فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۶، جلد ۱۰، شماره ۱، زمستان ۹۵، صفحه ۱۱ تا ۱۹

بررسی عملکرد ایمنی پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید بر کاهش عوارض بافت روده ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) در مواجهه با غلظت‌های کشنده سم بوتاکلر(Machty)

محمد فروهر واجارگاه[۱]، **فاطمه دارابی تبار**[۱]، سید علی اکبر هدایتی[۲]
۱- کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان. ایران.**Darabitabar@gmail.com**
۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان. ایران.

تاریخ دریافت:۹۵/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۸

چکیده

زمینه و هدف: افزودن پربیوتیک‌ها به جیره غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تحریک اشتها ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساخت ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی و افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید بر آسیب‌های بافتی روده ناشی از غلظت‌های کشنده سم بوتاکر در ماهی کپور معمولی است.

روش کار: ۱۵۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۰/۵۷ ± ۷/۱۰ گرم به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی در مخازن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری قرار داده شدند. اضافه کردن پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید به غذا با روش اسپری کردن به میزان ۱g/kg صورت گرفت. با محاسبه $LC_{50/96h}$ برای سم بوتاکلر ۰/۷۸۵ چهار غلظت کشند ppm ۱/۰۵،ppm ۱/۱،ppm ۱/۲ و ppm ۱/۱۵، با هر سه تکرار این بررسی در نظر گرفته شد.

یافته ها: بررسی‌های بافت‌شناسی ماهیان که در معرض پربیوتیک قرار داشتند، نشان دهنده بروز آسیب‌های بافتی در بافت روده نسبت به بافت‌های گروه شاهد بود. میزان آسیب‌های بافتی با افزایش غلظت سم درppm ۱/۱۵ مشاهده و عارضه‌ها شامل تخریب پرزهای روده، تغییر شکل و تخریب سلول‌های پوششی، و نکروز در بافت روده بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید نمی‌تواند از میزان آسیب‌های بافتی روده در برابر غلظت‌های کشنده سم بوتاکلر(ماچتی) بکاهد و به‌عنوان فاکتور ایمنی در این مطالعه اثر سودمند و مثبتی در جهت افزایش ایمنی ماهی کپور در برابر غلظت‌کشنده آلاینده نشان نداد.

واژه های کلیدی: سم بوتاکلر، آسیب‌های بافتی، پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید، جیره غذایی.

مقدمه

امروزه آفت‌کش ها در کشاورزی و برای بسیاری از اهداف گوناگون هم چون حفظ سلامت بشر و حیوانات، کنترل آفات در محیط های آبی و حفاظت بناها و دیگر ساختارها به کار برده می شوند. اما کاربرد بیش از حد و مداوم آفت‌کش ها سلامت بشر را به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف داشته و موجب آلودگی منابع آب و خاک و هوا شده است. ارزیابی ها نشان می‌دهد که حداکثر یک درصد آفت‌کش های مصرفی، موجب از بین بردن آفات شده و در نتیجه مقادیر قابل توجهی از آن‌ها وارد محیط زیست می‌گردند و منابع آبی و خاکی را آلوده می سازند(۳۱). کپور معمولی متعلق به خانوادهٔ کپور ماهیان(*Cyprinidae*) می‌باشد. این خانواده بزرگ‌ترین خانواده در بین ماهیان است اعضای این خانواده را می توان بر اساس داشتن

