

## رابطه بین سطوح گلبول‌های سفید و عوارض بافتی در آبشش ماهیان فلاورهورن (Flower horn) تغذیه شده با هیدرولیز پوست گاو

عبدالرحیم وثوقی<sup>۱</sup>، شهرام دادگر<sup>۲</sup>، امیر ویسی<sup>۱\*</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۵۱۱۵۳۳۱۱

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹/۱۴۹۶۵

تاریخ دریافت: ۱۸ خرداد ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۲۸ آبان ۱۳۹۵

### چکیده

در این مطالعه که به منظور بررسی رابطه بین سطوح گلبول‌های سفید و عوارض بافتی در آبشش ماهیان فلاورهورن (Flower horn) صورت گرفت، ابتدا تعداد ۲۱۶ عدد ماهی فلاورهورن با میانگین وزنی  $(0.95 \pm 0.2)$  گرم و میانگین طولی  $(3.7 \pm 0.2)$  میلی‌متر در قالب ۶ تیمار و هر تیمار با سه تکرار به مدت ۱۰۰ روز با جیره‌های حاوی سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو مورد تغذیه قرار گرفتند. تیمار (T1) حاوی ۲۰ درصد، (T2) حاوی ۴۰ درصد، (T3) حاوی ۶۰ درصد، (T4) حاوی ۸۰ درصد و (T5) حاوی ۱۰۰ درصد جایگزینی هیدرولیز پوست گاو به جای آردماهی بودند و جیره کنترل (T6) فاقد هیدرولیز پوست گاو بود. پس از ۱۰۰ روز از ماهیان تیمارهای مختلف به صورت تصادفی نمونه برداری صورت گرفت (هر تیمار ۹ عدد ماهی) و از نمونه‌های به دست آمده عمل خون‌گیری صورت گرفت و سپس از آبشش ماهیانی که خون‌گیری شدند نمونه‌های بافتی تهیه گردید. نتایج مقایسه بین سطوح گلبول‌های سفید خون این ماهیان و بررسی نمونه‌های بافتی آبشش نشان داد که در ماهیان (T4) و (T5) که نسبت به سایر تیمارها دارای میزان پودر هیدرولیز شده بیش‌تری در جیره خود بودند، همگام با کاهش کلی سطح گلبول‌های سفید خون و درصد لنفوسیت، از ناحیه آبشش نیز دارای عوارض بیش‌تری بودند.

**کلمات کلیدی:** گلبول‌های سفید، بافت آبشش، هیدرولیز پوست گاو، ماهی فلاورهورن (Flower horn).

## مقدمه

آبشش یک اندام بسیار مهم در ماهیان است که وظایفی همچون تنفس، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید-باز و دفع مواد زائد نیتروژن دار را به عهده داشته و از جمله مهمترین اندام‌هایی است که می‌توان از آن برای بررسی وضعیت سلامت ماهیان استفاده نمود (Bais and Lokhande, 2012). آبشش به علت داشتن سطح وسیعی که با محیط خارج بدن و میکروفلور محیط و عوامل پاتوژن احتمالی در ارتباط است، در صورت بروز هرگونه ضعف در سیستم ایمنی می‌تواند بسیار حساس و آسیب‌پذیر باشد و به این طریق شرایط نامطلوب سلامت ماهی را بازتاب می‌نماید (Pandey et al., 2008). اختلالات تنفسی یکی از مهمترین نشانه‌های اولیه آسیب به آبشش محسوب می‌گردد که ضعف سیستم ایمنی بدن ماهی می‌تواند موجب افزایش این اختلالات شود (Ellif, 2006). از دیگر شاخص‌هایی که برای بررسی میزان سلامت در ماهیان می‌توان مورد استفاده قرار داد، بررسی تغییرات شاخص‌های خونی است. تغییرات شاخص‌های خون در واقع بازتاب دهنده تغییر در پروسه متابولیسم و بیوشیمیایی ماهی است و تاثیر بالایی را از مواد غذایی مصرفی توسط ماهی می‌پذیرد. مواد غذایی اگر مناسب نباشند می‌توانند اختلالات زیستی مثل کاهش رشد و شاخص‌های هماتولوژی و در نهایت تاثیر بر برخی از بافت‌های مهم بدن ماهی از جمله آبشش را به همراه داشته باشند. بنابراین با اندازه‌گیری مقدار پارامترهای خونی در ماهیان به عنوان معیاری برای ارزیابی سلامت ماهی، می‌توان از بروز احتمالی بیماری‌های متابولیک و تغذیه‌ای پیش‌گیری نمود (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). اطلاعات کمی در مورد تاثیر کاهش گلبول-

