مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

بررسی تأثیر پیش تیمار پروبیوتیک لاکتوباسیلوس بر تغییرات شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذرات نقره

روح ا.. شیخ ویسی[۱]، سید علی اکبر هدایتی[۱*] طاهره باقری[۲]، حبیب ا.. سنچولی[۳]، نیلوفر نیک دهقان[۱]

[۱] گروه تولید بهره برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

[۲] مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، چابهار

[۳] گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۵/۰۹/۱۸
اصلاح: ۹۵/۱۱/۱۶
پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۸

کلمات کلیدی:
آبزی
پروبیوتیک
خون‌شناسی
نانو نقره

چکیده

جهت ارزیابی شاخص‌های خون‌شناسی، تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با ۵۰٪ غلظت کشنده نانوذرات نقره در دو سطح پروبیوتیک لاکتوباسیلوس ($۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$) به مدت ۶۰ روز (یک هفته برای آداپته شدن، ۴۲ روز تغذیه با پروبیوتیک، ۱۰روز قرارگیری در معرض نانو نقره) قرار گرفتند که شامل گروه یک شاهد، گروه دو پروبیوتیک $۱۰^{۶}$، گروه سه پروبیوتیک $۱۰^{۷}$، گروه چهار نقره تحت کشنده، گروه پنج نقره و پروبیوتیک $۱۰^{۶}$، گروه شش نقره و پروبیوتیک $۱۰^{۷}$ بودند. نتایج نشان داد در شاخص‌های حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان هموگلوبین مشخص گلبولی (MCHC)، گلبول سفید، مونوسیت، نوتروفیل، هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و هماتوکریت بین گروه شاهد و تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری بود ($P<۰/۰۵$). به‌طوری‌که پروبیوتیک اثر کاهشی بر هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و اثر افزایشی بر شاخص‌های حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان هموگلوبین مشخص گلبولی (MCHC)، گلبول سفید، مونوسیت و نوتروفیل داشته است. علاوه براین، نانوذرات نقره نیز اثر کاهشی بر هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، گلبول سفید مونوسیت و میزان هموگلوبین مشخص گلبولی (MCHC) و اثر افزایشی بر حجم متوسط گلبولی (MCV) و نوتروفیل نشان دادند. درمجموع نتایج نشان داد که پروبیوتیک اثرات مخرب نانونقره را که منجر به کاهش هموگلوبین سلول‌های خونی (نرموسیتیک هایپوکرومیک) شده، به حد نرمال رسانده و حتی سطح بالاتر پروبیوتیک (تیمار ۶) منجر به افزایش هموگلوبین سلول‌های خونی (نرموستیک هایپرکرومیک) شده است که مطالعات بیشتر در این زمینه را می‌طلبد.

مقدمــه

فناوری نانو به معنای ساده، استفاده از مواد و ساختارهایی در مقیاس نانو (حداقل در یک بعد ۱۰۰-۱ نانومتر) است. نانو مواد دارای ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصربه‌فرد در مقایسه با سایر مواد با ترکیبات مشابه می‌باشند (Hedayati *et al.*, 2013). تاکنون اطلاعات اندکی درباره سرنوشت نانوذرات در محیط آبی، تعامل آن‌ها با اجزای زنده و غیرزنده و پتانسیل نانوذرات برای آسیب‌رسانی به آن‌ها به‌دست‌آمده است. عدم وجود اطلاعات کافی در این زمینه، نگرانی‌های زیادی را در رابطه با

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Hedayati@gau.ac.ir

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

خطرات آن‌ها بر سلامت انسان و محیط‌زیست مطرح می‌سازد (Kim *et al*., 2007). نقره در ابعاد بزرگ، فلزی با خاصیت واکنش دهی کم می‌باشد، ولی زمانی که به ابعاد کوچک در حد نانومتر تبدیل می‌شود، خاصیت میکروب‌کشی آن بیش از ۹۹ درصد افزایش می‌یابد، به حدی که می‌توان از آن جهت بهبود جراحات و عفونت‌ها استفاده کرد (Hedayati *et al*., 2013). نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولیدمثل میکروارگانیسم اثر می‌گذارد (Blaise *et al*., 2008).

مطالعات زیادی در رابطه با اثر پروبیوتیک‌ها بر روی ماهیان مختلف صورت گرفته است. به نظر می‌رسد نکات بسیار زیادی در قابلیت آن‌ها در افزایش کارایی پرورش ماهیان هنوز وجود داشته باشد که نیازمند انجام تحقیقات مستمر می‌باشد. باکتری‌های پروبیوتیک، مکمل‌های غذایی میکروبی زنده می‌باشند که نقش سودمندی را برای جانور میزبان از طریق ایجاد تغییرات میکروبی در روده ایفا می‌کنند (Fuller, 1989). پروبیوتیک‌ها را بر اساس معیارهای مختلفی تقسیم‌بندی می‌کنند؛ ازجمله این معیارها می‌توان به سویه میکروبی و عملکرد آن اشاره کرد. به‌طورکلی پروبیوتیک‌ها ازنظر سویه میکروبی مؤثرشان به سه گروه عمده تقسیم می‌شوند: پروبیوتیک‌های باکتریایی، قارچی و مخمری (Fuller, 1992). پروبیوتیک‌های باکتریایی عمده‌ترین پروبیوتیک-هایی‌اند که تاکنون در آبزی‌پروری استفاده شده‌اند. استفاده از پروبیوتیک‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک به افزایش میزان زنده‌مانی میزبان در مواجه با عوامل بیماری‌زا منجر می‌شوند که این عملکرد از طرق زیر صورت می‌گیرد (Gatesoupe, 2008).

کپور ماهیان گروهی از باارزش‌ترین ماهیان آب شیرین از لحاظ اقتصادی می‌باشند و فراوانی بسیار زیادی در آب‌های شیرین دارند. این ماهیان به‌صورت گسترده در سرتاسر نقاط دنیا، مورد تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند. احتمالاً ماهی کپور معمولی اولین گونه‌ای از ماهیان است که از زادگاه آن به سایر نقاط دنیا معرفی شده است (Billard, 1995).