دندان حلقی ۱ تا ۳ ردیف و لب های نازک تشخیص داد. بیشتر آن‌ها شکار چیانی هستند که از بی‌مهرگان تغذیه می‌کنند، اما بعضی از آن ها نیز گوشتخوار هستند و بعضی دیگر از جلبک‌ها، گیاهان عالی‌تر و مواد آلی تغذیه می‌کنند(۲۸). تحقیقات نشان داده که می‌توان با استفاده از مکمل‌های غذایی سودمند همانند پروبیوتیک-ها و پربیوتیک‌ها، مقاومت ماهیان را در برابر عوامل بیماری زا و استرس‌های محیطی افزایش داد(۸، ۲). جستجو برای یافتن جایگزین مناسب به جای آنتی بیوتیک‌های محرک رشد ضروری به نظر می‌رسد، مکمل‌های غذایی همانند پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها به عنوان فرآورده‌های طبیعی و ایمن گزینه خوبی برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها و هم چنین افزایش رشد آبزیان می‌باشند. پربیوتیک ماده غذایی غیرقابل هضمی است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد. براساس این تعریف هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مانند کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، بعضی از پپتیدها، پروتئین‌ها و نیز برخی از چربی‌ها می-توانند به عنوان پربیوتیک مطرح باشند(۱۱). افزودن پربیوتیک‌ها به جیره غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم-های گوارشی و تحریک اشتها ایجاد تعادل میکروبی در روده میزبان، ساخت ترکیبات مفید از جمله ویتامین‌ها و برخی آنزیم‌ها، تحریک و افزایش کارایی سیستم ایمنی و افزایش رشد و توسعه سطوح غذایی می شود(۱۹، ۱۰). قرار گرفتن در معرض آلاینده های شیمیایی می تواند ضایعات و آسیب های متعددی را به بافت ها و سلول‌های مختلف ماهی وارد کند، آزمایشات آسیب شناسی بافتی، ابزاری مفید به منظور ارزیابی میزان آلودگی و بررسی اثرات آلاینده، به ویژه اثرات حاد و مزمن بر موجودات زنده می باشد(۶). اطلاعات حاصل از آزمایش‌های سم-شناسی در علم اکوتوکسیکولوژی، اثرات این سموم را بر جمعیت آبزیان نشان می‌دهد و نتایج حاصله نشان می-دهند که توان اثرگذاری کدام یک از مواد آلاینده بیشتر و در چه میزانی از حد مجاز مصرف قرار دارد. هم چنین جهت محدودسازی کاربرد مواد سمی باید چنین آزمایش‌هایی صورت گیرند. بنابراین هدف از آزمایش-های سنجش سمیت آلاینده‌ها، رسیدن به معیارهای قابل اعتماد برای حفاظت منابع آبزیان می‌باشد(۲۲). بوتاکلر(Butachlor) با فرمولاسیون ماچتی علف‌کش انتخابی، سیستمیک از گروه کلراستانیلید(آمید) می باشد. بوتاکلر (ماچتی)، برای مبارزه با علف‌های هرز یک‌ساله، برگ کشیده ها و بعضی پهن برگ‌ها در زراعت برنج، قبل از رویش در مزارع به کار برده می‌شود. اثر این سم به میزان آبی که در دسترس گیاه است بستگی دارد(۲۵). مطالعات بافت‌شناسی دانش ما را در مورد اثرات آلاینده-ها بر ماهیان توسعه می‌بخشد(۲۹). با توجه به اثرات ایمنی بخش پروبیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید، در این مطالعه بررسی اثر این پربیوتیک بر آسیب‌های بافتی روده ناشی از غلظت‌های کشنده سم بوتاکر در ماهی کپور معمولی صورت گرفته شده است.

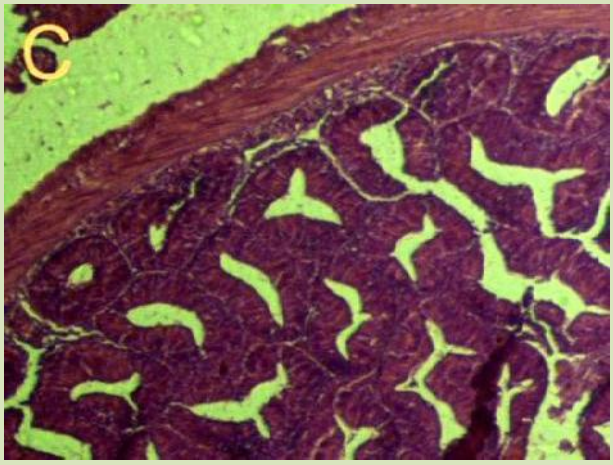
مواد و روش‌ها

در این بررسی ۱۵۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۰/۵۷ ± ۷/۱۰ گرم به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی در مخازن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری که قبل از شروع آزمایش به‌وسیله پرمنگنات پتاسیم و آب‌نمک غلیظ ۷۰ درصد کاملاً شسته شده قرار داده شدند. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی مخازن، آبگیری آن‌ها تا نیمه صورت گرفت. در طول دوره‌ی آزمایش در تمام تیمارها فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب ثابت در نظر گرفته شدند. در این مطالعه اضافه کردن پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید به غذا با روش اسپری کردن به میزان ۱g/kg ماده غذایی صورت گرفت، به این صورت