های سفید بر بافت آبشش ماهیان از جمله ماهی فلاورهورن در دسترس است. ماهی فلاورهورن با نام تجاری (Flower horn) متعلق به خانواده (Cichlidae) و از زیباترین ماهیان آب شیرین و از گونه‌های هیبرید است. مولد نر این ماهی، از سیکلیدها و گونه *Midas* (*Amphilophus citrinellus*) با نام تجاری Midas است و مولد ماده آن نیز از سیکلیدها و گونه *Trimac* (*Cichlasoma trimaculatum*) با نام تجاری Trimac می‌باشد (دادگر و همکاران، ۱۳۹۰). ماهی فلاور هورن یکی از گونه‌های مهم تجاری است که در ایران طرفداران زیادی دارد. با این حال مطالعات اندکی در زمینه تغذیه و سلامت این ماهی صورت گرفته است. به خصوص که در سال‌های اخیر به علت مشکلات ناشی از تامین آرد ماهی و نیز توسعه روز افزون آبرزی پروری محققان به دنبال یافتن منابع غذایی جدید و مقرون به صرفه برای جایگزینی با آرد ماهی بوده‌اند که لازم است تا تاثیر این مواد بر وجوح مختلف سلامت ماهی مورد ارزیابی قرار گیرد. از جمله این مواد جایگزین می‌توان به هیدرولیز پوست گاو اشاره کرد. هیدرولیز پوست گاو بخشی از جداره داخلی پوست گاو با درصد پروتئین بالا است و دارای مواد مغذی ارزشمندی است. به همین دلیل می‌تواند نقش مهمی را در جیره غذایی آبزیان داشته باشد. میزان تولید جهانی سالانه این ماده در سال ۲۰۱۳، حدود ۲۳۰۰۰۰ تن بوده است. در ایران نیز در سال‌های اخیر تولیدکنندگان خوراک آبزیان و طیور در شهرهای مختلف، با روش هیدرولیز اسیدی ۸۵ درصد اقدام به تولید و استفاده از آن نموده‌اند و در حال حاضر ماهانه ۱۲۰-۱۵۰ تن از این ماده در کشور تولید می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی رابطه بین سطوح مختلف گلبول‌های سفید و عوارض بافتی آبشش ناشی

از کاهش گلبول‌های سفید در ماهیان فلاور هورن تغذیه شده با سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو است.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۲۱۶ عدد لارو ماهی فلاورهورن با میانگین طول کل ۰/۲ ± ۳/۷ میلی‌متر، و میانگین وزن ۰/۹۵ ± ۰/۲ گرم، از مرکز تکثیر ماهیان زینتی با استفاده از روش‌های کاملاً استاندارد (۲۴ ساعت قبل از انتقال قطع غذا و با اکسیژن ۱۶ میلی‌گرم در لیتر به صورت اشباع در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) به محل کارگاه منتقل شد. ماهیان خریداری شده دارای برگه بهداشت بوده و همگی از یک والد بودند (Higgs *et al.*, 1997). در انجام این طرح از ۱۸ عدد تانک به ابعاد ۴۵ × ۳۰ × ۲۵ سانتیمتر استفاده شد و ۱۲ عدد ماهی به صورت کاملاً تصادفی در هر تانک قرار گرفت. دمای آب کارگاه ۱ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۵ ± ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر، pH ۰/۵ ± ۷/۱، سختی آب

۱/۵ ± ۱۶۸ میلی‌گرم در لیتر بود. فرمول جیره توسط نرم‌افزار Win Feed ۲/۸ نوشته شد و ماهیان در قالب ۶ تیمار به مدت ۱۰۰ روز با سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو مورد تغذیه قرار گرفتند. تغذیه تیمار یک (T1) از جیره‌های حاوی ۲۰ درصد هیدرولیز پوست گاو، تغذیه تیمار دو (T2) از جیره حاوی ۴۰ درصد هیدرولیز، تغذیه تیمار سه (T3) از جیره حاوی ۶۰ درصد هیدرولیز، تغذیه تیمار چهار (T4) از جیره حاوی ۸۰ درصد هیدرولیز، تغذیه تیمار پنج (T5) از جیره حاوی ۱۰۰ درصد هیدرولیز و تغذیه تیمار شاهد (T6) از جیره فاقد هیدرولیز پوست گاو استفاده شد. مقدار غذایی که به ماهیان داده شد بر اساس وزن توده زنده در هر زیست‌سنجی بود و روزانه ۲ درصد وزن بدن ماهی غذایی انجام گرفت. در جدول ۱ اجزای جیره غذایی ساخته شده و در جدول ۲ آنالیز شیمیایی تقریبی پروتئین هر یک از جیره‌های غذایی ذکر شده است.

