خصوص ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان مولد با تکیه بر شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی مطالعات مختلفی انجام شده است. (Kortet *et al*., 2003; Nakagawa *et al*., 2007; Swain *et al*., 2007). در این مطالعه براساس نتایج مرحله اول (قبل از تکثیر) مشخص شد، هرچند بسیاری از شاخص‌ها در ماهیان مرکز SPF کمتر از ماهیان دو گله دیگر بود، ولی تفاوتی در میزان IgM تام سرم در بین سه گروه مشاهده نشد و میزان لیزوزیم سرم ماهیان گله SPF در مقایسه با ماهیان مزارع منتخب به طور معنی‌داری (در مقایسه با مزرعه S) یا از نظر عددی (در مقایسه با مزرعه F) بیشتر بود. لیزوزیم یک آنزیم پلی‌پپتیدی است که در خون بوسیله نوتروفیل و مونوسیت آزاد می‌شود. این ترکیب در دستگاه گوارش، طحال، موکوس پوست، آبشش‌ها، کبد و عضلات وجود دارد، ولی دارای بیشترین میزان در کلیه است. ارتباط نزدیک لیزوزیم با سلولهای ایمنی مشخص می‌کند، این ترکیب نقش بسزایی در ایمنی ذاتی دارد (علی و همکاران، ۱۳۹۷). همچنین عوامل استرس‌زا چون حمل و نقل، آلودگی آب، تراکم و دستکاری‌های نامناسب می‌تواند فعالیت آن را کاهش دهد (Saurabh and Sahoo, 2008). Skouras و همکاران (۲۰۰۳) از لیزوزیم به عنوان یک نشانگر حیاتی برای تعیین وضعیت سلامت کفشک ماهی (*Platichthys flesus*) استفاده کردند. لذا، بنظر می‌رسد، بالاتر بودن میزان لیزوزیم در ماهیان مرکز SPF عملکرد صحیح کبد و کلیه را نشان می‌دهد (Skouras *et al*., 2003; Saurabh and Sahoo, 2008) و می‌توان چنین استنباط نمود، مدیریت بهتر پرورش در مرکز SPF توانسته است استرس کمتری را به ماهیان تحمیل کند و سبب عملکرد بهتر دو ارگان حیاتی (کبد و کلیه) شود. نتایج مرحله دوم (زمان تکثیر) نشان داد، بجز تغییرات در آنزیم‌های ALP و CPK در بین گروه‌های تحت بررسی، سایر شاخص‌ها فاقد تفاوت معنی-داری بین ماهیان مزارع منتخب و مرکز SPF بودند. بنظر می‌رسد، توقف یا کاهش شدید تغذیه در زمان تکثیر و نیز افزایش استرس ناشی از تکثیر و تاثیر هورمون‌های جنسی در ماهیان مولد، سبب این عدم تفاوت معنی‌دار در بین شاخص‌های مختلف خونی، سرمی و ایمنی باشد (Kortet *et al*., 2003; Swain *et al*., 2007). در زمان تکثیر، میزان ALP در ماهیان مرکز SPF بیشتر از ماهیان مزارع منتخب بود. ALP آنزیمی متصل به غشاء سلول است که نقش آن حذف عامل فسفات از استرهای آلی حاوی فسفات و نیز تسهیل حرکت مواد از غشا سلول است (Percin and Konyalioglu, 2008)ولی تغییرات یک آنزیم نمی‌تواند چندان در ارزیابی تفاوت بین گروه‌های مختلف قابل استناد باشد. در مرحله سوم (بعد از تکثیر)، میزان هماتوکریت و وزن ماهیان مرکز SPF به طور معنی داری بیشتر از ماهیان دو گروه دیگر بود و هموگلوبین، IgMتام سرم و میزان لیزوزیم در ماهیان مرکز در مقایسه با دو گروه دیگر به طور معنی دار یا از نظر عددی بیشتر بود. مطالعات نشان داده است، بین میزان هماتوکریت و هموگلوبین و بهبود متابولیسم ارتباطی مستقیم وجود دارد. از آنجایی که نقش گلبولهای قرمز و هموگلوبین اکسیژن رسانی به بافتهاست، افزایش آنها می‌تواند اکسیژن رسانی به بافتها را تسریع نماید و متابولیسم را بهبود بخشد (Jawad *et al*., 2004)مطالعات نشان داده است، میزان IgM تام سرم در ماهیان ماده به دلیل انتقال آن به تخم (ایجاد ایمنی مادری در تخم) کاهش می‌یابد. از سویی، طی گرسنگی دوران تکثیر اگرچه گاماگلوبولین‌ها کمتر به عنوان منبع پروتئینی مورد استفاده قرار می‌گیرند ولی مقدار آنها بشدت کاهش می‌یابد ولی با آغاز تغذیه مجدد بخصوص مصرف غذای با کیفیت بسرعت این کاهش جبران می‌شود (Davis *et al*., 1999) . با توجه به افزایش تدریجی وزن ماهیان مرکز SPF، طی دوره بررسی و نیز افزایش معنی‌دار وزن در مقایسه با ماهیان دو مزرعه دیگر بعد از تکثیر، بنظر می‌رسد، اعمال مدیریت مناسب تغذیه در مرکز SPF توجیه کننده افزایش و بهبود شاخص‌های سرمی و خونی در این ماهیان پس از تکثیر باشد. لیزوزیم بخشی از ایمنی ذاتی در پوست است و وجود آن مانع نفوذ عوامل بیماریزا به پوست از جمله زئواسپور ساپرولگنیا می‌شود و وجود این ترکیب به میزان کافی در پوست می‌تواند تلفات ناشی از این قارچ را به