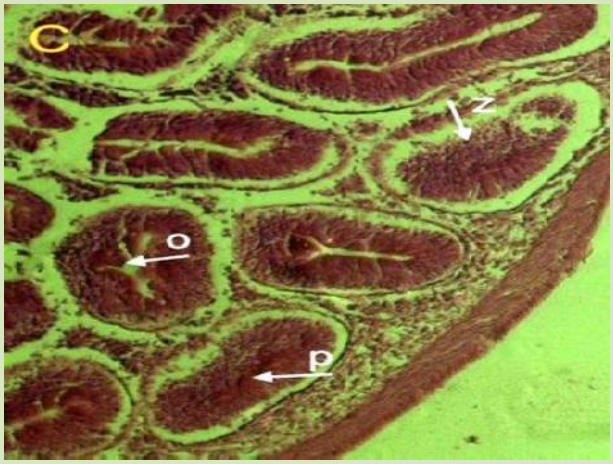
که ابتدا میزان ۲ gr پودر ژلاتین را به آب اضافه کرده و پس از حل شدن پودر در آب مقادیر مورد نیاز پریبیوتیک را که از قبل توزین و آماده شده بود، به محلول آب و پودر ژله اضافه شد. در نهایت پس از حل شدن پریبیوتیک، محلول آماده شده بر غذای تجاری اسپری شد. $LC_{50/96h}$ برای سم بوتاکلر ۰/۷۸۵ ppm محاسبه گردید(۲۷). براساس $LC_{50/96h}$ چهار غلظت کشنده ppm ۱/۰۵، ppm ۱ /۱، ppm ۱/۲ و ppm ۱/۱۵، که هر کدام با سه تکرار و به مدت زمان ده روز برای این بررسی در نظر گرفته شد. زمان انجام آزمایش غلظت کشندگی، ۹۶ ساعت بود و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲، و ۹۶ ساعت محاسبه گردید. تعداد مرگ و میر از زمان القای آلاینده تا ساعت ۲۴، مرگ و میر روز اول محسوب شد. هم‌چنین تعداد مرگ و میر از زمان القای آلاینده تا ۴۸ ساعت، مرگ و میر روز دوم، تعداد مرگ و میر از زمان القای آلاینده تا ۷۲ ساعت، مرگ و میر روز سوم و تعداد مرگ و میر از زمان القای آلاینده تا ۹۶ ساعت، مرگ و میر روز چهارم در نظر گرفته شد. پس از پایان دوره آزمایش از هر گروه(تیمار) به طور تصادفی حداقل سه تا پنج ماهی انتخاب و بعد از بیهوش کردن(ppm ۲۰۰ماده بیهوش‌کننده گل میخک) از بافت روده نمونه برداری صورت گرفت و سپس نمونه‌های بافتی در محلول بوئن تثبیت شد. بافت‌های تثبیت شده در فیکساتورفرمالین ده درصد پس از ۲۴ ساعت به الکل ۸۰ درصد منتقل و آبگیری با سری افزایشی اتانول(۸۰، ۹۰، ۹۷ و ۱۰۰ درصد) انجام و در ادامه در گزیلول و سپس پارافین وارد شدند. تمامی این مراحل توسط دستگاه پاساژ بافت(Tissue processor, Triangle biomedical sciences USA) تحت برنامه تعریف شده برای این کار انجام گردید. بافت‌ها سپس با پارافین(دمای ذوب ۵۸-۵۶ درجه سانتی گراد) بر روی قالب‌های tissue tech قالب‌گیری شد(۹). از قالب‌های پارافینه با استفاده از دستگاه میکروتوم(Olympus CUT 4055E, USA) برش هایی با ضخامت ۵µm تهیه و پس از قرار دادن بر روی لام، به مدت ۰/۵ ساعت در آون (۶۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد تا پارافین اضافه از روی بافت حذف شود. نمونه‌ها پس از پارافین زدایی و جایگزینی آن با گزیلول، به وسیله سری‌های کاهشی اتانول(۱۰۰، ۹۰ و ۷۰ درصد) آبدهی مجدد و با استفاده از محلول‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. بافت‌ها مجدداً برای خشک به آون منتقل گردیدند. تمامی مواد استفاده شده در این مراحل(اتانول، گزیلول، پارافین، هماتوکسیلین و ائوزین) محصول کمپانی Merck بود. در نهایت لامل با استفاده از چسب کاندا بالزام روی لام‌ها چسبانده و هر یک از لام ها با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی های مختلف مورد بررسی هیستوپاتولوژیکی قرار گرفت(۲۰). جهت بررسی تحت میکروسکوپ نوری، با بزرگنمایی های مختلف مورد بررسی هیستوپاتولوژیکی قرار گرفت (۱۵).