لذا با توجه به نوظهور بودن فلزات سنگین آن‌هم در مقیاس نانو و کاربرد روزافزون نانو نقره و اثر سمیت آن‌ها و از طرف دیگر تأثیرات مثبت پروبیوتیک در تقویت آبزیان در برابر آلاینده‌ها، این تحقیق به‌منظور بررسی شاخص‌های خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذرات نقره و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به مدت ۶۰ روز در محل مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ابتدا تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی، با محدوده وزن ۴±۲۰ گرم از مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه گردید. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آبگیری آن‌ها صورت گرفت. سپس به آکواریوم‌های آزمایشگاه منتقل شدند. برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل تانک‌های پرورشی نگهداری و در طول دوره‌ی آزمایش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب اندازه‌گیری شد که شامل دمای آب ۱±۲۱ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۹ – ۶/۷، غلظت اکسیژن محلول: ۹-۷ میلی‌گرم در لیتر و سختی آب: ۲۱۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. بعد از گذشت یک هفته از دوره سازگاری، ماهیان در سه دسته ماهیان بدون پروبیوتیک و ماهیان دارای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس (تهیه‌شده از بانک میکروارگانیسم‌های جهاد دانشگاهی، تهران) سطح الف (10^6 کلی فرم/میلی‌لیتر) و ماهیان دارای پروبیوتیک سطح ب (10^7 کلی فرم/میلی‌لیتر) تقسیم شدند. که گروه یک شاهد، گروه دو تیمار پروبیوتیک 10^6 ، گروه سه تیمار پروبیوتیک 10^7 ، گروه چهار تیمار نانو کلوئید نقره تحت کشنده (درصد خلوص ۹۹/۹ درصد و میانگین اندازه ۲۰ نانومتر) به‌صورت محلول ppm ۴۰۰۰ از شرکت نانو پیشگامان مشهد (شکل ۱) خریداری، گروه پنج پیش تیمارشده با پروبیوتیک 10^6 در مواجهه با نانو نقره و گروه شش پیش تیمارشده با پروبیوتیک 10^7 در مواجهه با نانو نقره بودند. اضافه کردن پربیوتیک لاکتو باسیلوس به غذا با روش اسپری کردن به میزان 1g/kg صورت گرفت، به این صورت که ابتدا میزان ۲ گرم پودر ژلاتین را به ۱۰۰ سی‌سی آب اضافه کرده و پس از حل شدن پودر در آب مقادیر موردنیاز پربیوتیک را که از قبل توزین و آماده شده بود، به محلول آب و پودر ژله اضافه شد. درنهایت پس از حل شدن پربیوتیک، محلول آماده شده بر غذای تجاری اسپری شد. بعد از گذشت ۴۲روز به هرکدام از گروه‌ها ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو نقره به مدت ده روز اضافه شد که در مجموع ۶ تیمار با ۳ تکرار (۱۸تیمار× تکرار) طراحی شد. همچنین لازم به یادآوری است تعویض آب روزانه ۷۰ درصد حجم تانک‌ها صورت گرفت و غلظت سم در هر یک از تیمارها حفظ شد. غذادهی روزانه به میزان ۲/۵ درصد وزن بدن بود (Hinton and Giulio, 2008).

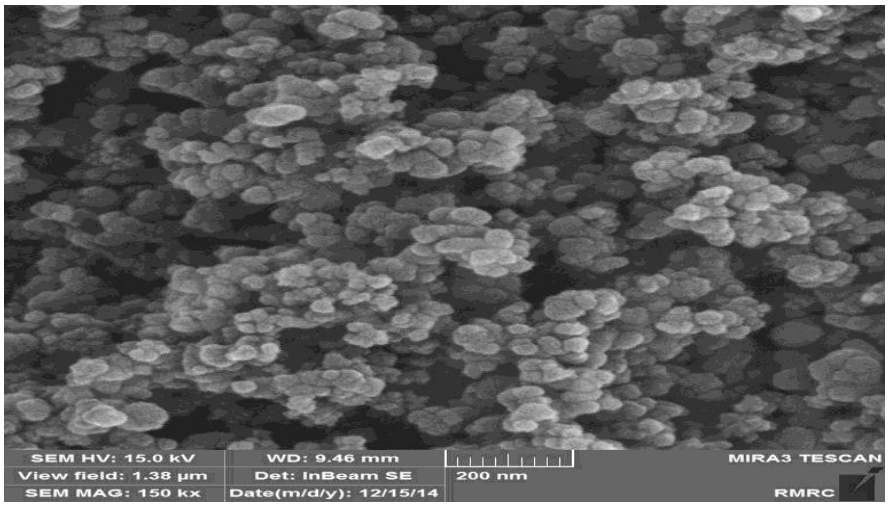
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

در پایان آزمایش و بعد از طی دوره ۵۲ روزه از هر تیمار، ۳ نمونه ماهی خون‌گیری شد. جهت نمونه‌برداری، ماهیان در داخل تشت‌های پلاستیکی محتوی آب همسان با آکواریوم هر ماهی که دارای ماده بی‌هوش کننده یوژینول بود، بی‌هوش شدند. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، با استفاده از سرسرنگ ۲ از ماهی (از ورید ساقه‌دمی) خون‌گیری صورت گرفت (Gisbert *et al*., 2004; Fiess *et al*., 2007).

پس از خون‌گیری، خون به ویال‌های ۱/۵ سی‌سی منتقل شد. ویال‌ها در مجاورت یخ جهت تعیین میـزان هموگلـوبین، درصـد هماتوکریت، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، مقادیر گلبول‌های قرمز و سفید خونی داخل لوله هپارینی جداگانه نگهـداری و شاخص‌های موردنظر سنجیده شد. برای شمارش افتراقی پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسـترش‌هـا بـه روش گیمسـا رنگ‌آمیزی شدند (Lee *et al*., 2006). هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین با اسپکتوفتومتر با طول‌مـوج ۵۴۰ سـنجیده شد. درصد هماتوکریت نمونه‌های خون، پس از سانتریفوژ کردن تعیین گردید، در این روش لوله‌های هماتوکریت در شـیارهای مخصوص در سانتریفیوژ قرار گرفت به‌طوری‌که انتهای مسدود لوله به سمت خارج از مرکز و کاملاً در تماس با محیط محوطـه سانتریفوژ بود. سپس درپوش را قرار داده، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سـانتریفوژ شـدند (Lim *et al*., 2000; Fiess *et al*., 2007).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. پس از بررسـی نرمـال بـودن داده‌ها، با استفاده از آزمون مقایسه میانگین تحلیل واریانس یک‌طرفه و پـس‌آزمـون چنـد دامنـه‌ای دانکـن انجـام شـد. نتـایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانو نقره