جدول ۱: اجزای جیره غذایی ساخته شده برای ماهی فلاور هورن (Flower horn) برحسب درصد، فرموله شده توسط نرم‌افزار win feed 2.8

| تیمارهای غذایی (درصد) | (۲۰)  | (۴۰)  | (۶۰)  | (۸۰)  | (۱۰۰) | (شاهد) |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| آرد ماهی کلیکا        | ۲۹/۴۲ | ۲۳/۱۷ | ۱۶/۰۶ | ۷/۶۱  | ۰     | ۳۴/۸۳  |
| آرد گندم              | ۱۳/۶۴ | ۱۲/۶۲ | ۲۱/۲  | ۱۱/۴۷ | ۱۱/۵۸ | ۱۰/۵۸  |
| هیدرولیز پوست گاو     | ۷     | ۱۶/۸  | ۲۴/۲۹ | ۲۸/۶۴ | ۳۱/۳۲ | ۰      |
| گلوتن گندم            | ۲۵/۷  | ۲۴/۳۳ | ۱۹/۹۵ | ۲۱/۵۸ | ۳۰/۹  | ۳۳/۷   |
| روغن ماهی کلیکا       | ۴/۰   | ۴/۱   | ۴/۵   | ۴/۷۵  | ۶/۶   | ۶/۹    |
| افزودنی               | ۱۶    | ۱۷/۹۲ | ۱۶    | ۱۶    | ۱۸/۴  | ۱۶     |
| دی کلسیم فسفات        | ۳/۴۰  | ۳/۳   | ۲/۸۰  | ۰/۲۵۵ | ۱     | -      |

\* مواد افزودنی شامل: هم بند ۳ درصد، لیزین ۱ درصد، متیونین ۱ درصد، آستاگزانتین ۲ درصد، ضدقارچ ۰/۵ درصد، پیش مخلوط معدنی ۲/۵ درصد، پیش مخلوط ویتامین ۳ درصد، آنتی‌اکسیدان ۱ درصد.

جدول ۲: آنالیز شیمیایی تقریبی پروتئین و انرژی هر یک از جیره‌های غذایی بر حسب درصد

| تیمارهای غذایی (درصد) | (۲۰)    | (۴۰)    | (۶۰)    | (۸۰)    | (۱۰۰)   | (شاهد)  |
|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| پروتئین (%)           | ۴۱/۲    | ۴۲/۳۵   | ۴۱/۱۸   | ۴۱/۱۲   | ۴۱/۵۵   | ۴۲/۱۳   |
| انرژی (Kcal/kg)       | ۴۲۱۲/۱۰ | ۴۲۲۰/۰۰ | ۴۲۳۱/۱۱ | ۴۲۳۴/۲۰ | ۴۲۳۵/۲۲ | ۴۲۳۶/۲۱ |

سپس نمونه خون با استفاده از سمپلر به درون لوله حاوی نات هریک ریخته شد. برای مخلوط شدن خون و نات هریک چند بار خون در داخل لوله حاوی محلول نات هریک بالا و پایین کشیده شد تا خون و نات هریک به طور کامل مخلوط شدند. بعد از ۳۰ ثانیه به وسیله سمپلر نمونه مخلوط شده خون و نات هریک برداشته شد و سپس یک قطره روی لام هموسیتمتر نتوبار ریخته شد و پس از ثابت شدن سلول‌ها در داخل لام با بزرگنمایی ۴۰ تعداد گلبول‌های سفید در ۴ مربع بزرگ ۱۶ تایی در ۴ کنج لام مورد شمارش قرار گرفت و در عدد ۵۰ ضرب گردید ( Simmons, 1977).

### روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

داده‌های حاصل از انجام زیست‌سنجی پس از ورود به صفحات Excel، مورد بررسی اولیه قرار گرفتند و میانگین داده‌ها از طریق این نرم‌افزار محاسبه گردید. سپس داده‌ها به نرم‌افزار Spss نسخه ۱۷ منتقل گردیدند و در گام نخست نرمال بودن پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون Kolomogrov-Smirnov مشخص شد و سپس با استفاده از آزمون one-way ANOVA وجود یا عدم وجود اختلاف بین تیمارها بررسی گردید و پس از مشاهده اختلاف معنی‌دار از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین تکرارها استفاده گردید.

