

اثرات تغذیه‌ای قارچ صدف (*Pleurotus ostreatus*) بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در مواجهه با سم کلرپیریفوس

چکیده

استفاده از سموم آفت‌کش در بدنه‌های آبی باعث پاسخ استرس در آبزیان و بخصوص ماهی‌ها می‌شود که نهایتاً بر وضعیت فیزیولوژیک ماهیان اثرگذار بوده و باعث کاهش عملکرد ایمنی در آن‌ها می‌شود، ازاین‌رو استفاده از محرک‌های ایمنی نظیر پریبیوتیک‌ها بسیار ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه تعیین تأثیر سطوح مختلف پریبیوتیک قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) بر شاخص‌های ایمنی سرم ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) مواجهه شده با سم کلرپیریفوس بود. این پژوهش در پاییز ۱۳۹۷ در سالن آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت، به همین منظور تعداد ۱۲۰ بچه ماهی تیلاپیا در ۴ تیمار: تیمار (۱) شاهد، فاقد پریبیوتیک قارچ صدفی، تیمار (۲) غذای حاوی ۰/۰۵ تیمار (۳) غذای حاوی ۰/۱ و تیمار (۴) غذای حاوی ۰/۲ درصد پریبیوتیک قارچ صدفی تقسیم و به مدت ۴۲ روز در ۲ نوبت (صبح و عصر) با غذای حاوی پریبیوتیک تغذیه شدند. سپس به هرکدام از گروه‌ها غلظت ۰/۵ ppm سم کلرپیریفوس به مدت ۱۶ روز اضافه‌شده و شاخص‌های بیوشیمیایی ماهیان در سطوح مختلف ارزیابی شد. شاخص‌های ایمنی سرم با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز قلیایی (ALP) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) در تیمارهای مواجهه با سم کلرپیریفوس افزایش قابل‌توجهی نسبت به گروه شاهد داشت و میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلبومین، ایمنوگلوبولین و پروتئین کل تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت، همچنین میزان گلوکز در تیمارهای مواجهه با سم فوق کاهش معنی‌داری داشت. نتیجه کلی مطالعه حاضر نشان داد که تیمار تغذیه‌شده با ۰/۰۵ درصد پریبیوتیک قارچ صدفی در جیره می‌تواند بهترین تأثیر محافظتی را بر تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی تیلاپیا مواجهه یافته با سم کلرپیریفوس با غلظت ۰/۵ ppm را داشته باشد.

واژگان کلیدی: پریبیوتیک، سم کلرپیریفوس، ماهی تیلاپیا، قارچ صدفی *Pleurotus ostreatus*.

مقدمه

امروزه با افزایش روزافزون رشد جمعیت، جهان با کمبود مواد غذایی روبه‌رو است و تأمین غذای جمعیت جهانی وابسته به رشد کشاورزی است. بشر برای افزایش تولیدات کشاورزی، مصرف سموم دفع آفات نباتی را افزایش داده است که این افزایش مصرف با مشکلات زیست‌محیطی متعددی همراه بوده است (Rezaei shadegan et al., 2018; Ecobichon, 1996). ازجمله سموم پرکاربرد سموم ارگانوفسفره مانند کلرپیریفوس است (Assis et al., 2010). کلرپیریفوس ((phosphorothioate) (O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)) بانام تجاری دورسبان Dursban EC40.8%، حشره‌کش و کنه‌کش تماسی، گوارشی و تنفسی است که از طریق ریشه و برگ گیاهان جذب می‌شود. توانایی این سم در مهار آنزیم کولین‌استراز در سیستم عصبی جانوران است و سبب توقف فعالیت بیولوژیکی آنزیم کولین‌استراز شده و

عاطفه ایری^۱

یلدا علیزاده^۲

فرحناز کاکاوند^۳

علی‌اکبر هدایتی^{۴*}

مریم رضایی شادگان^۵

۱. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

گرگان، ایران.

۲. گروه شیلات، دانشگاه پردیس کشاورزی و منابع

طبیعی تهران.

*مسئول مکاتبات:

hedayati@gau.ac.ir

کد مقاله: ۱۴۰۰۱۰۸۷۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۳۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح پژوهشی

است.

در نتیجه اختلال در سیستم عصبی مرکزی و مرگ آن‌ها را به دنبال دارد (Farrell and Brauner, 2014). با توجه به ماهیت اغلب سموم و آلاینده‌های محیط‌زیستی، این ترکیبات به راحتی از سد دفاعی بدن آزیان گذشته و وارد خون می‌شوند و از طریق خون به بخش‌های مختلف بدن انتقال می‌یابند. مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی خون به عنوان بیومارکرها (نشانگر زیستی) عموماً به یک شاخص قابل سنجش از برخی شرایط بیولوژیک یا زیستی اشاره دارد. از جمله مهم‌ترین شاخص‌های زیستی شاخص‌های خون‌شناسی، بیوشیمیایی، هورمونی و بافتی است (Van der Oost, 2003؛ هدایتی و همکاران ۱۳۹۲).

مطالعات زیادی از اثرات سموم بر آزیان انجام شده است از جمله حنایی کاشانی و همکاران (۱۳۹۵) که میزان سمیت آفت‌کش دیازینون را بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*) بررسی نموده که میزان ALP به طور معنی‌داری کاهش و میزان AST، ALT و توتال پروتئین و گلوبولین نیز به صورت معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$). در مطالعه‌ای دیگر توسط EL-Bouhy و همکاران (۲۰۱۶) تعیین سطح سم کلرپیریفوس و بررسی غلظت تحت کشنده این آفت‌کش بر پاسخ ایمنی در ماهی تیلاپیا نیل صورت گرفت و نتایج نشان داد که این غلظت‌ها سبب تغییر پارامترهای کل گلوبولین (M) و ایموگلوبولین (IgM)، لیزوزیم، شده است. همچنین اسفندیار و همکاران (۱۳۹۵) اثرات غلظت‌های تحت کشنده کلرپیریفوس بر فعال‌انزیم‌های سرمی و شاخص‌های استرس در ماهی کپور معمولی را بررسی کردند و نشان داد که سم کلرپیریفوس تأثیر مثبتی بر آنزیم‌ها دارد، هر چه میزان سم افزایش می‌یابد، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌گردد.

مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها به عنوان فرآورده‌های طبیعی و ایمن، گزینه‌ی خوبی برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها و همچنین افزایش رشد آزیان می‌باشند. از خواص پریبیوتیک‌ها می‌توان به تحریک و ارتقاء سیستم ایمنی بدن، افزایش کارایی غذایی که این امر از طریق تولید ویتامین‌ها، افزایش قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب انجام می‌گیرد اشاره کرد (Mahious et al., 2005). امروزه تلاش جهت یافتن پریبیوتیک‌هایی با منشأ طبیعی گسترش یافته است. از متداول‌ترین قارچ‌های پرورشی در جهان قارچ صدفی *Pleurotus spp* می‌باشد. افزایش تحریک پاسخ‌های ایمنی با افزودن مکمل‌های غذایی مانند باکتری، قارچ خوراکی و تیمار ترکیبی می‌تواند از اهمیت بالایی در منابع آبی برخوردار باشد (kavand et al., 2020). این مکمل‌های غذایی می‌توانند به طور مستقیم سازوکارهای دفاعی اولیه را از طریق اثر برگرفته‌ها و ژن‌های مسئول، فعال سازند. تمام پژوهش‌هایی که روی قارچ‌ها صورت گرفته است آن‌ها را به علت دارا بودن شمار زیادی از ترکیبات فعال زیستی به عنوان یک مکمل غذایی طبیعی مورد تأیید قرار داده‌اند (Kakavand et al., 2020; Wasser, 2002). مخصوصاً بتاگلوکان موجود در قارچ می‌تواند با اتصال به گیرنده‌های پروتئینی موجود در سطح ماکروفاژها، منجر به فعال شدن آن‌ها و در نتیجه حفظ و تقویت سیستم ایمنی گردد (Wasser et al., 2010). Katya و همکاران (۲۰۱۶) تحقیقی به منظور ارزیابی اثر قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) به عنوان یک افزودنی در جیره غذایی گربه‌ماهی (*Silurus asotus*) انجام دادند، بررسی‌ها نشان داد که دوزهای متفاوتی از جیره غذایی فوق می‌تواند تأثیر مثبتی بر رشد و ایمنی گربه‌ماهی داشته باشد. Khodadadian Zou و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای اثرات استفاده از پودر قارچ *Agaricus bisporus* به عنوان مکمل غذایی در جیره بر ایمنی موکوس پوست و بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی موکوسی و سرمی در بچه ماهی کپور معمولی را بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از پودر قارچ در جیره تأثیر مثبتی بر افزایش بیان ژن‌های درگیر در ایمنی داشت که قارچ را به عنوان یک منبع پریبیوتیکی مهم مورد تأیید قرار می‌دهد (Khodadadian Zou et al., 2016). سپهر فر و همکاران در سال ۲۰۱۸ تأثیر استفاده مجزا و توأم پریبیوتیک (*Pediococcus acidilactici*) و پودر (*Agaricus bisporus*) بر شاخص‌های ایمنی موکوس و هیستومورفولوژی روده در بچه ماهی کپور معمولی را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد جیره غذایی دارای مکمل‌های غذایی فوق، موجب بهبود شاخص‌های ایمنی موکوس شدند (سپهر فر و همکاران، ۲۰۱۸)، پژوهش دیگری باهدف بررسی نقش بالقوه β -گلوکان در بهبود ایمنی ناشی از کلرپیریفوس در تیلاپیا نیل توسط Dawood و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد که نتایج نشان داد قرار گرفتن در معرض کلرپیریفوس

باعث تغییر قلیایی فسفاتاز خون (ALP) نمی‌شود اما آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، قلیایی فسفاتاز (ALP) و سطح کورتیزول را افزایش می‌دهد درحالی‌که تجویز β -گلوکان میزان AST، ALP و کورتیزول و β -گلوکان را به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌دهد. در پژوهش Mokhbatly و همکاران (۲۰۲۰) نقش محافظتی اسپیرولینا (*Spirulina platensis* (SP) و β -گلوکان (BG) در گربه‌ماهی آفریقایی در معرض سمیت مزمن کلرپیریفوس بررسی نمودند که ماهی‌های در معرض سم کلرپیریفوس افزایش قابل‌توجهی در آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کلسترول همچنین پروتئین‌های کل، آلبومین، گلوبولین‌ها و غلظت لیپوپروتئین مشاهده شده است. Abdel-Daim و همکاران در سال (۲۰۲۰) پژوهشی از تأثیر اسپیرولینا *Spirulina platensis* بر آسیب اکسیداتیو ناشی از سمیت Chlorpyrifos در *Nila Tilapia (Oreochromis niloticus)* انجام دادند؛ که تحت قرار گرفتن در معرض CPF، SP اثرات پیشگیرانه و ترمیمی را در برابر سمیت در تیلاپیا نیل نشان داد و رژیم غذایی حاوی SP کاهش آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کلسترول و همچنین پروتئین کل، آلبومین، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را نشان داد. تیلاپیا از رسته سوف ماهیان و خانواده *Cichlidae* می‌باشد که به علت رشد سریع و پرورش ساده و ارزان موردتوجه بسیاری از کشورهای جهان قرارگرفته است. کیفیت نامناسب آب و وجود آلاینده‌هایی همچون سم کلرپیریفوس در آن می‌تواند باعث ایجاد استرس در ماهیان شده و با کاهش عملکرد ایمنی ماهیان سبب به خطر افتادن سلامتی آن‌ها شود. لذا با توجه به کاربرد سم کلرپیریفوس که از انواع رایج سموم مصرفی در کشور ما محسوب می‌شود و ورود آن به اکوسیستم‌های آبی به‌عنوان آلاینده، در تحقیق حاضر به بررسی جنبه‌های اثرات کلرپیریفوس بر شاخص‌های ایمنی ماهی تیلاپیا پرداخته شد و این فرضیه که احتمال کاهش اثرات سم کلرپیریفوس با پریبیوتیک قارچ صدفی وجود دارد نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی بر آبادی دانشکده شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به مدت ۴۲ روز در پاییز ۱۳۹۷ انجام شد. ابتدا ۱۲۰ عدد بچه ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) با میانگین وزنی حدود ۲۰ گرم از مرکز خصوصی تکثیر و پرورش بجنورد پاک‌نژاد تهیه شد و پس از انتقال به سالن پرورش به مدت یک هفته سازگاری اولیه (ثابت نگه‌داشتن فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب ازجمله PH، اکسیژن محلول، دما) با تنظیم کیفیت مطلوب و بهینه برای بچه ماهی تیلاپیا نیل صورت پذیرفت. پس از عادت دهی بچه ماهی‌ها، با تراکم ۱۰ عدد در وان‌های فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. بچه ماهیان با غذای تجاری کپور به میزان ۳ درصد وزن بدن در ۲ نوبت (صبح و عصر) تغذیه شدند (جدول ۱). در طی دوره آزمایش، فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب به ترتیب با استفاده از ابزارهای اکسیژن متر، دماسنج و المنت آکواریوم شامل اکسیژن محلول ۹-۷ میلی گرم، دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس، ثابت نگه‌داری شد. غذای مورداستفاده در این پژوهش حاوی پریبیوتیک به‌عنوان مکمل غذایی بود که به این منظور ۵۰۰ گرم قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) (بخش خصوصی بازار محلی گرگان) استفاده شد، جهت کاهش رطوبت قارچ‌های خریداری‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در سینی نگهداری شد. سپس در آون (مدل Binder، آلمان) با دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ روز خشک گردید سپس قارچ‌ها را با آسیاب (Parses، ایران) پودر کرده و به همراه ژلاتین به جیره تجاری کپور اضافه شد (Sevik et al., 2013). در این مطالعه ۴ تیمار با سه تکرار شامل: تیمار (۱) شاهد، غذای فاقد پریبیوتیک قارچ صدفی، تیمار (۲) غذای حاوی ۰/۰۵ درصد پریبیوتیک قارچ صدفی، تیمار (۳) غذای حاوی ۰/۱ درصد پریبیوتیک قارچ صدفی، تیمار (۴) غذای حاوی ۰/۲ درصد پریبیوتیک قارچ صدفی تعیین شد (akrami et al., 2011) و بچه ماهیان به مدت ۴۵ روز تغذیه شدند. سپس بچه ماهیان، ۱۶ روز در مجاورت غلظت کشنده (غلظت ۰/۰۵ / یک میلی گرم بر یک کیلوگرم (حسن نتایج نیازی و همکاران، ۱۳۹۲). سم

ارگانوفسفره کلرپیریفوس (شرکت صنایع شیمیایی سم سازان) قرار گرفتند (Hedayati, et al., 2017). روزانه ۵۰ درصد حجم آب تانک‌ها به دلیل حفظ کیفیت آب تعویض شد و غلظت سم در تمام تیمارها ثابت بود.