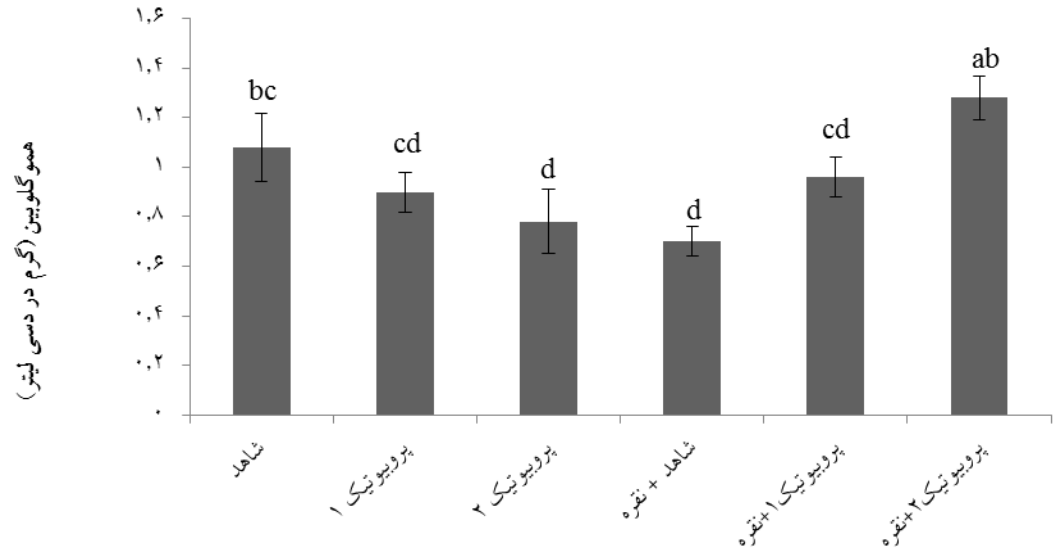
نتایـج

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص هموگلوبین خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، به‌طوری‌که هموگلوبین خون با میزان ۰/۷ (گرم در دسی‌لیتر) در تیمار چهار پایین‌ترین و ۱/۲۸ (گرم در دسی‌لیتر) در تیمار شش بالاترین ترین میزان را داشت. پروبیوتیک و نقره به‌تنهایی منجر به کاهش هموگلوبین خون گردیده، درحالی‌که پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره اثرات کاهشی را تعدیل نموده و به میزان اولیه رسانده است (شکل۲).

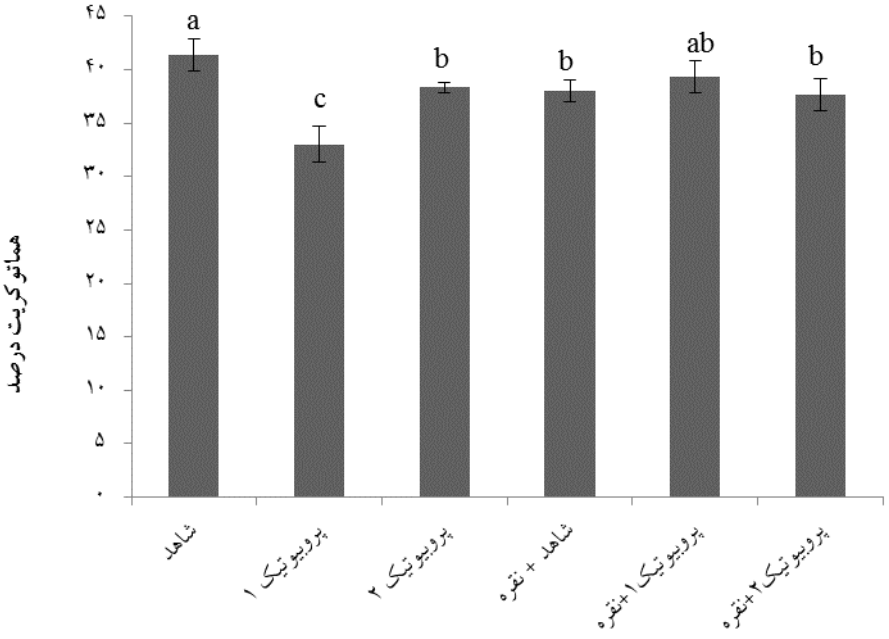
بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص هماتوکریت خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، به‌طوری‌که میزان هماتوکریت خون با میزان ۴۱/۳۳ درصد در تیمار یک بالاترین و ۳۳ درصد در تیمار دو پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تأثیر پروبیوتیک و نقره بر کاهش هماتوکریت خون نبود و پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره میزان هماتوکریت خون کاهش یافت (شکل۳).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]



شکل ۲. میزان هموگلوبین خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک ^{6}۱۰ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک ^{7}۱۰)

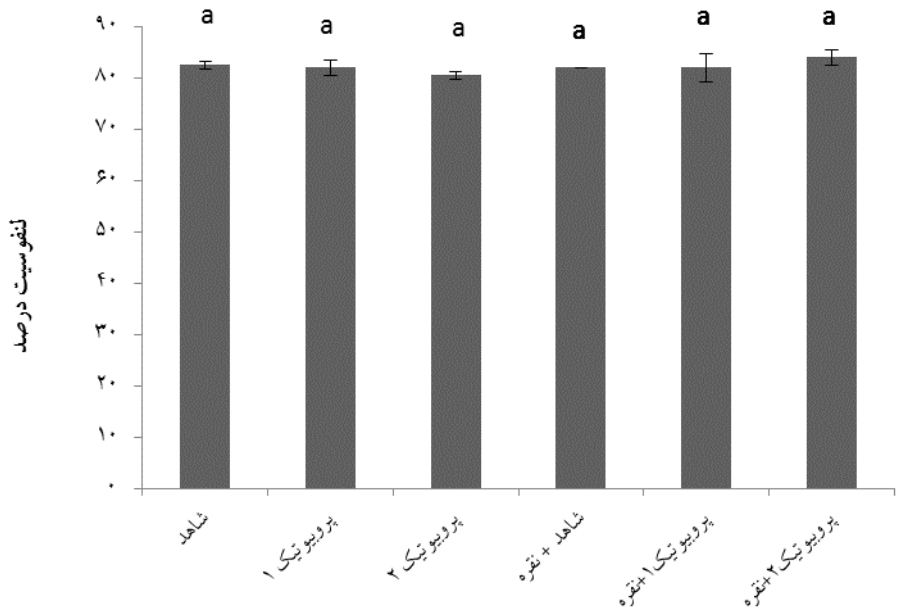


شکل ۳. میزان هماتوکریت خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک ^{6}۱۰ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک ^{7}۱۰)