نتایج

در طول دوره آزمایش در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل مرگ و میر مشاهده نگردید(شکل ۱). بررسی‌های بافت‌شناسی ماهیان که در معرض پریبیوتیک قرار داشتند، نشان دهنده بروز آسیب-های بافتی در بافت روده بود، که این تغییرات در مقایسه با بافت‌های گروه شاهد مشاهده شد. عوارض مشاهده شده شامل نکروز اپی‌تلیوم، چسبیدن پرزهای مسواکی، تخریب پرزهای روده بود(شکل ۲).



شکل ۱- بافت روده نمونه شاهد ماهی کپور معمولی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر

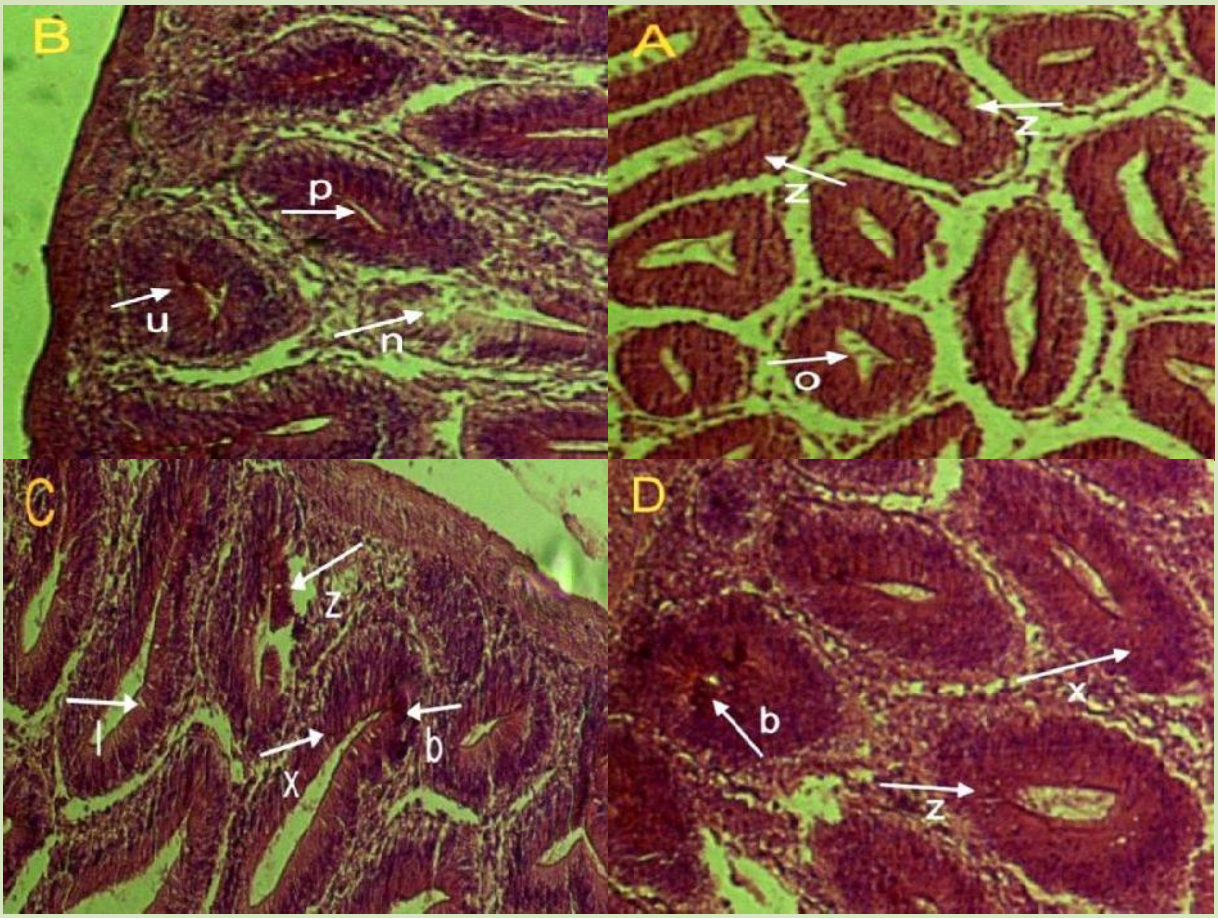


شکل ۲- عوارض بافت روده ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت ۱g/kg پریبیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر،
نکروز اپی‌تلیوم (o)، چسبیدن پرزهای مسواکی (p)، تخریب پرزهای روده (z)

جدول ۱- اثر پریبیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید بر تخریب بافت روده ناشی از غلظت‌های کشنده سم بوتاکلر