جدول ۱: درصد ترکیبات شیمیایی جیره تجاری (شرکت فرادانه) مورد استفاده در تغذیه ماهیان کپور معمولی پرورشی (درصد ماده خشک).

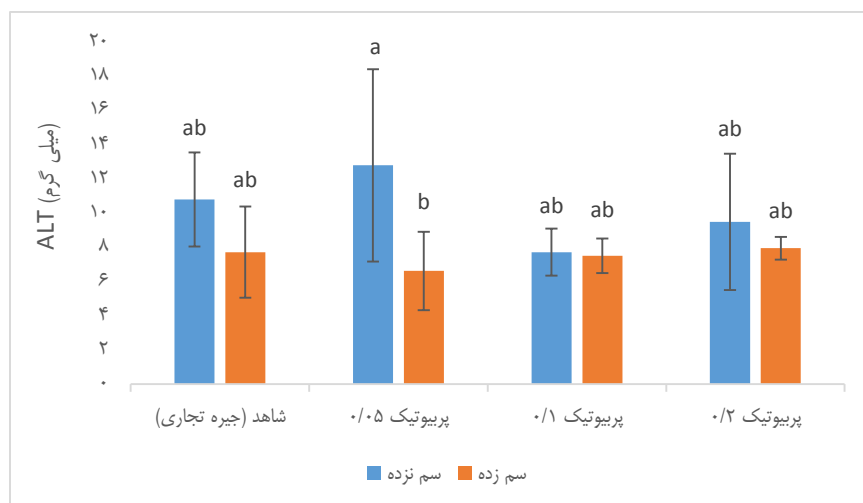
ترکیب جیره	پروتئین خام	چربی خام	فیبر خام	خاکستر	رطوبت	فسفر کل
درصد	۳۸-۳۵	۸-۴	۷-۴	۱۱-۷	۱۱-۵	۱-۱/۵

پس از اتمام دوره تغذیه و مواجهه، نمونه‌برداری از ماهی‌ها به تعداد ۳ قطعه از هر تکرار از تیمارها به صورت تصادفی انتخاب شد. بچه ماهیان قبل از خون‌گیری با استفاده از پودر گل میخک (۲۲۰ میلی گرم بر لیتر) بی‌هوش شدند نمونه‌گیری از ماهیان جهت آزمایش‌های خونی در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۳ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) که از نظر ظاهری سالم هستند، به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آن‌ها با سرنگ ۲/۵ سی‌سی حاوی هیپارین خون‌گیری به عمل آمد به داخل تیوپ‌های استریل شده ۲ سی‌سی ریخته تا توسط سانتریفیوژ (آلمان، HettichT Tuttligen D-7200) با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سرم آن جدا شود و در آزمایشگاه تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- نگهداری شود. (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۱). برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و از کیت‌های تجاری پارس آزمون توسط دستگاه‌های اتو آنالیزور مخصوص استفاده گردید (Shahsavani et al., 2010). به منظور اندازه‌گیری شاخص ایمنوگلوبولین از روش الایزا با دستگاه (USA) Awareness.statfax 2100 استفاده شد و آلبومین به روش بروموکرزول کرین، توتال پروتئین به روش بیوره (Biuret) (Mahmoudi et al., 2008)، گلوکز به روش آنزیماتیک (glucose oxidase) (Asadi et al., 2009) اندازه‌گیری شدند.

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans multiple-range test) در سطح احتمال ۹۵ درصد ($P < 0.05$) انجام شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۲) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel، ۲۰۱۶ انجام شد.

نتایج

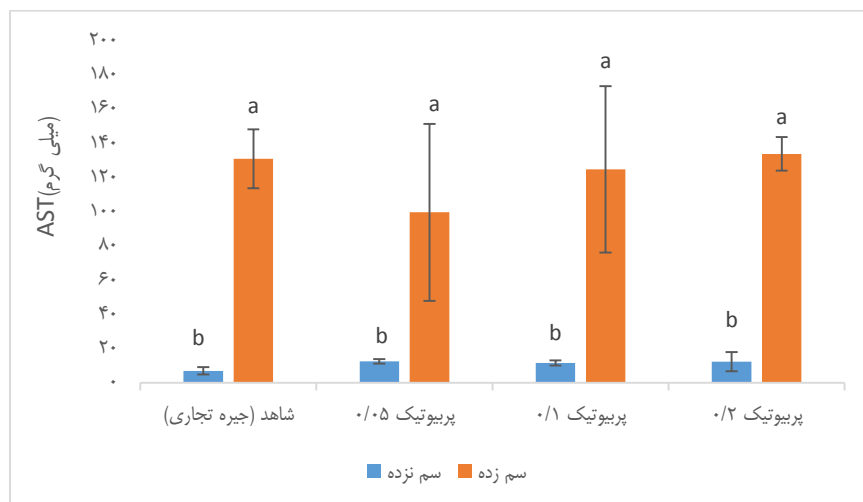
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز ALT خون تأثیر داشت ($P < 0.05$). به طوری که میزان ALT سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار نبودند. همچنین در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافتند که معنی‌دار نبودند و در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی در مقایسه با گروه شاهد (سم زده) افزایش یافتند اگرچه افزایش آن‌ها معنی‌دار نبود، همچنین سطح این شاخص در تیمارهای ترکیبی قارچ صدفی و سم کلرپیریفوس در مقایسه با تیمارهای مجزای قارچ صدفی پایین‌تر بود (شکل ۱).



شکل ۱: میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALT) سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

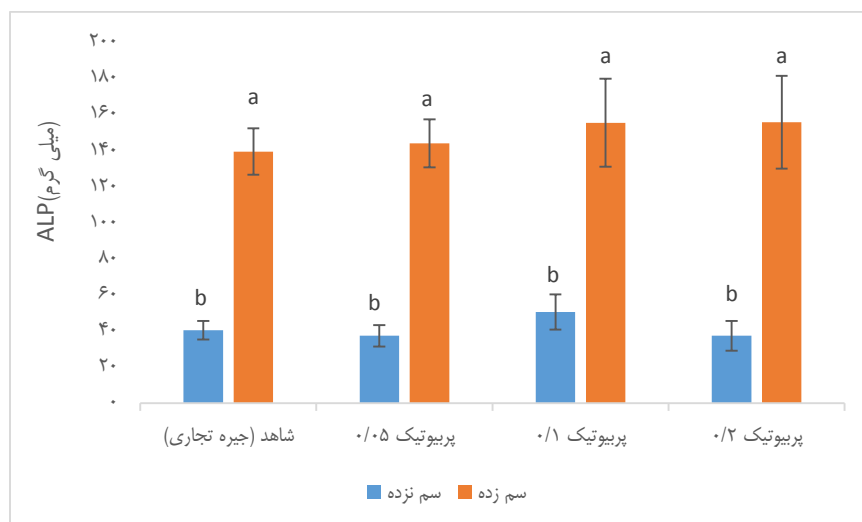
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز AST خون تأثیر داشت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که میزان AST سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) با افزایش غلظت قارچ در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که معنی‌دار نبود. همچنین سطح این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار بودند و در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی در مقایسه با گروه شاهد (تیمار مواجهه با سم کلرپیریفوس) افزایش یافتند اگرچه افزایش آن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۲).