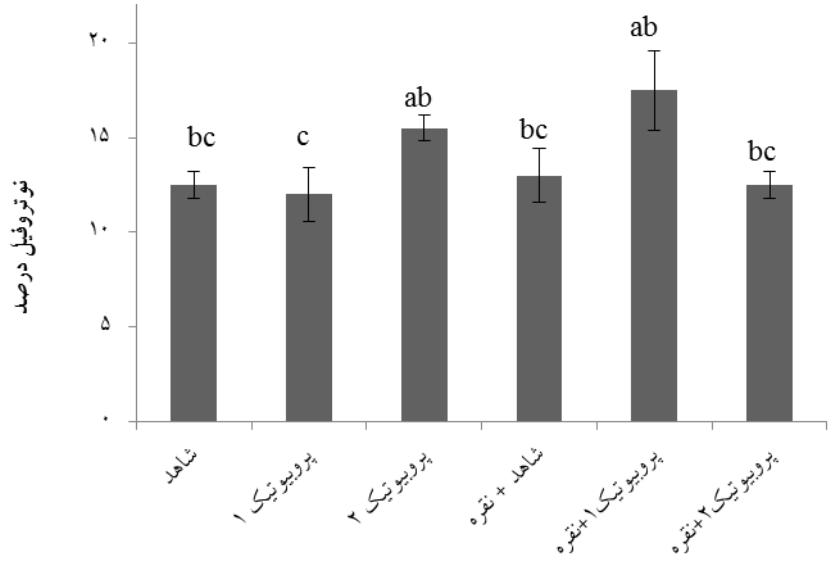
بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص لنفوسیت خون تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان لنفوسیت خون با میزان ۸۴ درصد در تیمار شش بالاترین و ۸۰/۵ درصد در تیمار سه پایین‌ترین میزان را داشت (شکل۴).

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص نوتروفیل خون تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که نوتروفیل خون با میزان ۱۷/۵ درصد در تیمار پنج بالاترین و ۱۲ درصد در تیمار دو پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تأثیر نقره و پروبیوتیک بر افزایش نوتروفیل خون بوده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانونقره میزان نوتروفیل خون افزایش چشم‌گیرتری داشت (شکل۵).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]



شکل ۴. میزان لنفوسیت خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک $۱۰^{۶}$ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک $۱۰^{۷}$)



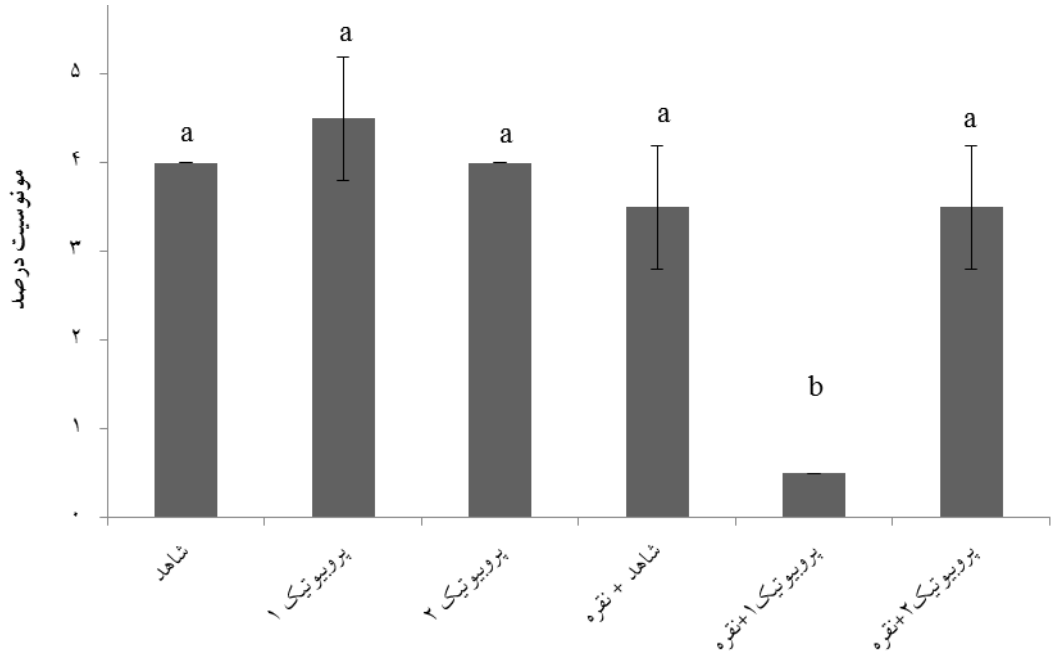
شکل ۵. میزان نوتروفیل خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک $۱۰^{۶}$ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک $۱۰^{۷}$)

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص مونوسیت خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که خون با میزان ۴/۵ درصد در تیمار دو بالاترین و ۰/۵درصد در تیمار پنج پایین‌ترین میزان را داشت. پروبیوتیک باعث افزایش و نقره منجر به کاهش مونوسیت خون گردیده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان مونوسیت بهبود ببخشد (شکل۶).

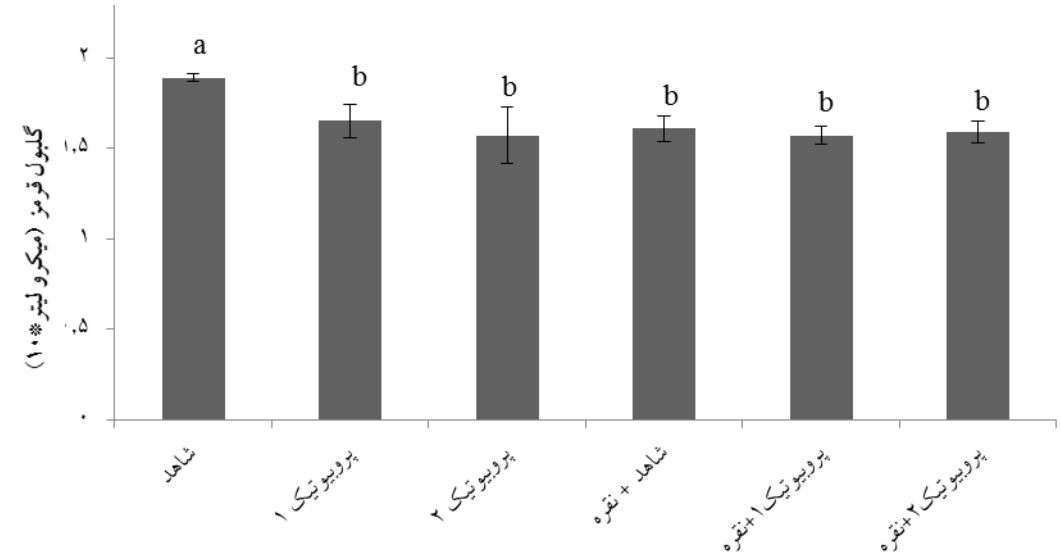
بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلبول قرمز خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که گلبول قرمز خون با میزان ۱/۸۹ (میکرولیتر×$۱۰^{۶}$) در تیمار یک بالاترین و ۱/۵۷ (میکرو-لیتر×$۱۰^{۶}$) در تیمار سه و پنج پایین‌ترین میزان را داشت. نقره و پروبیوتیک باعث کاهش گلبول قرمز خون گردیده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان گلبول قرمز خون بهبود ببخشد (شکل ۷).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]