در پایان دوره از ماهیان خون‌گیری صورت گرفت. برای این منظور ابتدا با استفاده از اسانس گل میخک با غلظت ۰/۱ درصد، ماهی‌ها بیهوش شدند. سپس ساقه دمی قطع شد و از ورید ساقه دمی ماهی‌ها نمونه خون گرفته شد (جمال زاده، ۱۳۸۰). خون‌گیری از تمام ماهیان هر آکواریوم به روش قطع ساقه دمی انجام شد و خون گرفته شده از ماهی به داخل لوله‌های پلاستیکی (ویال) حاوی EDT (ماده ضد انعقاد) ریخته شد و لوله را به آرامی تکان داده تا خون و EDT کاملاً مخلوط شدند (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۰). سپس آبشش ماهی‌هایی که از آن‌ها عمل خون‌گیری صورت گرفت، جدا گردید و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد به عنوان ماده فیکساتور، فیکس شدند. تهیه مقاطع میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی به روش H&E طبق روش‌های استاندارد (پوستی و مرادی، ۱۳۹۱) صورت پذیرفت و مقاطع تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری ساخت شرکت REICHERT-JUNG مورد بررسی قرار گرفتند (Ellif, 2006).

### شمارش گلبول‌های سفید

برای شمارش گلبول‌های سفید ابتدا ویال حاوی خون را کاملاً تکان داده تا خون یکنواخت شد و سپس با ماده نات هریک به نسبت ۱ خون به ۲۰ نات هریک مخلوط گردید. به این طریق که ابتدا با سمپلر محلول نات هریک برداشته شد و داخل یک لوله ریخته شد.

### نتایج

نتایج مربوط به سنجش گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف پس از یک دوره ۱۰۰ روزه تغذیه با جیره‌های حاوی هیدرولیز پوست گاو در جدول ۳-۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های سفید، با میانگین  $(1/82 \pm 1/81) \times 10^3$  مربوط به تیمار T2 بود ( $P < 0/05$ ). در شمارش تفریقی گلبول‌های سفید بیشترین میزان نوترفیل با میانگین  $72/66 \pm 2/11$  درصد مربوط به تیمار T5 و کمترین

میزان آن با میانگین  $62/33 \pm 1/84$  مربوط به تیمار T2 بود. بیشترین میزان لنفوسیت با میانگین  $35/66 \pm 1/76$  مربوط به تیمار T2 و کمترین میزان آن با میانگین  $2/33 \pm 0/21$  و بیشترین میزان منوسیت با میانگین  $25/00 \pm 1/37$  و  $2/33 \pm 0/33$  و  $2/33 \pm 0/21$  درصد به ترتیب مربوط به تیمارهای T5 و T4 و کمترین میزان آن با میانگین  $1/66 \pm 0/18$  مربوط به تیمار T1 بود که در تمامی موارد اختلافات با گروه شاهد در حد معنی‌دار بودند ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳: مقایسه فاکتورهای خونی ماهیان فلاورهورن تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) طی ۱۰۰ روز دوره پرورش

| فاکتور          | T6                            | T5                            | T4                            | T3                            | T2                            | T1                            |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| گلبول سفید      | $(17/9 \pm 2/31) \times 10^3$ | $(17/1 \pm 1/31) \times 10^3$ | $(17/4 \pm 1/12) \times 10^3$ | $(17/4 \pm 0/95) \times 10^3$ | $(18/1 \pm 1/82) \times 10^3$ | $(17/7 \pm 1/54) \times 10^3$ |
| نوتروفیل (درصد) | $65/33 \pm 1/33$              | $72/66 \pm 2/11$              | $67/66 \pm 1/73$              | $67/33 \pm 2/34$              | $62/33 \pm 1/84$              | $64/66 \pm 2/09$              |
| لنفوسیت (درصد)  | $32/66 \pm 0/81$              | $25/00 \pm 1/37$              | $30/00 \pm 2/61$              | $30/66 \pm 0/45$              | $35/66 \pm 1/76$              | $33/66 \pm 0/64$              |
| منوسیت (درصد)   | $2/00 \pm 0/18$               | $2/33 \pm 0/21$               | $2/33 \pm 0/33$               | $2/00 \pm 0/33$               | $2/00 \pm 0/21$               | $1/66 \pm 0/18$               |