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

حداقل برساند (Azimzadeh and Amniattalab, 2017). میزان لیزوزیم در ماهیان مرکز SPF از نظر عددی از مزرعه S و از نظر آماری از ماهیان مزرعه F بیشتر بود. در عین حال تلفات ناشی از قارچ زدگی پوستی در این دو مزرعه مشاهده شد ولی در مرکز SPF هیچ ماهی ناشی از قارچ زدگی پوستی تلف نشد. بنظر می‌رسد، بجز میزان لیزوزیم استفاده از ازن در آب ورودی به سالن در مرکز SPF بتواند در این زمینه موثر باشد. ازن (O_3) بسیار ناپایدار و تمایل فراوانی به تبدیل شدن به اکسیژن دارد که این کار با تولید اکسیژن نوزاد که فعالیت ضد میکروبی شدیدی دارد، انجام می‌گردد (Forneris *et al*., 2003). در بعضی موارد، تقریباً تمام عوامل بیماریزای باکتریایی را تا حدود ۹۹/۹٪ از بین می‌برد. همچنین از بین رفتن برخی عوامل ویروسی (IPN) در آبهای شیرین و نیز آب دریا در اثر استفاده از ازن مشاهده شده است (Liltved *et al*., 1995). با توجه به موارد مذکور، بنظر می‌رسد، کاهش میزان زئواسپور قارچ در آب ورودی به دلیل استفاده از ازن و بالاتر بودن میزان لیزوزیم در کنارIgM تام سرم ماهیان در مرکز SPF ، پاسخی بر عدم مشاهده تلفات ناشی از قارچ زدگی در مولدین این مرکز باشد و این ماهیان بعد از پشت سر گذاشتن استرس فصل تکثیر توانستند به شرایط مناسب بازگردند. براساس نتایج، هرچند موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز نگهداری مولدین SPF را در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور راه‌اندازی نمود ولی با اعمال دقیق پروتکل‌های اجرایی توانست شرایط سلامت مناسبی را برای مولدین فراهم آورد. در یک نتیجه‌گیری کلی، بنظر می‌رسد، اهمیت شاخص‌های ایمنی و خونی در بین سایر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری، از جایگاه ارزشمندتری برخوردار بوده است و شاخص‌هایی مانند IgM تام سرم، فعالیت لیزوزیم، میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌توانند شاخص‌هایی مناسب در ارزیابی سلامت و نیز پیش بینی عوارضی که سلامت ماهیان مولد را تهدید می‌کنند، باشند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از اطلاعات پروژه با عنوان ارزیابی و تعیین ضوابط بهداشتی و تعیین شاخص های سلامت جهت به گزینی مولدین نسل پایه در مرکز SPF با کد مصوب ۹۴۰۰۱۷-۹۴۰۲-۹۴۰۱-۰۰۴-۱۲-۱۲-۱۳۴۸ از پروژه های زیر طرح کلان تولید قزل آلای رنگین کمان عاری از عوامل بیماریزای خاص (SPF) فاز یک : ایجاد مرکز SPF و تولید مولدین نسل پایه بوده و با بودجه نهاد ریاست جمهوری توسط موسسه تحقیقات علو شیلاتی کشور اجرا شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا مراتب قدرانی خود را از کلیه همکارانی که در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر و مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی که آنان را در اجرای این پروژه یاری رساندند، اعلام نمایند.