شکل ۶. میزان مونوسیت خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک 10^{6} و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک 10^{7})

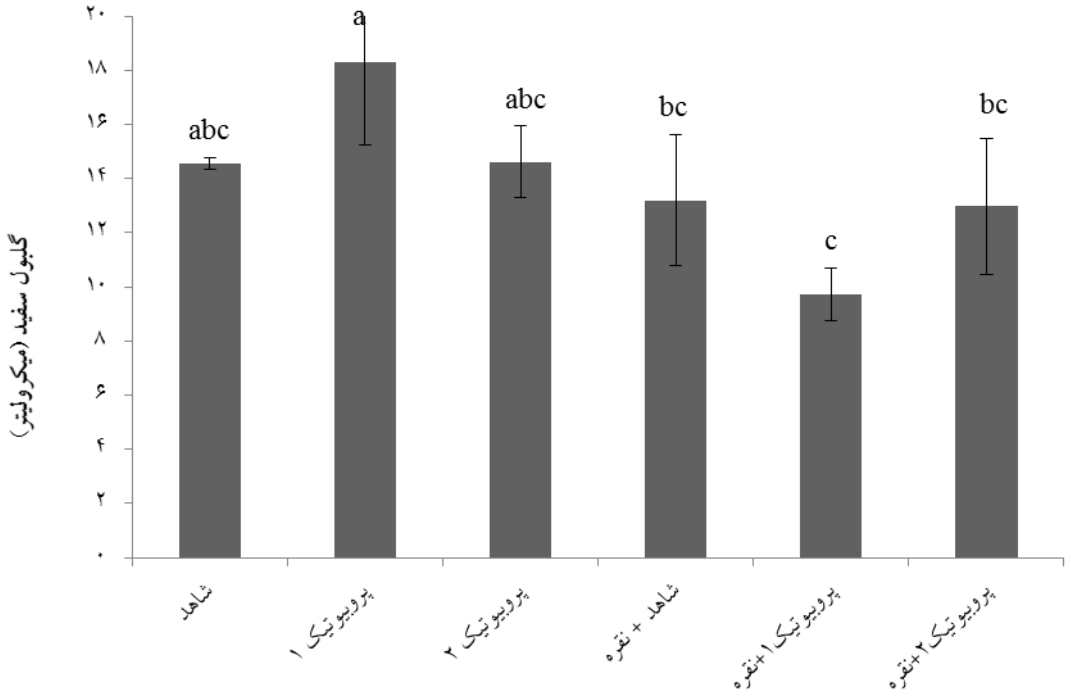


شکل ۷. میزان گلبول قرمز خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک 10^{6} و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک 10^{7})

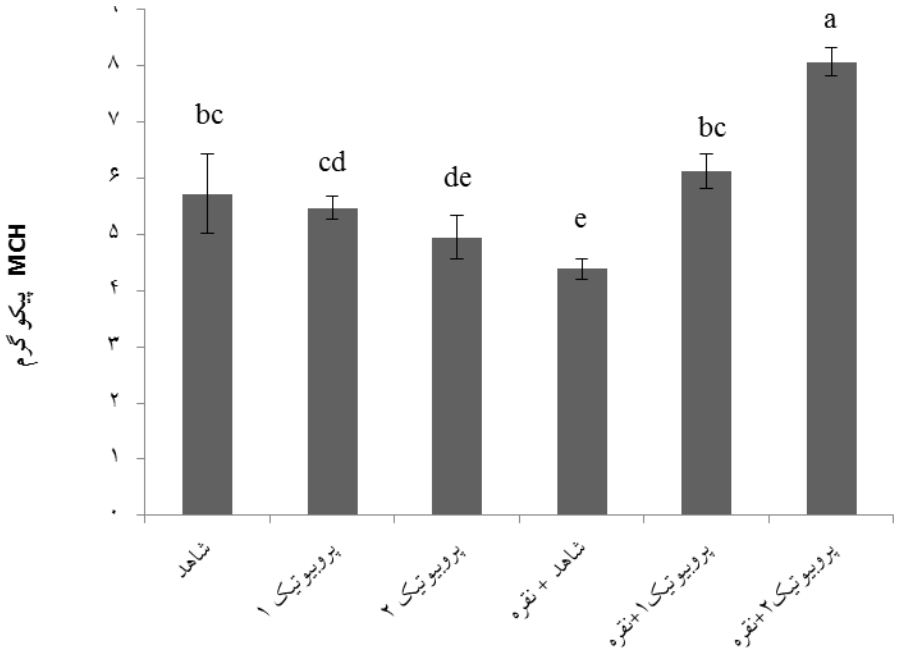
بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلبول سفید خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، به‌طوری‌که گلبول سفید خون با میزان ۱۸/۳۲۵ (میکرولیتر مکعب×10^{3}) در تیمار دو بالاترین و ۹/۷۲۵ (میکرولیتر مکعب×10^{3}) در تیمار پنج پایین‌ترین میزان را داشت که پروبیوتیک منجر به افزایش و نقره باعث کاهش گلبول سفید خون گردیده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان گلبول سفید خون بهبود ببخشد (شکل ۸).

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCH خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$). به‌طوری‌که MCH خون با میزان ۸/۰۷ (پیکوگرم) در تیمار شش بالاترین و ۴/۳۹ (پیکوگرم) در تیمار چهار پایین‌ترین میزان را داشت که پروبیوتیک و نقره باعث کاهش ولی پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، تا حدی باعث تعدیلMCH و یا حتی باعث افزایش این میزان گردید (شکل ۹).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]



شکل ۸. میزان گلبول سفید خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک ^{6}۱۰ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک ^{7}۱۰)