عارضه‌های روده	۰ ppm	۱/۰۵ ppm	۱/۱ ppm	۱/۲ ppm	۱/۱۵ ppm
واکوئله شدن	–	+++	+++	+++	++++
خونریزی	–	+++	++	+++	+++
دژنراسیون اپی‌تلیوم	–	++++	++	+++	+++
تخریب پرزهای روده	–	++++	++++	++++	++++
تغییر شکل و تخریب سلول‌های پوششی	–	++++	++++	++++	++++
فساد پرزها	–	+++	+++	+++	++++
نکروز	–	+++	++++	+++	++++
چسبیدن پرزهای مسواکی	–	++++	+++	+++	+++

عدم مشاهده عارضه(–)، ۱ تا ۳ عارضه مشاهده شده (+)، ۳ تا ۵ عارضه مشاهده شده (++)، ۵ تا ۱۱ عارضه مشاهده شده (+++)، و بیشتر از ۱۱ (++++).



شکل ۳- اثر پریبیوتیک بر تخریب بافت روده ماهی کپور ناشی از غلظت‌های مختلف سم بوتاکلر با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر
A= ppm۱/۰۵، B= ppm۱/۱، C= ppm۱/۲، D= ppm۱/۱۵

دژنراسیون اپی‌تلیوم (o)، تخریب پرزهای روده (z)، تغییر شکل و تخریب سلول‌های پوششی (u)، چسبیدن پرزهای مسواکی (p)، نکروز (n)، واکئوله شدن (l)، خونریزی (b)، تخریب پرزهای روده (z)، فساد پرزها (x)، خونریزی (b)، تخریب پرزهای روده (z)، فساد پرزها (x)

بحث و نتیجه گیری

استفاده از آفت‌کش‌ها به صورت مداوم و گسترده در اکوسیستم های آبی ذخایر ژنی آن ها را در معرض تهدید قرار داده و موجب کوچک شدن مبنای ژنی (Shrinking genetic base) و کاهش تنوع زیستی فون و فلور اکوسیستم می گردد(۲۶). این فرآیندها نهایتاً برای انسان خطر آفرین می‌باشد چرا که انسان وابسته به غذاهای موجود در محیط های آبی از جمله ماهی ها هستند(۲۱). تغییرات بافت شناسی در نمونه های قرار گرفته در معرض سم بوتاکلر مشهود بود در حالی که هیچ تغییر قابل تشخیصی در ماهیان گروه شاهد مشاهده نشد. با افزایش مدت زمان قرارگیری در برابر غلظت‌های سم بوتاکلر میزان آسیب‌های بافتی نیز مشهودتر بود. به-طوری که در غلظت ppm ۱/۱۵ میزان تخریب وسیع‌تر بود. در بافت روده تعداد عارضه مشخص شده در تیمارهای ۱/۰۵ و ۱/۱ نسبت به دو تیمار ppm ۱/۲ و ۱/۱۵ کمتر مشاهده شد. در مطالعه ای که به منظور بررسی سمیت حاد آفت کش‌های Maneb و کاربامیل بر روی ماهیان جوان قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) انجام گردید که هیچ یک از ماهیان گروه کنترل تلف نشدند و اولین ماهی پس از ۶ ساعت قرار گیری در معرض Maneb و کاربامیل تلف شد(۳). Satyanarayan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز نشان دادند که روده ماهی کپور معمولی در معرض