منابع

راستیان نسب، ا.، موسوی، س. م.، ذوالقرنین، ح. و حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۹۶. بررسی تأثیر پروبیوآنزیم بر بیان ژن های وابسته به ایمنی و کنترل بیماری دهان قرمز (yersiniosis) در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۶، شماره ۱، صفحات ۱۶۶ – ۱۵۳. DOI:10.22092/ISFJ.2017.110337

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۶. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۵ – ۱۳۹۱. معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع، ۴۴ صفحه.

علی، م.، اکبری، پ.، سلطانیان، س. و غلام حسینی، ا.، ۱۳۹۷. اثر پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید بر رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌های ایمنی ذاتی لارو قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۶، شماره ۱، صفحات ۱۶۶ – ۱۵۳. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.116928

Adams, S.M. and Ryon, M.G., 1994. A comparison of health assessment approaches for evaluating the effects of contaminant-related stress on fish

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

populations. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 3: 15-25. Doi.org/10.1007/BF00045153

AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section), 2007. FHS Blue Book: Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens, 2004 Edition. AFS-FHS, Bethesda, Maryland.

Azimzadeh, K. and Amniattalab, A., 2017. Total sialic acid, oxidative stress and histopathological changes in rainbow trout saprolegniasis (*Oncorhynchus mykiss*). Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 23 (1): 55-62. DOI: 10.9775/kvfd.2016.15812

Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S.M.V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E., Taghavi, M.J. and Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Sellfish Immunology*, 36: 46-51. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.10.001

Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771-81. DOI.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x

Catherine Sykes, C. and Caldwell, C.A., 2001. San Juan River Trout Fishery Monitoring Plan: Fish Health Assessment. New Mexico cooperative fish and wildlife research unit, 107 P.

Davis, C.R., Marty, C.G., Adkison, M.A., Freiberg, E.F. and Hedrick, R.P., 1999. Association of plasma IgM with body size, histopathologic changes and plasma chemistries in adult Pacific herring Clupea pallasi. *Diseases Aquatic Organisms*, 38: 125–33. DOI: 10.3354/dao038125.

Ellis, A.E., 1990. In: Stolen, JS., Fletcher, TC., Anderson, DP., Robertson, BS., Van Muisvinkel WR., editors. Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS Publications, pp. 101-103.

Forneris, G., Bellardi, S. Palmegiano, G.B. Saroglia, M. Sicuro, B. Gascoe L. and Zoccaratoe, I., 2003. The use of ozone in trout hatchery to reducesaprolegniasis incidence. *Aquaculture*, 221:157–166. DOI.org/10.1016/S0044-8486(02)00518-5

Goede, R.W. and Barton, B.A., 1990. Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. *American Fisheries Society Symposium*, 8: 93-108.

Hrubec, T.C., Smith, S.A. and Robertson, J.L., 2001. Age – related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass. *Journal Veterinary clinical pathology*, 30(1): 8-15. DOI: 10.1111/j.1939-165x.2001.tb00249.x.

Jawad, L.A., Al–Mukhtar, M.A. and Ahmed, H.K., 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). *Animal Biodiversity and Conservation*, 27(2): 47 - 52.

Kent, M.L., Feist, S.W., Harper, C., Shelley Hoogstraten-Miller, S., Mac Lawe, J.,

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

Sánchez-Morgado, J.M., Tanguay, R.L., Sanders, G.E., Spitsbergen, J.M. and Whipps, C.M., 2009. Recommendations for control of pathogens and infectious diseases in fish research facilities. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 149: 240–248. DOI: 10.1016/j.cbpc.2008.08.001

Kortet, R., Taskinen, J., Sinisalo, T. and Jokinen, I., 2003. Breeding-related seasonal changes in immunocompetence, health state and condition of the cyprinid fish, *Rutilus rutilus*, L. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 117–127. DOI.org/10.1046/j.1095-8312.2003.00136.x

Liltved, H., Hektoen, H. and Efraimsen, H., 1995. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquaculture Engeeniering*, 14:107-122. DOI.org/10.1016/0144-8609(94)P4430-J

Munkittrick, K.R., 1992. A review and evaluation of study design considerations for site-specifically assessing the health of fish populations. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 1: 283-293. DOI.org/10.1007/BF00044170

Nakagawa, H., Sato, M. and Gatlin III, D.M., 2007. Dietary supplements for the health and quality of cultured fish, CAB International, USA.