شکل ۲: میزان اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

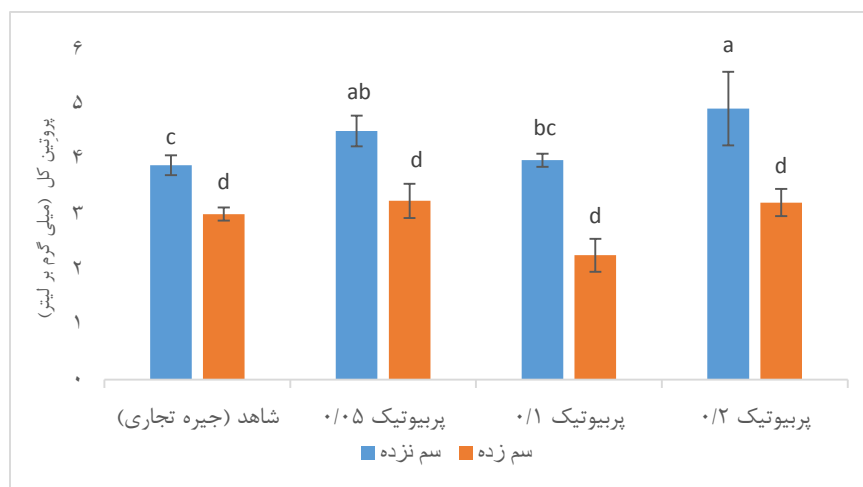
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز ALP خون تأثیر داشت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که میزان ALP سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) تیمار ۰/۱ درصد قارچ صدفی در مقایسه با گروه کنترل افزایش و در تیمارهای ۰/۰۵ درصد و ۰/۲ درصد در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت که معنی‌دار نبود. همچنین سطح این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافتند که معنی‌دار بودند، در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی در مقایسه با گروه شاهد (سم زده) افزایش یافتند و با توجه به شکل ۳ و مشابه بودن حروف انحراف معیار در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی افزایش آن‌ها معنی‌دار نبود. (شکل ۳)



شکل ۳: میزان آلکالین فسفاتاز قلیایی (ALP) سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

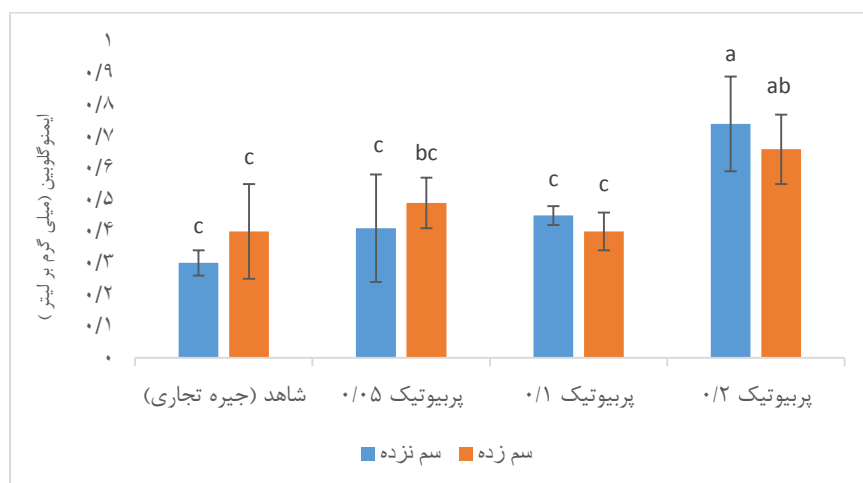
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص پروتئین کل Total protein خون تأثیر داشت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که میزان پروتئین کل سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) با افزایش غلظت قارچ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی، سطح این شاخص افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود (شکل ۴).



شکل ۴: میزان پروتئین کل سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص ایمونوگلوبولین (IG) سرم تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که میزان ایمونوگلوبولین سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در سطح ۰/۲ درصد قارچ صدفی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد افزایش داشت اما معنی‌دار نبود. در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی (قارچ ۰/۲ درصد)، میزان این شاخص به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مواجهه با سم کلرپیریفوس افزایش یافت (شکل ۵).

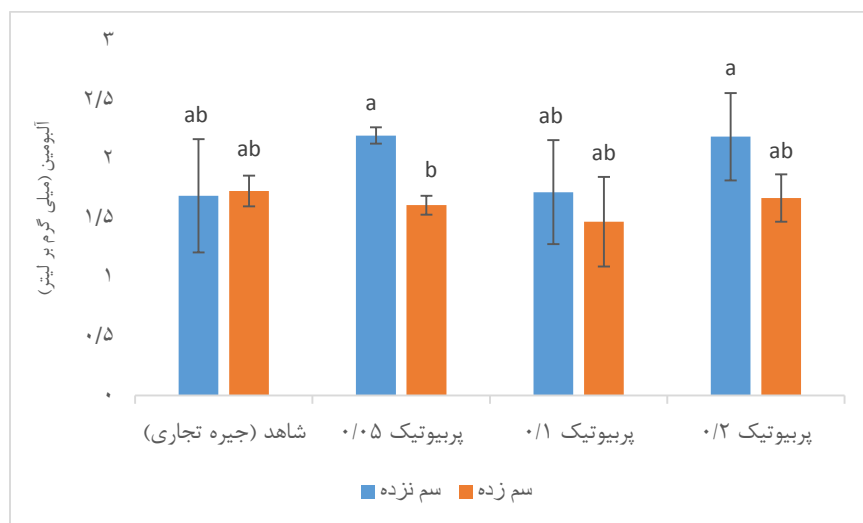


شکل ۵: میزان ایمونوگلوبولین سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