آفت‌کش‌های DDT، BHC، کلر آلدرین دچار آسیب نکروز اپی‌تلیال حاد شدند(۲۸). قرار گرفتن ماهی در معرض آلاینده‌های شیمیایی به احتمال زیاد باعث القاء تعداد ضایعات زیاد در اندام‌های مختلف از جمله روده می‌شود. عارضه‌های مشاهده شده در بافت روده ماهی کپور معمولی شامل واکوئله شدن، دژنراسیون اپی‌تلیوم، نکروز، خونریزی، تخریب پرزهای روده، تغییر شکل و تخریب سلول‌های پوششی، چسبیدن پرزهای مسواکی و فساد پرزها بود. بیشترین و وسیع ترین اثر تخریب مربوط به عارضه‌های تخریب پرزهای روده، تغییر شکل و تخریب سلول‌های پوششی، دژنراسیون اپی‌تلیوم و نکروز بود که با افزایش مدت زمان قرار گیری در معرض غلظت‌کشنده ۱/۱۵ سم بوتاکلر میزان تخریب نیز بیشتر مشاهده شد(۲۸). در مطالعه‌ای که هدایتی و همکاران بر روی بررسی عملکرد ایمنی و محافظتی پریبیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید در کاهش آسیب‌های بافتی ماهی کپور دریایی(*Cyprinus carpio*) ناشی از غلظت-های مختلف Pretilachlor انجام دادند. نتایج نشان داد تیمارهایی که بعد از دادن پریبیوتیک در معرض پرتیلاکلر قرار گرفتند(۱). عارضه‌های بافتی نظیر واکوئله شدن، دژنراسیون اپی تلیوم، تخریب پرزهای روده، در بافت روده نشان داد(۱). در بافت روده ماهی کپور معمولی قرار گرفته در معرض غلظت ۱g/kg پریبیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید عارضه‌ها در بافت روده شامل تخریب پرزهای روده، نکروز اپی‌تلیوم، چسبیدن پرزهای مسواکی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر، با افزودن اینولین به میزان ۵ g/kg یا ۱۰ جیره ماهی سیم دریایی(*Spaus aurata*) طی مدت ۱ تا ۲ هفته در شرایط پرورشی دریافتند که اینولین بازدارندگی معنی-داری در پارامترهای سیستم ایمنی به دنبال دارد و پیشنهاد کردند که اینولین نمی‌تواند محرک ایمنی مناسبی برای این گونه باشد(۷). Kihara و همکاران در سال ۱۹۹۵ مطالعه ای به منظور تعیین اثرات لاکتوساکارز روی غشاء پوششی روده ماهی شانک(*Pargus major*) و نیز مصرف این ماده توسط فلور باکتریایی روده انجام دادند(۱۶). نتایج آن‌ها موید این بود که لاکتوساکارز باعث افزایش ضخامت غشاء پوششی روده شده و این ماده توسط فلور باکتریایی روده به خوبی مورد استفاده قرار می گیرد. با این وجود همین محققین در مطالعاتی بر روده ماهی کپور(*Cyprinus carpio*)(۱۵) و ماهی قزل آلای رنگین کمان(۱۴) گزارش کردند لاکتوساکاروز به خوبی توسط فلور روده مورد استفاده قرار نمی گیرد. Vendemiatti و همکاران در سال ۲۰۰۳، در مطالعه‌ای روی تیلاپیای رود نیل(*Oreochromis niloticus*)، اثرات سطوح مختلف(۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ g/kg غذا) مانان اولیگوساکارید در جیره را بر فاکتورهای رشد و بازماندگی مورد بررسی قرار دادند(۳۰). نتایج حاصل از این مطالعه بین افزایش سطح پریبیوتیک در جیره و فاکتورهای رشد و بازماندگی تیلاپیا ارتباط منفی را نشان داد(۳۰). Grisdale-Helland و همکاران در سال ۲۰۰۹، در مطالعه‌ای به مدت ۱۲۰ روز روی آزاد ماهی اقیانوس اطلس(*Salmo salar*)، اثرات مانان‌اولیگوساکارید، فروکتواولیگوساکارید و گالاکتو اولیگوساکارید در یک سطح(۱۰ g/kg واحد غذا) را بر فاکتورهای رشد مصرف جیره و ایمنی این ماهی بررسی کردند(۱۳). نتایج به دست آمده نشان داد که این پریبیوتیک‌ها اثر معنی‌داری بر فاکتورهای رشد و مصرف جیره نداشت. علاوه براین اثر معنی‌داری بر ایمنی آزاد ماهی اقیانوس اطلس نشان نداد(۱۳). بر اساس نتایج آزمایشی ۱۴ روزه که توسط Neskovik و همکاران در سال ۱۹۹۶ از اثرات سم رانداپ بر تغییرات هیستوپاتولوژی آبشش، کلیه و کبد ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) انجام شد، آسیب های مختلفی در بافت های ذکر شده در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده

گردید(۲۴). تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده ممکن است علت انسداد سیستم های گردش خون و دستگاه گوارش باشد(۴). تغییرات بافتی مشاهده شده در اثر غلظت‌های مختلف بوتاکلر در دیگر گونه‌های ماهی با آلاینده‌های مختلف گزارش شده است(۶). در نتایجی که Ladipo و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی گربه ماهی Clarias gariepinus به‌دست آمد وی ضمن گزارش صدمات بافتی در کبد ماهی نشان دادند که میزان صدمات و گستردگی آن ها ارتباط مستقیم با میزان سم مصرف شده دارد(۱۸). Neibor و همکاران در ۱۹۸۰ گزارش کردند که میزان سمیت هر علفکش به تجمع بافتی، نوع و ساختار ماده مورد مطالعه و برهمکنش این ماده با جانور در معرض سم، بستگی دارد(۲۳). بنابراین کبد به عنوان محل اصلی تجمع مواد سمی دارای اهمیت خاصی است. Klaassen و همکاران در سال ۱۹۷۹ در ماهی(*Lepomis macrochirus*) میزان تجمع‌پذیری آترازین را در بافت عضله کمتر از µg/g ۰/۳ به‌دست آوردند(۱۷). هم چنین Gluth و همکاران، در سال ۱۹۸۵ در یک نوع ماهی کپور، کمتر از µg/g ۰/۴ محاسبه کردند(۱۲). نتایج این مطالعه نشان داد که پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید نمی‌تواند از میزان آسیب‌های بافتی روده در برابر غلظت‌های کشنده سم بوتاکلر (ماچتی) بکاهد. و به‌عنوان فاکتور ایمنی در این مطالعه اثر سودمند و مثبتی در جهت افزایش ایمنی ماهی کپور در برابر غلظت‌کشنده آلاینده نشان نداد. سم بوتاکلر باعث آسیب‌های شدید بافتی روده شد و میزان این آسیب‌ها با افزایش غلظت سم در ppm ۱/۱۵ مشاهده شد.