Percin, F. and Konyalioglu, S., 2008. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean, *Aquaculture Research*, 39: 945-953. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2008.01954.x

Saurabh, S.S. and Sahoo, P.K., 2008. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39: 223-239. DOI.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x

Shinde, K.P. and Kumar Gupta, S., 2016. Production and management of specific pathogen free and gnobiotic animals. *Rashtriya Krishi*, 11(1): 47-50.

Skouras, A., Broeg, K., Dizer, H., von Westernhagen, H.,Hansen, P.D. and Steinhagen, D., 2003. The use of innate immune responses as biomarkers in a programme of integrated biological effects monitoring on flounder (*Platichthys flesus*) from the southern North Sea. *Helgoland Marine Research*, 57: 190-98. DOI: 10.1007/s10152- 003- 0141- 7

Swain, P., Dash, S., Sahoo, P.K., Routray, P., Sahoo, S.K. Gupta, S.D., Meher, P.K.,C. and Sarangi, N., 2007. Non-specific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. *Fish and Shellfish Immunology*, 22: 38-43. DOI: 10.1016/j.fsi.2006.03.010.

Terech-Majewska, E., 2016. Improving disease prevention and treatment in controlled fish culture. *Archives of Polish Fisheries*, 24: 115-165. DOI.org/10.1515/aopf-2016-0013

Tveteras, R., 2017. Global Fish Production Data & Analysis, Global Aquaculture Alliance, Guangzhou, China.

Whipps, C.M. and Kent, M.L., 2006. Polymerase chain reaction detection of Pseudoloma neurophilia, a common

www.SID.ir

Archive of SID

Zar, J.H., 2007. Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall. 662 P.

microsporidian of zebrafish (*Danio rerio*) reared in research laboratories. *Contemporary topics in laboratory animal science*, 45:13–16.

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Introduction of some serum, immunity and blood indices as health indicators in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brood stock of specific pathogen free fish (SPF)

Ghiasi M.[1*]; Binaii M.[1]; Sepahdari A.[2]; Zorriehzahra S.J.[2]; Safari R.[1]; Kakulaki S.[2]; Yarmohammadi M.[3]; Ghasemi M.[4]; Thaghavi Rostami M.J.[1]

[*]ghiasimaryam4@gmail.com

1-Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran

2-Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

3–International Sturgeon Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran.

4–Inland Waters Aquaculture Research Center, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Anzali, Iran.

Downloaded from isfj.ir at 8:27 +0330 on Saturday January 23rd 2021

Abstract

In this study has been attempted to evaluate some hematological, serological and immunological indices to determine the baseline for determining the health of SPF brood stock. For this purpose, during three sampling stages, before, simultaneously and after breeding time, the blood samples were collected from brood stock fish at the SPF center in the Cold water fisheries research Center (Tonekabon) and two elected farms (F and S). The fish of SPF center were supplied of the two others farms (F and S) and sampling were conducted from same folk at the SPF center and elected farms. Hematocrit, hemoglobin, total protein, albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferees (AST), certain phosphokinase (CPK), alkaline phosphatase (ALP), total IgM and lysozyme were measured. The results showed that before the breeding season, the levels of hemoglobin, ALT and total IgM were not significantly different among the fish in the three centers, but the lysozyme levels of SPF center were significantly and numerically higher than S and F fish farms respectively. Statistical analysis of data showed that there were no significant differences in hematocrit, hemoglobin, total protein, albumin, IgM, AST, ALT and lysozyme levels among the three groups during the breeding season. The results after the breeding season showed that the hematocrit and weight of SPF fish were significantly higher than those two other groups but hemoglobin, IgM and lysozyme levels were significantly and or numerically higher than those two other groups. Based on the results, it seems that the use of blood and serum indices can be used as a tool for health assessment condition, nutrition, rearing and hygiene managements. It seems that the health and nutrition management of the SPF center had been better than two other farms and it caused to improve the hemato-serological and immunological parameters of the SPF fish in compared to the other elected farms fish after breeding time.

Keywords: Albumine, Health indicator, Heamatocrit, Rainbow trout, Specific pathogen free

[*]Corresponding author

www.SID.ir