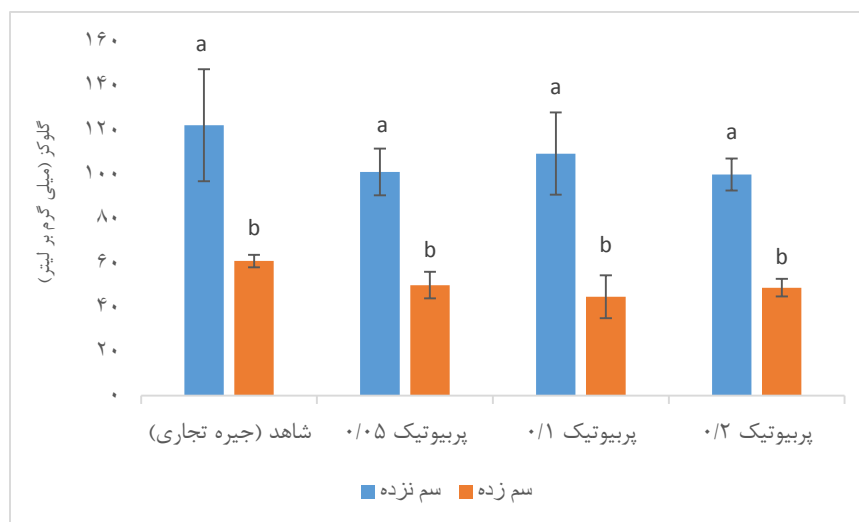
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص آلبومین خون تأثیر داشت ($P < 0.05$). به طوری که سطح آلبومین سرم خون در تیمارهای تغذیه شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) با افزایش غلظت قارچ در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که معنی دار نبود. همچنین در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت که معنی دار نبود و در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی، (گروه‌های ۰/۰۵ درصد و ۰/۲ درصد) در مقایسه با گروه شاهد (سم زده) افزایش یافت اگرچه افزایش آن‌ها معنی دار نبود (شکل ۶).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلوکز سرم تأثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). به طوری که میزان گلوکز سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) با افزایش غلظت قارچ کاهش یافت که معنی دار نبود. میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی، میزان این شاخص نسبت به تیمار شاهد سم خورده کاهش یافت که معنی دار نبود. همچنین سطح این شاخص در تیمارهای ترکیبی قارچ صدفی و سم کلرپیریفوس در مقایسه با تیمارهای مجزای قارچ صدفی پایین تر بود این بدان معناست که قارچ صدفی در ترکیب با سم کلرپیریفوس توانسته است اثر سم را خنثی یا بهبود بخشد (شکل ۷).



شکل ۶: میزان آلبومین سرم خون ماهی تیلایپا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).



شکل ۷: میزان گلوکز سرم خون ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در تیمارهای مختلف آزمایشی (سال ۱۳۹۷).

حروف لاتین متفاوت، نشانگر اختلاف معنی‌دار سطح ۵ درصد بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های آبی سبب آسیب‌های بافتی در ماهیان می‌شود در بعضی موارد اثرات تخریب آفت‌کش‌ها روی موجودات غیر هدف (آبزیان) نسبت به موجودات هدف (آفات) بیشتر است که این خود سبب مرگ‌ومیر سریع‌تر و بیشتر آبزیان می‌شود و این آسیب‌ها و عوارض را با روش‌های هیستوپاتولوژی و شاخص‌های بیوشیمیایی می‌توان مورد بررسی قرارداد شاخص‌های بیوشیمیایی در ماهی نشانگر خوبی از استرس شدید است و اطلاعاتی از اختلال عملکرد اندام‌ها ارائه می‌دهد (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۴).

پروتئین شاخص مهمی از وضعیت سلامت ماهیان استخوانی و نیز به‌عنوان شاخصی از وضعیت تغذیه‌ای در نظر گرفته می‌شود (Yousefian et al., 2010). میزان پروتئین کل سرم خون در تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت همچنین سطح آن در تیمارهای ترکیبی قارچ صدفی و سم کلرپیریفوس افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود. میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به نظر می‌رسد پره‌بیوتیک قارچ صدفی توانسته اثر کاهشی سم کلرپیریفوس را بهبود ببخشد و به حد شاهد و بیشتر از گروه شاهد برساند که تیمار ۰/۲ درصد قارچ صدفی بهترین اثر را داشت. غنی و همکاران (۱۳۹۷) در بررسی اثرات جلبک پادینا بر مقاومت‌سازی ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوآکسید روی به این نتیجه رسیدند که جلبک پادینا می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار پروتئین کل می‌شود و اثر کاهشی نانوآکسید روی را بهبود بخشد که مطابق نتایج حاضر می‌باشد و همچنین حنایی و همکاران (۱۳۹۵) که میزان سمیت آفت‌کش دیازینون را بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*) بررسی نموده، میزان توتال پروتئین نیز به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$)؛ که این نتایج مطابق با تحقیق حاضر می‌باشد؛ و در پژوهش دیگر توسط Abdel-Daim و همکاران در سال (۲۰۲۰) تأثیر اسپیرولینا *Spirulina platensis* بر آسیب اکسیداتیو ناشی از سمیت Chlorpyrifos در *Oreochromis niloticus* Niltilapia بررسی کردند که تحت قرار گرفتن در معرض CPF، SP اثرات پیشگیرانه و ترمیمی را در برابر سمیت در تیلاپیا نیل نشان داد و رژیم غذایی حاوی SP کاهش پروتئین کل را نشان داد که با مطالعه حاضر مغایرت دارد.