تشکر و قدردانی

از اساتید و همکاران محترم دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، و تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

منابع

۱– هدایتی، ع.، فروهر واجارگاه، م.، دارابی تبار، ف.، محمدی یلسوئی، ا.، صحرایی، ح. ۱۳۹۴. بررسی عملکرد ایمنی و محافظتی پربیوتیک ایزومالتواولیگوساکارید در کاهش آسیب‌های بافتی ماهی کپور دریایی(*Cyprinus carpio*) ناشی از غلظت‌های مختلف Pretilachlor. مجله علوم پزشکی زانکو. صفحات ۶۱–۷۲.

2.Amar, E.C., Kitron, V., Satoh, S., Okamoto, N., Watanabe, T. (2000). Effect of dietary β-carotene on the immune response of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science. 66; 1048-1075.

3.Boran, H., Altinok, I., Capkin, E. (2010). Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Tissue Cell, 42(3);158-64.

4.Boran, H., Capkin, E., Altinok, I., Terzi, E. (2012). Assessment of acute toxicity and histopathology of the fungicide captan in rainbow trout. Exp Toxicol Pathol, 64(3);175-9.

5.Cengiz, E.I., Unlu, E. (2003). Histopathology of gills in mosquitofish, *Gambusia affinis* after long-term exposure to sublethal concentrations of Malathion. J Environ Sci Health B, 38(5); 581-9.

6.Cengiz, E.I., Unlu, E. (2006). Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish *Gambusia affinis*, A microscopic study. Environ. Toxicol. Pharmacol, 21(3); 246-253.

7.Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J. (2008). Effect of inulin on gilthead Seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. Fish. Shellfish. Immunol, 24(5); 663-668.

8.David, J.A., Jenkiss, C.W.C., Vladimir, V. (1999). Inulin, oligofructose and intestinal function. Journal of Nutrition, 129; 1431-1433.

9.Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J. V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S. M., Carrola, J., Matos, P. (2007). Histopathological changes in liver and gill epithelium of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. Pesquisa Veterinária Brasileira, 27(3); 103-109.