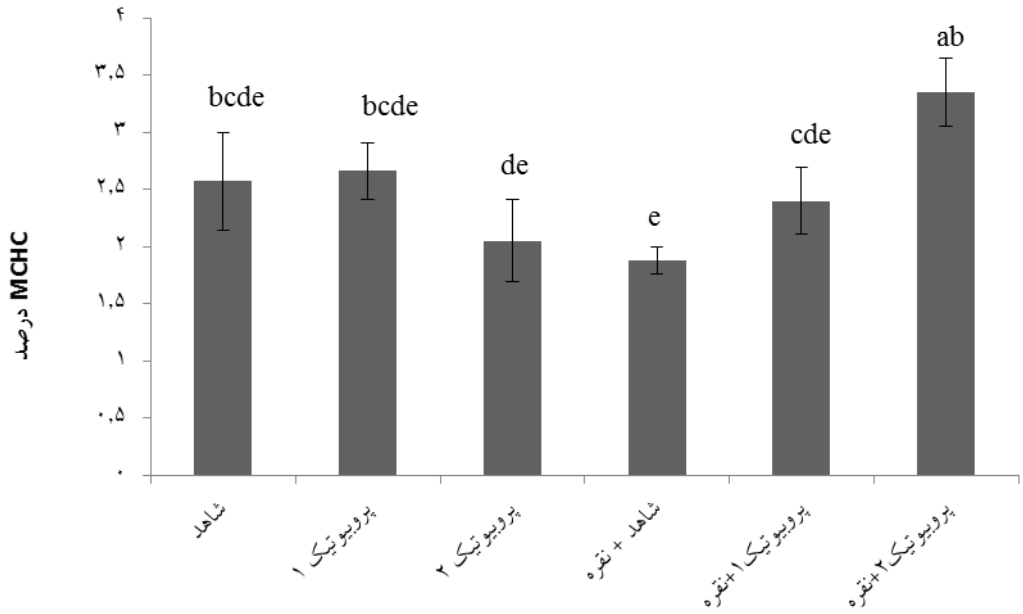


شکل ۹. میزان MCH خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک ^{6}۱۰ و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک ^{7}۱۰)

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCHC خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، به‌طوری‌که میزان MCHC خون با میزان ۳/۳۵ درصد در تیمار شش بالاترین و ۱/۸۸ درصد در تیمار چهار پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تأثیر پروبیوتیک بر افزایش بوده و نقره منجر به کاهش MCHC گردیده ولی در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک توانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزانMCHC خون بهبود ببخشد (شکل ۱۰).

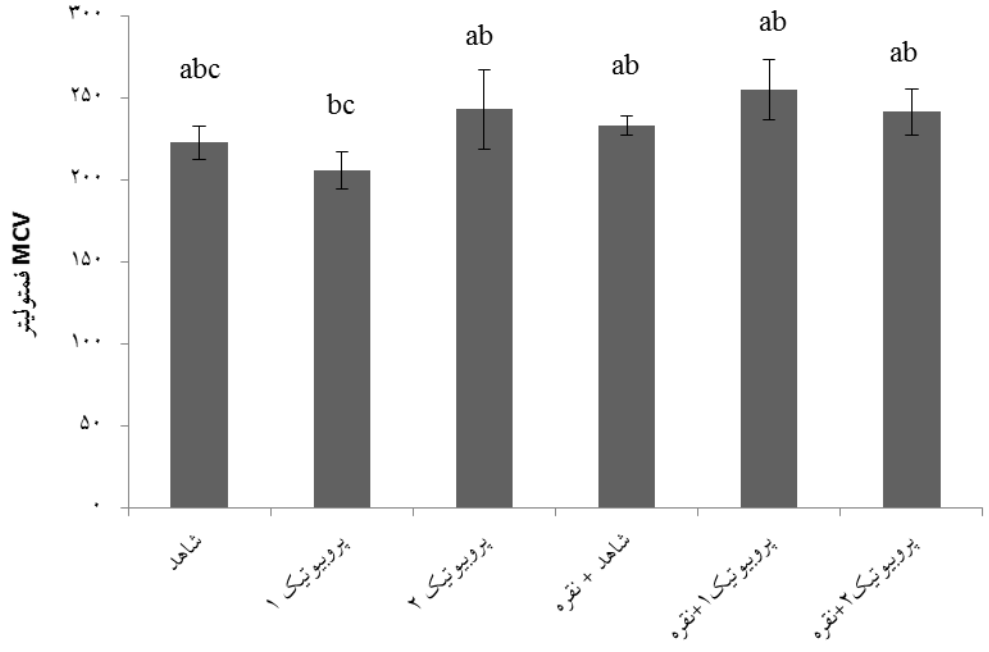
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]



شکل ۱۰. میزان MCHC خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک 10^6 و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک 10^7)

بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCV خون تأثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$). به‌طوری‌که میزان MCV خون با میزان ۲۵۵/۱۰۴ (فمتولیتر) در تیمار پنج بالاترین و ۲۰۵/۷۵۵ (فمتولیتر) در تیمار دو پایین‌ترین میزان را داشت که پروبیوتیک و نقره منجر به افزایش MCV خون گردیده و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات افزایشی نقره را بر میزانMCV بهبود ببخشد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱. میزان MCV خون ماهی کپور معمولی در ۶۰ روز آزمایش (پروبیوتیک ۱= پروبیوتیک 10^6 و پروبیوتیک۲= پروبیوتیک 10^7)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

بحث

شاخص‌های خونی ماهیان به عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی، رژیم غذایی (کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل‌دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد) بستگی دارد. البته مطالعات کمی در مورد شاخص‌های خونی ماهیان در پاسخ به محرک‌های رشد (پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و...) در دسترس می‌باشد (Ringo *et al*., 2010).

در مطالعه حاضر، تعداد گلبول‌های قرمز، میزانM.C.V، M.C.H، M.C.H.C، هموگلوبین و هماتوکریت خون اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). در مورد تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت، نقره و پروبیوتیک باعث کاهش این شاخص‌ها گردیده است، و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان این شاخص‌ها بهبود ببخشد. کاهش شاخص‌های اریتروسیتی خون به دلیل کم‌خونی رخ می‌دهد. در طی کم‌خونی، احتمالاً کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده می‌شود که ممکن است به دلیل خونریزی، همولیز یا کاهش تولید گلبول‌های قرمز صورت پذیرد (Hedayati *et al*., 2013). در خصوص تأثیر آلاینده‌ها بر تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و میزان هموگلوبین، گزارش‌های متفاوتی وجود دارد. مورد اول کاهش تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در کفشک‌ماهی *Pleuronectes fleus* پس از در معرض‌گذاری با غلظت‌های ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر دلتا آمینولولینیک اسید دی‌هیدرات[1] هفته به مدت ۴ و ۹ (Johansson and Larsson, 2006) و مورد دوم در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) پس از ۱، ۳ و ۵ هفته در معرض‌گذاری با غلظت ۵/۵ میکروگرم بر لیتر کادمیوم گزارش شده است (Atef and Attar, 2005). کاهش میزان گلبول‌های قرمز معمولاً به دلیل تجمع ترکیبات آب‌گریز در غشای آن‌ها و تخریب آن و یا تنش اکسیداتیو (مثلاً عدم توانایی تبدیل مت هموگلوبین به هموگلوبین توسط سیستم‌های آنزیمی)، آسیب‌های ساختاری در بافت‌های خون‌ساز از قبیل کلیه و طحال و سایر اثرات به حضور آلاینده‌ها نسبت داده می‌شود (Jee *et al*., 2005). این تغییرات را می‌توان به کاهش حجم پلاسما و غلیظ شدن خون و یا شاید افزایش اندازه گلبول‌ها تحت تأثیر حضور نقره نیز نسبت داد. وجود فلزات سنگین در آب همچنین می‌تواند منجر به لیز شدن گلبول‌های قرمز یا تخریب بافت‌های خون‌ساز چون کلیه و در نتیجه کاهش تعداد آن‌ها شود. نتایج سایر محققان همسو با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر است.