پروتئین کل پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد. پروتئین خون از اساسی‌ترین اجزا متابولیسم در آبزیان است و غلظت کل پروتئین موجود در پلاسمای خون به‌عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگان‌سیم‌های آبی بکار برده می‌شود و سنجش مقدار پروتئین خون می‌تواند آسیب‌های سلولی را پیش‌بینی کند (Riche, 2007). در تحقیق حاضر میزان ایمونوگلوبین سرم خون در تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) در سطح ۰/۲ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد افزایش یافت اما معنی‌دار نبود. در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی (سطح قارچ ۰/۲ درصد)، میزان این شاخص به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد سم خورده افزایش یافت که با توجه به نتایج به نظر می‌رسد قارچ صدفی توانسته اثر سم کلرپیریفوس را بهبود بخشد. ایمونوگلوبین‌ها جز آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم‌شده در غیاب محرک آنتی ژنیک خارجی تولید و در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. به همین دلیل به‌عنوان یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی مدنظر قرار می‌گیرند (Hoseinifar et al., 2014). طی تحقیقی حسینی فر و همکاران (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که استفاده از گالاکتوالیگوساکارید و زایلوالیگوساکارید در جیره ماهی سفید باعث بهبود ایمونوگلوبین کل و شاخص‌های ایمنی می‌شود (Hoseinifar et al., 2014). یوسفی و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثرات گالاکتوالیگوساکارید و آفت‌کش کلرپیریفوس بر روی ماهی زبرا به این نتیجه رسیدند که جیره ترکیبی حاوی ۱ درصد GOS و آفت‌کش باعث افزایش پروتئین کل و ایمونوگلوبولین می‌شوند (Yousefi et al., 2018) همچنین پژوهش EL-Bouhy و همکاران (۲۰۱۶) که تعیین سطح سم کلرپیریفوس و تأثیر غلظت تحت کشنده این آفت‌کش بر پاسخ ایمنی در ماهی تیلاپیا نیل بررسی نمودند مشخص شد این غلظت‌ها سبب تغییر پارامترهای کل گلوبولین (M) و ایمونوگلوبولین (IgM) شده است؛ که این نتایج مطابق با پژوهش حاضر می‌باشد. میزان آلبومین سرم خون در تحقیق حاضر در تیمارهای تغذیه‌شده با تیمار مجزا قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) و سم با افزایش غلظت قارچ در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود و در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی، کاهش یافت ولی معنی‌دار نبود. بنایی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که سطح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در ماهی‌های در معرض دیازینون کاهش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی نداشت (Banaee et al., 2011). قریشی و همکاران نتایج مشابهی تحقیق حاضر نمایشه‌ی کپور معمولی که در معرض فیبرونیل و بوپروفرین بودند گزارش کردند (Qureshi et al., 2016) و Mokhbatly و همکاران (۲۰۲۰) نقش محافظتی *Spirulina platensis* (SP) و β -گلوکان (BG) در گربه‌ماهی آفریقایی در معرض این سم افزایش قابل توجهی در میزان آلبومین مشاهده‌شده است، این نتایج مطابق با پژوهش فوق می‌باشد. آلبومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به‌منظور توزیع مناسب مایعات بدن داشته و به‌عنوان حامل پلاسما و لیگاندهای غیراختصاصی عمل می‌نماید (Banaee et al., 2011). کاهش آلبومین ممکن است در اثر نارسایی کبدی، سندرم نفروتیک و اختلال در بیوسنتز آلبومین، سو تغذیه، پاسخ‌های التهابی حاد و مزمن ایجاد شود (Hatami et al., 2019). میزان گلوکز سرم خون در تیمارهای تغذیه‌شده با قارچ صدفی (*Pleurotus ostreatus*) با افزایش غلظت قارچ کاهش یافت که معنی‌دار نبود و میزان این شاخص در تیمار در معرض سم کلرپیریفوس نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در تیمارهای ترکیبی سم کلرپیریفوس و قارچ صدفی، میزان این شاخص نسبت به تیمار شاهد سم خورده کاهش یافت که معنی‌دار نبود؛ بنابراین سطح این شاخص در تیمارهای ترکیبی قارچ صدفی و سم کلرپیریفوس در مقایسه با تیمارهای مجزای قارچ صدفی پایین‌تر بود این بدان معناست که قارچ صدفی در ترکیب با سم کلرپیریفوس توانسته است اثر سم را خنثی یا بهبود بخشد. گلوکز یکی از نشانگرهای زیستی حساس در شرایط استرس است. به‌عبارت‌دیگر، در پاسخ به شرایط استرس‌زا، گلوکز خون افزایش می‌یابد. علاوه بر این، آسیب به کبد، اختلال عملکرد شدید کلیه و تجزیه ذخایر گلیکوژن در کبد و عضلات اسکلتی سطح گلوکز خون را افزایش می‌دهد (Rezaei and Banaee, 2018). افزایش گلوکز خون ماهی ممکن است نشان‌دهنده افزایش نیاز به انرژی

برای خنثی کردن اثرات استرس ناشی از سمیت کلریپرفوس باشد. افزایش قند خون یا افزایش سطح گلوکز خون نشان‌دهنده اختلال در متابولیسم گلوکز و لیپید و تخریب گلیکوژن در کبد است (Murray et al., 2003).

آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها می‌تواند متأثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷). نتایج این تحقیق نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر میزان آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) سرم خون ماهی تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). از آنجائی که کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیر زیستی را انجام می‌دهد و با تغییر در ساختار مورفولوژی این مواد، در برخی موارد، سم‌زدایی می‌نماید، تأثیر آلاینده‌گی فلزات به‌صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک کبدی بروز می‌کند. به همین دلیل در ارزیابی آسیب کبد، سنجش سطوح آنزیم‌های نظیر ALT، ALP، AST به‌طور وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشا سلول باعث رها شدن این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود (Park et al., 2010). در جریان آسیب حاد، آنزیم‌های ALT و AST حساس‌ترین مارک‌های سرمی هستند. هرگاه غشا سلول صدمه ببیند هر دو آنزیم به مقادیر فزاینده‌ای در خون آزاد می‌شوند (رادگهر، ۱۳۹۰). افزایش سطح AST در سرم می‌تواند به علت آسیب کبد نظیر هپاتیت‌های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی باشد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند، برای کبد اختصاصی‌تر بوده و پارامتر مناسب‌تری برای تشخیص آسیب کبد می‌باشد. سطوح افزایش‌یافته آنزیم‌های سرمی حاکی از نشت سلولی بوده و نشانگر آسیب ساختار و اختلال عملکرد غشاهای سلولی در کبد می‌باشد (Drotman and Lawhan, 1987). یکی از دلایل افزایش سطح سرمی این آنزیم‌ها ممکن است تغییر در نفوذپذیری غشای پلاسمایی سلول‌های کبدی یا صدمات سلولی حاصل از قرار گرفتن در معرض سموم می‌باشد (Banaee et al., 2011). Hatami و همکاران بررسی اثرات سمیت سلولی کلریپرفوس و پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر استرس اکسیداتیو و پارامترهای بیوشیمیایی در کپور معمولی افزایش سطح ALT و AST را گزارش کردند (Hatami et al., 2019) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. نعمت دوست و بنایی افزایش فعالیت ALT و AST در پلاسمای ماهی کپور معمولی در معرض ذرات ریز پلاستیک و پاراکوات را گزارش کردند (Nematdoost and Banae, 2017) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. رنگسای و همکاران به این نتیجه رسیدند که فعالیت ALT و AST در گورخر ماهی پس از قرار گرفتن در معرض داروی ضدالتهاب کتوپروفن به‌طور قابل‌توجهی افزایش‌یافته است (Rangasamy et al., 2018) که با نتایج تحقیق موردنظر همخوانی داشت. همچنین Ullah و همکاران (۲۰۱۹) نتایج مشابهی در ماهی کپور نقره‌ای در معرض دلتامترین، گزارش کردند (Ullah et al., 2019) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت.

در پژوهش Mokhbatly و همکاران (۲۰۲۰) نقش محافظتی اسپیرولینا (*Spirulina platensis* (SP) و β -گلوکان (BG) در گربه‌ماهی آفریقایی در معرض سمیت مزمن کلریپرفوس بررسی نمودند که ماهی‌های در معرض سم کلریپرفوس افزایش قابل‌توجهی در آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، پروتئین‌های کل، آلبومین مشاهده‌شده است که با نتایج همخوانی داشت. حنایی کاشانی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی میزان سمیت آفت‌کش دیازینون را بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مولدین نر ماهی قرمز (*Carassius auratus*) میزان ALT، AST و به‌صورت معنی‌داری افزایش‌یافته است ($P < 0.05$); و پژوهش دیگری باهدف بررسی نقش بالقوه β -گلوکان در بهبود ایمنی ناشی از کلریپرفوس در تیلایا نیل توسط Dawood و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد که نتایج نشان داد قرار گرفتن در معرض کلریپرفوس میزان آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) را افزایش می‌دهد، نتایج این پژوهش‌ها با نتایج فوق مطابقت دارند. آلکان فسفاتاز (ALP) یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های کبدی است که در سم‌زدایی نقش دارد. ALP نقشی اساسی در هیدرولیز فسفات دارد. همچنین به‌عنوان نشانگر زیستی خوبی برای استرس در سیستم‌های بیولوژیکی عمل می‌کند (Banaee et al., 2014). از آنجایی که آفت‌کش‌ها در کبد

جذب می‌شوند و ساخت‌وساز تمام آنزیم‌ها مثل آلکالین فسفاتاز در داخل کبد صورت می‌گیرد، در نتیجه اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم به‌صورت عمومی می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای عملکرد کبد در پاسخ به سموم، مورد استفاده قرار گیرد.