10. Gatesoupe, F.J. (1999). Review: developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. Aquacul, 431(1); 1-11.

11. Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125; 1401-1412.
12. Gluth, G., Hanke, W. (1985). A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations: I. The dependency on exposure time. Ecotoxicol. Environ. Saf, 9(2);179-88.
13. Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Gatlin, D.M. (2009). The effects of dietary supplementation with mannan oligosaccharide, fructo oligosaccharide or galacto oligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 283(1-4);163-167.
14. Kihara, M., Sakata, T. (2001). Influence of incubation temperature and various saccharides on the production of organic acids and gases by gut microbes of Rain bow trout(*Oncorhynchus mykiss*) in a micro-scale batch culture. J Comp Physiol B, 171(6); 441-7.
15. Kihara, M., Sakata, T. (2001). Production of short-chain fatty acids and gas from various oligosaccharides by gut microbes of carp(*Cyprinus carpio L.*) in micro-scale batch culture. Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol, 132(2);333-40.
16. Kihara, M., Ohba, K. Sakata, T. (1995). Trophic effect of dietary *lactosucrose* on intestinal *tunica muscularis* and utilization of this sugar by gut microbes in red sea bream Pagrus major a marine carnivorous teleost under artificial rearing. Comp. Biochem. Physiol. A, 112(3-4); 629-632.
17. Klaassen, H.E., Kadoum, A.M. (1979). Distribution and retention of atrazine and carbofuran in farm pond ecosystems. Arch. Environm. Contam. Toxicol, 8(3); 345-353.
18. Ladipo, M.K., Doherty, V.F., Oyebadejo, S.A. (2001). Acute toxicity, behavioural changes and histopathological effect of paraquat dichloride on tissues of catfish *Clarias gariepinus*. Intern. Jour. Bio, 3(2); 67-74.
19. Liu, K., Chiu, C., Shiu, Y., Cheng, W., Liu, C. (2010). Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis E20*, on the survival, development, stress tolerance and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish. Shellfish. Immunol, 28(5-6); 837-44.
20. Martoja, R., Martoja–Pierson, M. (1967). Initiation aux techniques de l histology animale. 1td ed. Masson et Cie. France. Paris, p. 345.
21. Mellanby, K. (1967). Pesticide and pollution. the fontana new naturalist. 1td ed. Collins clear-type Press, London and Glasgow. UK, 132-134.
22. Mwinyihija, M. (2010). Ecotoxicological diagnosis in the tanning industry. 1td ed. Springer. Nairobi, Kenya, 140.
23. Neibor, E., Richardson, D.H. (1980). Replacement of non-descript term heavy metal by a biological and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollu. B, 1(1); 3-26.
24. Neskovic, N.K., Poleksic, V., Elezovic, I., Karan, V. and Budimir, M. (1996). Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio*. Bull. Environ. Contam. Toxicol, 56(2);295-302.
25. Noroozian, m. (2000). List of permitted pesticides Plant Protection Organization. 1td ed. SID Pres. Tehran. Iran, 233.
26. Rahman, M. Z., Hossain, Z., Mollah M. F. A., Ahmad, G. U. (2002). Effect of diazinon 60EC on *Anabas testudineus, Channa punctatus and Barbodes gonionotus* 'Naga'. IOSR, 25(2); 8-12.
27. Sadeghi, A., Hedayati, A. (2014). Investigation of acute toxicity diazinon, deltamethrin, butachlor pretilachlor on *Zebra cichlid.* Iranian Journal of Toxicology, 25(8); 1086-1092.
28. Satari, M., Shahsavani, D., Shafiee, Sh. (2005). Ichthyology and systematic. 2tded. Haghshenas Pres. Tehran, Iran, 502.
29. Soldatov, A. A. (2005). Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. Evolu. Bioch. Physiol, 41(3);272-281.
30. Vendemiatti, J.A., Costa, A.B., Cyrino, J.E.P. (2003). Mananoligossacarıide os alimentares(MOS) comoagentes profila´ticos das infeccxo˜es por edwardsiellatarda em Tila´pia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Journal of the World Aquaculture Society, 132-140.
31. Young, A.L. (1987). Minimizing the risk associated with pesticide use: an overview. 1tded. American Chemical Society. Washington, USA, 11.

The Performance Review Prebiotic Safety Isomalto-Oligosaccharide on Reducing the Incidence of Intestinal Tissue of Common Carp (*Cyprinus Carpio*) in the Face of Lethal Poison Concentration of Butachlor (Machty)

M. Forouhar Vajargah[1], **F. Darabitabar[1]**, S.A. Hedayati [2]

1. Master of Fisheries, Department of Fisheries and Environment, University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan. Iran. **Darabitabar@gmail.com**

2.Assistant Professor Department of Fisheries, Department of Fisheries and Environment, University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan. Iran**.**

Received:2016.18.10 **Accepted: 2017.28. 1**

Abstract

Inroduction & Objective: Pimozide is an antipsychotic with neuroleptic properties that has been found to be useful in the management of chronic schizophrenic patients , mania and hypomania. This drug blocks dopamine receptors. In this research the effect of pimozide were studied on pituitary gonad axis function, the concentration of testosterone , FSH and LH level and testis histological changes.

Materials and Methods: The present study was done on 50 male rats wistar strain that divided to 5 groups of 10 animal, including: Control, sham (received normal saline as a solvent) and three pimozide (1,2,4 mg/ kg) received the experimental groups. The drug were administered for 30 days orally and blood samples were taken from the rats and serum concentrations of testosterone, FSH and LH were measured by RIA method. Histological changes were studied among experimental, control and sham groups. The results were evaluated by using SPSS software and ANOVA tests.

Results: The results showed that 4 mg/ kg dose of pimozide reduced testosterone. The level of FSH and LH were increased (P < 0/05). Histological investigations of the testes showed a decline on spermatogenesis chain on 4mg/kg pimozide dose.

Conclusion: So in general we can say that high doses of pimozide decreases the concentration of testosterone level and the number of spermatogenic cells exception sertoli.

Keywords: Pimozide, Spermatogenesis, Testosterone, Gonadotropin, Rat.