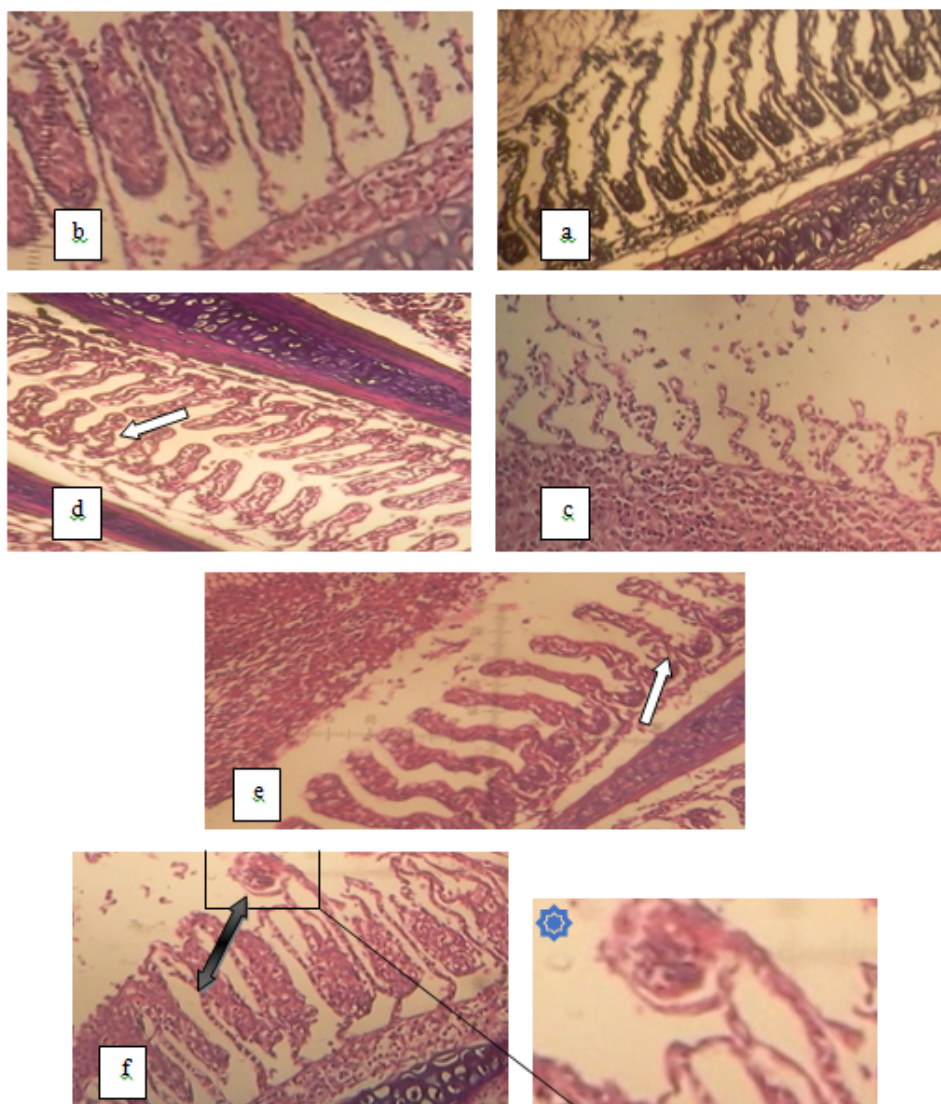
\*وجود حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

T1 (شکل 1a) و تیمار T2 (شکل 1b) در مقایسه با تیمار شاهد (شکل 1c) فاقد تغییرات قابل توجهی بودند. در سه تیمار فوق میزان گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت از سایر تیمارها بیش‌تر بود ( $P < 0/05$ ). در بافت آبشش برخی از ماهیان تیمار T3 (شکل 1d)، که در مقایسه با تیمار شاهد میزان گلبول‌های سفید کم‌تری داشتند، بعضی از تیغه‌های ثانویه نسبت به لاملاهای

نتایج مربوط به تغییرات بافتی آبشش ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو در شکل (۱) نشان داده شده است. به طور کلی بافت آبشش در ماهیان این مطالعه سالم بود اما تغییرات بافتی محدودی نیز در آبشش برخی از ماهی‌های تیمارهای مختلف دیده شد که البته عارضه پاتولوژیک جدی محسوب نمی‌شوند. بافت آبشش در ماهیان تیمار

برخی از ماهیان تیمار T4 دچار هایپرپلازیا شده بودند. در نمونه‌های آبخش برخی از ماهیان تیمار T5 برخی از لاملاها حالت چماقی پیدا کرده بودند که با آنیورسم (پرخونی) همراه بود. همچنین برخی از لاملاها نسبت به لاملاهای دیگر کوتاه‌تر بودند.