Jaroli و Sharma در سال ۲۰۰۵ اعلام کردند که کلرپیریفوس در غلظت‌های ۱۰،۲۰ و ۳۰ درصد LC₅₀ طی ۱۵ روز سبب افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز در *Channa punctatus* شده بود که یافته‌های حاضر همسو با آن تحقیق می‌باشد (Jaroli and Sharma et al., 2005).

بر اساس گزارش Kaya و همکاران در سال ۲۰۰۴ اعلام کردند، فعالیت آلکالین فسفاتاز ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) توسط فوزانول افزایش یافته بود که نتایج حاضر با یافته‌های آن‌ها همخوانی دارد (Kaya et al., 2004). همچنین افزایش فعالیت این آنزیم ناشی از سم دیازینون در مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus kutum*) (Mohammadnezhad Shamoshaky et al., 2012) و ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) (Banaee et al., 2012) به اثبات رسیده است. Ullah و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش داد که دلتامترین باعث افزایش فعالیت ALP در خون ماهی کپور نقره می‌شود (Ullah et al., 2019) که با نتایج فوق مطابق دارد. مطالعه Dawood و همکاران (۲۰۲۰) باهدف بررسی نقش بالقوه β -گلوکان در بهبود ایمنی ناشی از کلرپیریفوس در تیلاپیا نیل انجام شد که مشخص کرد قرار گرفتن در معرض کلرپیریفوس باعث تغییر کلیایی فسفاتاز خون (ALP) نمی‌شود که با نتایج این پژوهش مغایرت می‌کند. اختلاف نتایج تغییرات آنزیمی در مطالعات مختلف احتمالاً ناشی از اختلاف نژاد و گونه ماهی، وزن ماهی، مقدار و زمان مواجهه با ماده سمی، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب می‌باشد. بعلاوه، میزان تأثیر سم در یک‌گونه از ماهی می‌تواند تحت تأثیر فاکتورهای مختلف فردی و محیطی قرار گیرد (Banaee et al., 2012).

با توجه به مجموعه فوق‌الذکر، به نظر می‌رسد که تغییرات بیوشیمیایی ایجادشده در سرم خون ماهی تیلاپیا پس از مواجهه با سم کلرپیریفوس در تحقیق حاضر، نوعی پاسخ فیزیولوژیک باشد که جاندار برای ممانعت از ورود این مواد به بدن خود و جلوگیری از آسیب‌های احتمالی ایجاد می‌کند. لذا احتمالاً مکانیسم اثر مثبت قارچ صدفی بر مقاومت در برابر سم کلرپیریفوس به دلایلی از قبیل بهبود پارامترهای ایمنی، پاسخ‌های آنزیمی و در نهایت مهار استرس بوده باشد. درواقع یافته‌های مطالعه حاضر، تأییدی بود بر اثر مثبت پره‌بیوتیک قارچ صدفی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی تیلاپیا در مواجهه با سم کلرپیریفوس که توانست اثر مخرب سم کلرپیریفوس را بر این شاخص‌ها بهبود ببخشد. لیکن به نظر می‌رسد، ضروری است که به‌منظور حصول اطمینان از اثرات مثبت این پره‌بیوتیک مطالعه‌ای در خصوص تأثیر آن بر سطوح ایمنی در شرایط آزمایشگاهی و پرورشی انجام پذیرد. همچنین با توجه به نتایج و آزمون مواجهه، مصرف پره‌بیوتیک قارچ صدفی با غلظت بیشتر برای بررسی افزایش مقاومت در آزمون مواجهه یافته با انواع آلاینده‌ها پیشنهاد می‌شود تا بتوان با قطعیت بیشتری در مورد پتانسیل این پره‌بیوتیک در ماهی تیلاپیا نیل و سایر آبزیان اظهار نظر کرد.

منابع

- رادگهر، ن.، ۱۳۹۰. تفسیر بیوشیمیایی بالینی. انتشارات ایل آرمان. چاپ اول. صفحات ۷۴۰.
- حسن نتاج نیازی، ایمانپور، هدایتی، س. ع.، ۱، ۲۰۱۵. تعیین سمیت کشنده‌ی آفت‌کش کلرپیریفوس در ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus*) و مقایسه‌ی میزان سمیت آن با سایر سموم ارگانوفسفره. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۴): صفحات ۱-۱۲.
- سپهرفر، د. آ.، سروی مغانلو، کوروش، حسینی فر، س. ح.، پاک‌نژاد، ح. و جعفر نوده، ع.، ۲۰۱۸. تأثیر استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پودر *Agaricus bisporus* بر شاخص‌های ایمنی موکوس و هیستومورفولوژی روده در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۱۱(۲): صفحات ۳۶-۲۷.

غنی، س.، مداح، س.، هدایتی، ع.، کاکاوند، ف.، ایری، ع.، سنجولی، ح. و شیخ ویسی، ر.، ۱۳۹۷. تأثیر غنی‌سازی جیره با جلبک پادینا (*Padina astraulis Haunk*) بر شاخص‌های ایمنی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانواکسید روی، مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۵): صفحات ۱۲۱-۱۲۹.

مازندرانی، م.، سوداگر، م. و نمرودی، س.، ۱۳۹۴. هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) در مواجهه حاد با سولفات مس. نشریه علمی بوم‌شناسی آبزیان، دانشگاه هرمزگان. دوره ۵، شماره ۱، تابستان ۱۳۹۴، صفحات ۱۶-۹.

محمودی، ن.، عابدیان کناری، ع. و سلطانی، م.، ۱۳۸۷. تأثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های رشد، بقا و آنزیم‌های کبدی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspicus*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۴): صفحات ۱۲۳-۱۳۲.

هدایتی، س. ع.، جهانبخشی، ع. و قادری‌رمازی، ف.، ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد اول، چاپ اول، صفحات ۷۰-۷۶.

Abdel-Daim, M. M., Dawood, M. A., Elbadawy, M., Aleya, L. and Alkahtani, S., 2020. Spirulina platensis reduced oxidative damage induced by chlorpyrifos toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 10(3), 473.

Akrami, R., Qelichi, A., Ahmadi, A., 2011. Prebiotic effect of dietary inulin on hematological parameters and biochemistry of fish serum Hus (*Huso huso*) Young. *Journal of Veterinary Research*, University of Tehran. 66(2): 131-136.

Asadi, F., Hallajian, A., Asadian, P., Shahriari, A. and Pourkabir M., 2009. Serum lipid, free fatty acid, and proteins in juvenile sturgeons: *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. *Comp Clin Pathol* 18: 287-289.

Assis C.R., Castro P. F., Amaral I. P., Carvalho E. V., Carvalho L. B. J. and Bezerra R. S., 2010. Characterization of acetylcholinesterase from the brain of the Amazonian tambaqui (*Colossoma macropomum*) and in vitro effect of organophosphorus and carbamate pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10): 2243-2248.