مطالعه‌ی شاخص‌های M.C.H، M.C.H.C ، M.C.V می‌تواند در تشخیص انواع کم‌خونی‌ها مفید باشد، پایین بودن مقدار M.C.V می‌تواند به‌عنوان یک پارامتر خونی مثبت باشد زیرا با کوچک شدن حجم گلبول‌های قرمز حرکت آن‌ها در رگ‌های خونی آسان‌تر و سریع‌تر می‌گردد و از ایجاد لخته جلوگیری می‌کند (Ferguson *et al*., 2010). در تحقیق حاضر میزان M.C.V، M.C.H و M.C.H.C بین تیمار شاهد و تیمارهای مورد آزمایش تأثیر معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). در ارتباط با M.C.H.C پروبیوتیک باعث افزایش و نقره منجر به کاهش این میزان گردیده است. در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک توانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان MCHC خون بهبود ببخشد. در ارتباط با M.C.V، پروبیوتیک و نقره منجر به افزایش MCV خون گردیده است. در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، میزان MCV خون افزایش چشم‌گیرتری داشت. در ارتباط با M.C.H پروبیوتیک و نقره باعث کاهش ولی در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، تا حدی باعث تعدیل M.C.H و یا حتی باعث افزایش این میزان گردید.

شاخص‌های لوکوسیتی خون شامل گلبول‌های سفید ازجمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها یکی از بخش‌های سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح می‌باشد (Stoskopf, 1993).

فراوانی گلبول‌های سفید خون شاخص سلامت ماهی محسوب می‌گردد، زیرا آمادگی بدن در برابر دفاع سلولی را نمایان می‌سازد. اما افزایش شدید گلبول‌ها نیز بیانگر التهاب بالینی بوده و هجوم انگل‌ها و باکتری‌ها را نشان می‌دهد (Savari *et al*., 2011). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی موجود و

[1] delta-aminolevulinic acid dihydrate (ALAD)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

افزایش میزان آن‌ها نشان‌دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (Adams, 2002). نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص گلبول سفید خون تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، که پروبیوتیک منجر به افزایش و نقره باعث کاهش گلبول سفید خون گردیده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان گلبول سفید خون بهبود ببخشد. Razavian و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که شش ماه استفاده از آب حاوی نانوذرات نقره به‌عنوان آب آشامیدنی موش‌های صحرایی نژاد ویستار منجر به کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید شد که دلیل آن را مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول (آپوپتوز سلولی) عنوان کرده‌اند. اغلب گزارش‌ها بیانگر کاهش تعداد گلبول‌های سفید در معرض آلودگی با فلزات سنگین نظیر کادمیوم به دلیل تخریب بافت خون‌ساز ماهی هستند از آن جمله می‌توان به گزارش‌های موجود در خصوص ماهی باس اروپایی اشاره کرد. Aly و همکاران (۲۰۰۸)، افزایش مقدار گلبول‌های سفید را با تغذیه پروبیوتیک پروتکسین گزارش نمودند. نتایج سایر محققان همسو با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر است.

تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی ایمنی بدن در مواجهه با مواد آلاینده مورد استفاده قرار گیرد (Adedeji *et al*., 2009). لنفوسیت غالب‌ترین لوکوسیت افتراقی ماهیان و مسئول بسیاری از عملکردهای سیستم ایمنی است. لنفوسیت‌ها نسبت به سایر لکوسیت‌ها طول عمر زیادتری دارند و اغلب در مواجهه با آلودگی کاهش پیدا می‌کنند. در تحریک یا سرکوب سیستم ایمنی، لنفوسیت‌ها بیومارکرهای کارآمدی محسوب می‌شوند (Hedayati *et al*., 2013). بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های تحقیق حاضر نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص لنفوسیت خون تأثیر معنی‌داری داشت (P>۰/۰۵).

به دلیل کاهش ائوزینوفیل و مونوسیت در خون، شناسایی آن‌ها بسیار مشکل است و استفاده از این شاخص‌ها در ردیابی اثرات آلاینده‌ها بسیار مشکل است (Evans, 2008). ائوزینوفیل ماهی همانند پستانداران در فاگوسیتوز و از بین بردن پاتوژن‌ها نقش دارد، اگرچه کاهش معنی‌دار ائوزینوفیل همگام با غلظت‌های مختلف آلاینده‌ها کمتر مشاهده‌شده است (Hedayati *et al*., 2013). بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های این تحقیق نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص ائوزینوفیل خون تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). Razmara و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثرات نانوذرات نقره بر گربه‌ماهی رنگین‌کمان (*Pangasianodon hypophthalmus*) بیان کردند که پس از ۱۰ روز تفاوت معنی‌داری در ائوزینوفیل مشاهده نمی‌شود.

ولی در ارتباط با مونوسیت نتایج نشان داد که بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که در مجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص مونوسیت خون تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، که پروبیوتیک باعث افزایش و نقره منجر به کاهش مونوسیت خون گردیده است و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، پروبیوتیک نتوانسته تأثیرات کاهشی نقره را بر میزان مونوسیت بهبود ببخشد.

در واکنش به القای آلودگی، نوتروفیل به کمک مولکول‌های چسبنده سطحی که با اپیتلیوم آوندی پیوند دارد به بافت‌ها وارد می‌شود. نوتروفیل وظایف زیادی ازجمله فاگوسیتوز ذرات کوچک، پاسخ به التهاب، تجزیه آلاینده و پروسه‌های متابولیکی نظیر نابود کردن سلول‌ها را به عهده دارد. بنابراین افزایش نوتروفیل در مواجهه با آلاینده‌ها دور از انتظار نیست (Evans, 2008). بررسی تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان داد که درمجموع تیمارهای آزمایشی بر شاخص نوتروفیل خون تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). که حاکی از تأثیر نقره و پروبیوتیک بر افزایش نوتروفیل خون بوده است. و در پیش تیمار نمونه‌ها با پروبیوتیک در مواجهه با نانو نقره، میزان نوتروفیل خون افزایش چشم‌گیرتری داشت. اخیراً افزایش درصد لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل در گربه‌ماهی رنگین‌کمان پس از مواجهه با نانوذرات نقره گزارش شده است (Razmara *et al*., 2013). در این تحقیق نیز نوتروفیل زیاد شده و همسو با نتایج سایر محققان است ولی در نتایج مورد لنفوسیت و مونوسیت خلاف این مورد است.