دیگر اندکی عریض‌تر بودند. تغییرات مشاهده شده در تیمارهای T4 (شکل ۱e) و T5 (شکل ۱f) که به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) میزان گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت کم‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند، بیش‌تر بود. پایه برخی از تیغه‌های ثانویه آبخش مربوط به



شکل ۱: بافت آبخش در ماهیان فلاورهورن (Flower horn) تغذیه شده با سطوح مختلف هیدرولیز پوست گاو. a، b و c فاقد عارضه قابل توجه. d عریض شدن لاملا (فلش سفید). e هایپرپلازیا در پایه لاملا (فلش سفید). f کوتاه و بلند شدن بعضی از لاملاها (فلش سیاه)، چماقی شدن و آنیورسم در انتهای لاملا (☆). بزرگ‌نمایی  $10 \times$

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که ماهیان تیمارهای (T1)، (T2) و (T6) که از نظر میزان گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت‌ها نسبت به سایر تیمارها در شرایط بهتری بودند ( $P < 0/05$ )، دارای بافت آبشش سالم‌تری نسبت به سایر تیمارها بودند. کم‌ترین میزان گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها و به طبع آن بیش‌ترین میزان عوارض بافتی در آبشش ماهیان تیمار (T5) مشاهده گردید. به طور کلی با افزایش هیدرولیز پوست گاو از سطح ۶۰ درصد جایگزینی با آرد ماهی، همگام با کاهش معنادار سطح گلبول‌های سفید عوارض بافتی بیش‌تری در آبشش ماهیان فلاورهورن دیده شد. وقتی از روش‌های خون‌شناسی در تشخیص بیماری‌های ماهی استفاده می‌شود، باید عوامل موثر بر فاکتورهای خونی را نیز مد نظر داشت (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). آنچه که از نتایج مطالعات دیگران روی گونه‌های مختلف ماهی به‌دست آمده؛ مؤید آن است که پارامترهای خونی ماهی تحت تأثیر مجموعه‌ای از فاکتورهای بیولوژیکی (Benfey and Biron, 2000)، تغذیه‌ای و محیط (Luskova, 1998) قرار دارد و از بین این عوامل نیز، تأثیر جیره غذایی در فاکتورهای خونی، اهمیت ویژه‌ای دارد (Barnhart, 1969). درخصوص فاکتورهای خونی و نیز بافت آبشش ماهی فلاورهورن تاکنون مطالعه منتشر شده‌ای صورت نگرفته است. در مطالعه‌ای که توسط (باتمانی، ۱۳۹۰) روی ماهیان زینتی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۱ درصد، ۰/۲ درصد و ۰/۳ درصد زردچوبه صورت گرفت، تعداد گلبول‌های سفید با افزایش میزان زردچوبه در جیره، افزایش یافت اما این افزایش در حد معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). همچنین در

مطالعه‌ای که توسط مورکی و همکاران (۱۳۹۱) صورت گرفت، با افزایش پودر دارچین در جیره غذایی ماهی گرین ترور تا سطح ۳ درصد، میزان گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت در خون ماهیان افزایش و از میزان نوتروفیل‌ها کاسته شد. در مطالعه حاضر نیز با افزودن هیدرولیز پوست گاو تا سطح ۴۰ درصد علاوه بر افزایش میزان گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها، از میزان نوتروفیل‌ها کاسته شد. در مطالعه‌ای که توسط علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) صورت گرفت با بررسی اثر لوامیزول به عنوان یک مکمل غذایی بهبود دهنده سیستم ایمنی و رشد در جیره غذایی کپور معمولی در تعداد گلبول‌های سفید افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند. بنابراین نتایج حاصل از مطالعه فوق نیز همچون مطالعه حاضر تأثیرپذیری گلبول‌های سفید از جیره غذایی را تایید می‌نماید. چرا که محیط داخل و خارج از بدن ماهی تنها به وسیله تعداد کمی از رشته‌های اپیتلیوم آبشش جدا شده است (Ellif, 2006). در مطالعه‌ای که توسط پیکان حیرتی و همکاران (۱۳۹۲) صورت گرفت اثرات دوزهای مختلف کادمیوم بر شاخص‌های خونی و ساختار بافت آبشش ماهی استریلیاد (*Acipenser ruthenus*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم تا سطح ۶۴ میکروگرم در لیتر بافت آبشش متحمل تغییرات متعددی همچون هیپرپلازیا، هیپرتروفی و ادم سلول‌های اپیتلیال رشته‌های آبششی، نکروز رشته‌ها و تیغه‌های ثانویه آبششی شد و اکثر شاخص‌های خونی مانند گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت‌ها نسبت به تیمار شاهد با کاهش همراه بود اما این کاهش در سطح معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). در سال ۲۰۰۳ در مطالعه‌ای که توسط Hoda و Hasan در سال ۲۰۰۳