Banaee, M., Sureda A., Mirvaghefi A. R. and Ahmadi K., 2011. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(1): 1-6.

Banaee, M., Myrvaghefy, A., Anthont sorda, G. and Rafeie, Q., 2012. Change in blood biochemical parameters and histopathology of the liver rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in contact with the Sublethal concentrations of diazinon. *Iranian Journal of Natural Resources* 65: 297-313.

Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Hagi, B. N. and Garanzini, D. S., 2014. Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenpropathrin. *International Journal of Aquatic Biology*. 2(2): 58-68.

Dawood, M. A., Abdel-Razik, N. I., Gewaily, M. S., Sewilam, H., Paray, B. A., Soliman, A. A. and El Basuni, M. F., 2020. β -Glucan improved the immunity, hepato-renal, and histopathology disorders induced by chlorpyrifos in Nile tilapia. *Aquaculture Reports*, 18, 100549.

Drotman R. and Lawhan G., 1987. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. *Drug and Chemical Toxicology*, 1: 163-171.

Ecobichon D. J., 1996. Toxic effects of pesticides. In: Klaassen C.D., Amdur M.O. and Doull J. (Eds.). *Casarett and Doull's Toxicology*. McGraw-Hill, New York. P: 643-689.

Farrell, A. and Branner, C., 2014. *Organic chemical Toxicology of Fishes* Academic Press, Santiago, USA, 543p.

Hatami, M., Banaee, M. and Nematdoost Haghi, B., 2019. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere* 219,981-988.

Hedayati, S.A., Darabitar, F. and Rezaie, H., 2017. Examination of tissue pathology of carp carp and ordinary goldfish (*Carassius auratus*) in the face of lethal concentrations of zinc nanofibers, copper nanocoxes (CuONPs) and titanium oxide nanoparticles (TiO₂NPs). *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 11(2):135-144.

Hoseinifar, S. H., Sharifian, M., Vaseghi, M. J., Khalili, M. and Esteban, M. A., 2014. The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *fish and shellfish immunology*, 39(2):231-236.

- Jaroli, D. P. and Sharma. B. L., 2005.** Effect of Organophosphate Insecticide on the Organic Constituents in Liver of *Channa punctatus*. *Asian Journal of Experimental Sciences* 21,121-129.
- Kakavand, F., Hedayati, A., Jafar Nodeh, A., Maddah, S. and Rezaei Shadegan, M., 2020.** Toxicological Effect of Silver Nanoparticles on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Environmental Health Engineering*. 7(1).
- Kakavand, F., Hedayati, S. A., Jafar, A., Madah, S. and Rezaie Shadegan, M., 2020.** The effect of prebiotic pretreatment on hematological characteristics of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to silver nanoparticles. *Animal Physiology and Development, Islamic Azad University, Zanjan*.13(3):1-13.
- Kaya, H., ŞanverÇelik, E., Yılmaz, S., Tulgar, A., Akbulut, M. and Demir, N., 2014.** Hematological, serum biochemical, and immunological responses in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to phosalone. *Comparative Clinical Pathology* 89, 46–53.
- Katya, K., Yun, Y. H., Yun, H., Lee, J. Y. and Bai, S. C., 2016.** Effects of dietary fermented by- product of mushroom, *Pleurotus ostreatus*, as an additive on growth, serological characteristics and nonspecific immune responses in juvenile Amur catfish, *Silurus asotus*. *Aquaculture research*, 47(5), 1622-1630.
- Khodadadian Zou, H., Hoseinifar, S. H., Miandare, H. K. and Hajimoradloo, A., 2016.** *Agaricus bisporus* powder improved cutaneous mucosal and serum immune parameters and up-regulated intestinal cytokines gene expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Journal of Fish & shellfish immunology*. 58: 380-386.
- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F., 2005.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture. Int.* 14:219-229.
- Mahmoudi, N., Abedian Kanari, A. and Soltani, M., 2008.** Dietary Effects of Different Levels of Nucleotide on Growth, Survival and Liver Enzymes of Caspian Sea *Salmo trutta caspicus*. *Iranian Journal of Fisheries Journal*, 17 (4): 123-132.
- Mohammadnezhad shamoshaky, M., Sultani, M., Sharif pour, A. and Emanpour, M., 2012.** The effect of acute organophosphate of diazinon on activity of some enzymes in the blood serum of adult males (*Rutilus frisii kutum*). *Veterinary Journal* 8, 96-97. (In Persian)
- Mokhbatly, A. A. A., Assar, D. H., Ghazy, E. W., Elbialy, Z., Rizk, S. A., Omar, A. A. and Dawood, M. A., 2020.** The protective role of spirulina and β -glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of chlorpyrifos: hemato-biochemistry, histopathology, and oxidative stress traits. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(25): 31636-31651.
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., 2003.** *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26 edition, Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Publishing Division, 702 pages.
- Nematdoost Haghi, B. and Banaee, M., 2017.** Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. *International Journal Environment Science Technology*, 14 (3): 521-530.
- Park, E. J., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K. and Lee, S. H., 2010.** Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(2): 162-168.
- Qureshi, I. Z., Bibi, A., Shahid, S. and Ghazanfar, M., 2016.** Exposure to sub-acute doses of fipronil and buprofezin in combination or alone induces biochemical, hematological, histopathological and genotoxic damage in common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Aquat. Toxicol.* 179, 103–114.
- Rangasamy, B., Hemalatha, D., Shobana, C., Nataraj, B. and Ramesh, M., 2018.** Developmental toxicity and biological responses of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to anti-inflammatory drug ketoprofen. *Chemosphere* 213, 423e433.
- Rezaei Shadegan, M. and Banaee, M., 2018.** Effects of dimethoate alone and in combination with Bacilar fertilizer on oxidative stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Chemosphere*. 208: 101-107.
- Riche, M., 2007.** Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* $\times$ *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264: 279–284.

- Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani, H., 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiol Biochem* 36:39–43.
- Ullah, S., Li, Z., Ul Arifeen, M. Z., Khan, S. U. and Fahad, S., 2019.** Multiple biomarkers based appraisal of deltamethrin induced toxicity in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Chemosphere* 214, 519-533.
- Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N. P. E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers. *Journal of Environmental toxicology and pharmacology*. 13(2):57-149.
- Wasser, S. P., 2002.** Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*. 60(3): 258-274.
- Wasser, S. P., 2010.** Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 12(1).
- Yousefi, M., Hoseinifar, S. H., Ghelichpour, M. and Hoseini, S. M., 2018.** Anesthetic efficacy and biochemical effects of citronellal and linalool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) juveniles. *Aquaculture* 493, 107-112.
- Yousefi, S. and Hoseinifar, S. H., 2018.** Protective effects of prebiotic in zebrafish, *Danio rerio*, under experimental exposure to Chlorpyrifos. *Journal Aquatic Biology*, 6(2): 49-54.
- Yousefian, M., Sheikholeslami, M., Amiri, M., Hedayadifard, A.A., Dehpour, H., Fazli, M., Ghiaci, S. V. and Najafpour, S. H. 2010.** Serum biochemical parameters of male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Haraz River, Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2: 512-518.