تفاوت‌های موجود در نتایجی را که محققان مختلف گزارش کرده‌اند احتمالاً بایستی به گونه‌ی پرورشی، اندازه و سن گونه، طول دوره‌ی پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک آبزی پرورشی مرتبط دانست.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

به‌طورکلی، اهمیت شاخص‌های خون‌شناسی به دلیل اثرپذیری آن‌ها از تغییر شرایط فیزیکی و شیمیایی آب است، همچنین تغییر این شاخص‌ها می‌تواند بیانگر میزان سمیت آلاینده‌ها و عملکرد موجود باشد. نتیجه‌گیری کلی این تحقیق نشان می‌دهد نانو نقره به‌تنهایی اثر کاهشی بر هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، گلبول سفید، مونوسیت، M.C.H.C، M.C.H و اثر افزایشی‌ای بر M.C.V و نوتروفیل خون داشته است. پروبیوتیک اثر کاهشی بر هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، M.C.H، هماتوکریت و اثر افزایشی‌ای بر شاخص‌های M.C.V ، M.C.H.C، گلبول سفید، مونوسیت و نوتروفیل داشته است. به نظر می‌رسد پروبیوتیک اثرات مخرب نانو نقره را که منجر به کاهش هموگلوبین سلول های خونی (نرموسیتیک هایپوکرومیک) شده، به حد نرمال رسانده و حتی سطح بالاتر پروبیوتیک (تیمار ۶) منجر به افزایش هموگلوبین سلول های خونی (نرموستیک هایپرکرومیک) شده است که مطالعات بیشتر در این زمینه را می‌طلبد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب تحقیق عملی و با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. از همه‌ی عزیزانی که به هر نحوی در این پژوهش مساعدت نمودند، سپاسگزاری می‌کنم.

منابـع

Adams, S.M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society. 219 p.

Adedeji, O.B., Adeyemo, O.K., Agbede, S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*). African Journal of Biotechnology. 8: 3940-3946.

Aly, S.M., Abdel-Galil, A.Y., Ghareeb A. Mohamed, M.F. 2008. Studies on Bacillus subtilis and Lactobacillus acidophilus, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish Shellfish Immunology. 25: 128-136.

Atef, M., Attar, A. 2005. Change in haematological parameters of the fish Oreochromis niloticus treated whit sub-lethal concentration of cadmium. Pakistan Journal Biological Sciences. 8: 421-424.

Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O. 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. 129(1): 95-112.

Blaise, C., Gagne, F., Ferard, J.F., Eullaffroy, P. 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. Environmental Toxicology. 23(5): 591-598.

Evans, G.O. 2008. Animal hematotoxicology: a practical guide for toxicologists and biomedical researchers. CRC Press. 362 p.

Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor Francis. 884 p.

Ferguson, R.M.W., Merrifield, D.L., Harper, G.M., Rawling, M.D., Mustafa, S., Picchietti, S., Blacazar, J.L., S. J.L., Davies, S.J. 2010. The effect of Pediococcus acidilactici on the gut microbiota and immune status of on growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Applied Microbiology. 109(3): 851-862.

Fiess, J.C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, L., Riley, L.G., Yancey, P.H., Hirano, T., Grau, E.G., 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambiquetilapia (*Oreochromis mossambicus*). Comparative Biochemistry and Physiology. 146(Part A): 252-264.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology. 66: 365-378.

Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. In: Fuller, R. (ed.). Probiotics: the Scientific Basis. Chapman & Hall, New York. 414 p.

Gatesoupe, F.J. 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. 14(1-3): 107-114.

Gisbert, E., Rodriguez, A., Cardona, L., Huertas, M., Gallardo, M.A., Sarasquete, C., Sala-Rabanal, M., Ibarz, A., Sanchez, J., Castello-Orvay, F. 2004. Recovery of Siberian sturgeon yearlings after

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]

an acute exposure to environmental nitrite: changes in the plasmatic ionic balance, Na+/K+ATPase activity, and gill histology. Aquaculture. 239: 141-154.

Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Qaderi Rmazy, F. 2013. Aquatic Toxicology. Vol. I. First edition. pp. 70-76.

Jee, J.H., Masroor, F., Kang, J.C. 2005. Responses of cypermethrin induced stress in haematological parameters of Korean rockfish Sebastes schegeli. Aquaculture Research. 36: 98-105.

Johansson, M.L., Larsson, A. 2006. The effects of cadmium on the haematology and on the activity of delta-aminolevulinic acid dihydrate (ALAD) in blood and haematopoitic tissue of the flounder (*Pleuronectes fleus*). Environmental Research. 17: 1991-2004.

Kim J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.Y., Kim, Y.K. 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 3(1): 95-101.

Lee, K.M., Kaneko, T., Katoh, F., Aida, K. 2006. Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu Takifugu rubripes exposed to a hypoosmotic environment. General and Comparative Endocrinology. 149: 285-293.

Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H., Robinson, E.H. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to Edwardsiella ictaluri challenge. Aquaculture. 185: 313-327.

Razavian, S.M., Safarpur, A., Roshanaee, K., Yazdian, M.R., Heydarieh, N. 2010. Study of some biochemical and hematological changes in rats as well as oral intake of silver nanoparticles. Journal of Babol University of Medical Sciences. 13(1): 27-22. (in Persian)

Razmara, P., Dorafshan, S., Peikan Heirati, F., Talebi, M., Ranjbar, M. 2013. The effect of silver nanoparticles and dissolved silver nitrate on gill tissue changes of catfish *hypophthalmus Pangasianodon*. Journal Aquatic Ecology. 3(3): 18-10. (in Persian)

Ringo, E., Olsen, R.E., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G., Bakke, A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. Aquaculture Nutrition. 16: 117-136.

Savari, A., Hedayati, A., Safahieh, A. 2011. Characterization of blood cells and hematological parameters of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in some creeks of Persian Gulf. World Journal of Zoology. 6: 26-32.

Stoskopf, M.A. 1993. Fish Medicine. Sounders Company. U.S.A. 882 p.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.7.4.8.3]