انجام گرفت، اثرات شوری و آلودگی رودخانه قارون روی بافت آبشش ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات نشان داد بافت اپیتلیوم تیغه‌های اولیه دچار هایپرپلازیا شده و تعداد سلول‌های کلراید و موکوس موجود در بین رشته‌های آبشش افزایش یافته است. Munira و همکاران در سال ۲۰۰۹ گربه ماهیان (*Heteropneustes fossilis*) را به مدت ۲۴ ساعت در معرض ۵۰ درصد اتیل الکل جدا شده از عصاره گیاه *Madhuca indica* قرار دادند و سپس تغییرات بافت آبشش، کبد و روده این ماهیان را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بافت آبشش این ماهیان عوارضی مانند ادم در تیغه‌های اولیه، کوتاه و بلند شدن برخی از تیغه‌های ثانویه و نکروز بافت اپیتلیال را نشان داد. در مطالعه‌ای که توسط Ellif در سال ۲۰۰۶ روی بافت آبشش صورت گرفت، تعدادی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به مدت ۹۶ ساعت در معرض دوزهای ۰/۰۲۹ و ۰/۰۴۱ mg/l Deltametherin قرار گرفتند. در بررسی نتایج بافت آبشش ماهیان هر دو تیمار، بروز ضایعات جلدی و نکروز آبشش‌ها، آنیورسم (پرخونی) در تیغه‌های ثانویه و هایپرپلازیا در بافت اپیتلیال به وضوح قابل مشاهده بود. Erkmen و همکاران (2000) در بررسی بافت آبشش ماهیان زینتی (*Lepistes reticulatus*) که در معرض دوزهای مختلف سم شیمیایی Cyphenothrin قرار گرفته بودند، عوارضی مانند ادم یا خیز لایه اپیتلیال تیغه‌های اولیه، کوتاه شدن تیغه‌های ثانویه و بروز ضایعات نکروز مانند در این تیغه‌ها را مشاهده کردند. تغییرات بافتی که در یک ماهی در شرایط نامساعد و استرس به وقوع می‌پیوندد، در واقع حاصل عملکرد سیستم ایمنی بدن در

جهت مقابله برای مبارزه با عوامل بیماری‌زا تا رسیدن به شرایط مطلوب و آرمانی است. برای مثال ادم یا خیز بافت اپیتلیوم، مسافتی که عوامل بیماری‌زا تا رسیدن به جریان خون باید طی کنند را افزایش می‌دهد و هایپرپلازیای بافت آبشش به عنوان یک مکانیسم دفاعی، منجر به افزایش سطح تنفس ماهی در شرایط استرس می‌گردد (Ellif, 2006). آبشش اولین اندامی است که پس از قرار گرفتن در معرض هرگونه ماده خارجی و شرایط نامطلوب محیطی تحریک شده و عکس العمل دفاعی نشان می‌دهد (پوستی و مروستی، ۱۳۸۷). بنابراین چنانچه محیطی که در آن ماهی به تبادل مواد و گازها می‌پردازد محیط سالمی نباشد یا موادی که ماهی از محیط می‌گیرد فاقد کیفیت مناسب باشد و به هر حال به ضعف سیستم ایمنی ماهی بیانجامد، بافت آبشش می‌تواند دچار آسیب‌های جدی گردد. در این مطالعه در ماهیان تغذیه شده با سطوح بالاتر از ۴۰ درصد هیدرولیز پوست گاو، با توجه به کاهش سطح گلبول‌های سفید خون، بافت آبشش نیز با کاهش کیفی سلامت همراه بود که می‌توان دلیل آن را به استرس ناشی از تغییرات گلبول‌های سفید در اثر مصرف جیره‌های غذایی نامناسب و افت کلی وضعیت رشد و سلامت ماهی نسبت داد. بنابراین با توجه به اندازه‌گیری نمونه‌های خونی می‌توان دریافت که ماهیان تیمارهای T3، T4 و T5 که میزان گلبول سفید خون کم‌تری نسبت به سایر تیمارها داشتند به خاطر کاهش توان سیستم ایمنی بدن این ماهی‌ها در مقابل میکروفلور آب موجود در آکواریوم‌ها دچار عوارض بافتی بیش‌تری در ناحیه آبشش شدند.

## سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

## منابع

۱. باتمانی، ی.، ۱۳۹۰. بررسی اثر کاربرد پودر زردچوبه (*Curcuma longa*) در جیره غذایی ماهی زینتی گرین ترور (*Andinocara rivulatu*) بر شاخص‌های رشد، سنجش پارامترهای خونی و بررسی تغییر رنگ ظاهری. بدن. دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و فنون دریایی تهران شمال. پایان نامه کارشناسی ارشد. ۱۲۰ صفحه.
۲. پوستی، الف.، مرادی، الف.، ۱۳۹۱. بافت شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. انتشارات دانشگاه تهران، ۵۳۱ صفحه.
۳. پیکان حیرتی، ف.، عروجعلی، م.، درافشان، س.، محبوبی صوفیانی، ن.، ۱۳۹۲. فصلنامه علوم و فنون شیلات. اثر غلظت‌های تحت کشنده کادمیوم بر برخی شاخص‌های خون شناسی بچه ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)، فصل نامه علوم و فنون شیلات، ۲، ۱۱-۲۲.
۴. جمال زاده، ح.، کیوان، الف.، جمیلی، ش.، عریان، ش.، سعیدی، ع.، ۱۳۸۰. بررسی برخی فاکتورهای خونی آزاد ماهی دریای خزر. مجله علمی شیلات، ۱، ۲۰-۲۶.
۵. دادگر، ش.، اکبری، ح.، سرپناه، ع.، ۱۳۹۰. اطلس ماهیان آکواریومی آب شیرین. انتشارات موج سبز، تهران، ۲۲ صفحه.
۶. علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، زرگر، الف.، ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، آرگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۲، ۱۳۵-۱۴۲.
۷. مورکی، ن.، ۱۳۹۱. فرمولاسیون جیره بهینه با توجه به تعیین سطح اپتیمم پروتئین مورد نیاز برای پرورش ماهی زینتی گرین ترور (*Andinocara riverivulatus*) دانشکده علوم و فنون دریایی تهران شمال. پایان نامه دانشجویی، ۱۲۸ صفحه.
8. Bais, U.E., Lokhande, M.V., 2012. Effect of cadmium chloride on histopathological changes in the fresh water fish *Ophiocephalus striatus* (Channa), International Journal of Zoology Research, 8 (1), 23-32.
9. Barnhart, R.A., 1969. Effects of certain variables on haematological characteristics of rainbow trout. *Salmo gairdneri* (Richardson). Transactions of the American Fisheries Society, 98, 411-418.
10. Benfey T.J., Biron, M., 2000. Acute stress in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture, 184, 167-176.
11. Ellif. I.C., 2006. Gill and kidney histopathology in the fresh water fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. Environmental toxicology and Pharmacology, 22, 200-204.
12. Erkmén, B., Caliskan, M., Yerli, S.V., 2000. Histopathological effects of cyphenothrin on the gills of *Lebistes reticulatus*. Vet.Hum.Toxicol, 42(1), 57.
13. Higgs, D.A., Markert, J.R., Macourarie, D.W., McBride, J.R., Dosanjh, B.S., Nichols, C. and Hoskins, G. 1979. Development of practical dry diets for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, using poultry by-product meal, feather meal, soybean meal and rapeseed meal as major protein sources. Tiews and J.E. Halver (Eds.), Finfish Nutrition and Fish Feed Technology, Vol. II, Hieennemann GmbH, Berlin, 191-218.
14. Hoda, M.S., Hasan S.G., 2003. Histological and ultrastructural observation on gill of *Tilapia nilotica* L. (*Oreochromis niloticus*) in Lake Qarun, Fayoum province, Egypt. Egypt j. aqual Biol and Fish, 7(4), 157-181.
15. Luskova V., 1998. Factors affecting haematological indices in free-living fish populations. Acta Veterinaria Brno, 67, 249-250.
16. Munira, N., Mohammad, A., Ashraf, U., 2009. Histopathological changes in the gill, liver and intestine of *Heteropneustes fossilis* (Blooch)

- elements on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a fresh water fish, *Channa punctate* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*. 174, 183-192.
18. Simmons, A., 1997. *Hematology*. Butterworth-Heinemann, 507 P.
- treated with extracts of different parts of the plants *Madhuca Indica* (G.F.Gmel), 4, 113-119.
17. Pandey, S., Parvez, S., Ansari, A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F., Raisuddin, S., 2008. Effects of exposure to multiple trace