

## مطالعه مقایسه‌ای تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای و کود شیمیایی بر بافت راسی کلیه و برخی پارامترهای خونی کپورماهیان پرورشی گرمابی

اعظم اسدسفنجانی<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۲\*</sup>، محمدعلی سالاری علی‌آبادی<sup>۲</sup> و زهرا بصیر<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم جانوری، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۴/۳

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۱

### چکیده

به منظور مطالعه مقایسه‌ای تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای و کود شیمیایی بر بافت راسی کلیه و برخی پارامترهای خونی کپورماهیان پرورشی گرمابی پس از انتقال ماهیان به شش استخر یک هکتاری به مدت دو ماه کود شیمیایی و کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای را دریافت کردند. در هر یک از گروه‌ها نمونه‌برداری حدود ۲۰ قطعه از ماهیان سالم و دارای خصوصیات زیست‌سنجی مشابه از هر استخر انجام پذیرفت. پس از انجام مراحل معمول آزمایشگاهی شمارش گلبول‌های قرمز، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید به روش استفاده از لام هموسیتر، درصد هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت و اندازه‌گیری هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین انجام شد. همچنین نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۵ میلی‌متر از نواحی راسی کلیه برداشت و پس از ثبوت در محلول بوئن، روش معمول تهیه مقاطع بافتی شامل آبیگری با سری افزایشی اتانل، شفاف‌سازی با گزلیل و آغشتگی با پارافین انجام گرفت. در نهایت نمونه‌ها در قالب‌های پارافینی بلوک‌گیری شدند. سپس برش‌هایی به ضخامت ۶µm - ۴µm با استفاده از میکروتوم نیمه دیجیتالی لایکا تهیه و تحت رنگ‌آمیزی عمومی هماتوکسیلین-ئوزین قرار گرفتند. در ادامه میکروگراف‌های تهیه شده به کمک میکروسکوپ نوری المپیوس مجهز به دوربین داینولیت و سیستم کامپیوتری مجهز به نرم‌افزار داینوکیچر به روش هیستومورفولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند. یافته‌ها نشان داد که در چهار گونه کپور ماهیان پرورشی تنها در کپور علفخوار شمارش گلبول‌های قرمز دارای اختلاف معنی‌دار نبوده است. همچنین در ماهیان کپور نقره‌ای و سرگنده اختلاف در میزان هموگلوبین معنی‌دار بوده و تنها در کپور علفخوار اختلاف بین درصد هماتوکریت معنی‌دار نبوده است. نتایج مطالعات میکروسکوپی ناحیه راسی کلیه نشان از افزایش بافت همبند بینابینی در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل بوده و در گروه کنترل بیش‌تر فضاها توسط سلول‌ها اشغال شده بود. با توجه به یافته‌های اخیر می‌توان نتیجه گرفت که می‌توان از کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان جایگزین مناسب کودهای شیمیایی در استخرهای پرورشی کپورماهیان پرورشی گرمابی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** کمپوست، کود شیمیایی، کلیه، پارامترهای خونی، کپورماهیان پرورشی گرمابی

### مقدمه

خانواده کپورماهیان یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های ماهیان استخوانی در جهان بوده و به طور وسیع در بیش‌تر رودخانه‌های آب شیرین، دریاچه‌ها و آب‌گیرها در اکثر نقاط جهان پراکنده می‌باشند. هرچند زندگی در یک محیط

\* نویسنده مسئول: رحیم عبدی، دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

E-mail: abdir351@gmail.com



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

است. رأس کلیه در ماهیان علاوه بر فعالیت‌های خون-سازی نقش مهمی در برداشت سلول‌های تخریب شده داشته و در واکنش‌های ایمنی نیز دخالت می‌کند (Haschek et al. 2010). کپور ماهیان مشابه سایر ماهیان استخوانی فاقد مغز استخوان و غدد لنفاوی می‌باشند. کمپوست دارای بستری یکنواخت که در آن مواد مغذی مورد نیاز برای قارچ با استفاده از مواد اولیه مشخص مورد استفاده قرار می‌گیرد به صورتی که در این عملیات، مواد آلی ناپایدار به یک محصول پایدار از طریق تنفس هوازی تبدیل می‌شود (Bagherpour et al. 2013). کمپوست قارچ دکمه‌ای ترکیبی از مواد مختلف مثل کلش گندم، کود مرغی، گچ و برخی عناصر می‌باشد که پس از طی فرآیند کمپوست‌سازی، به عنوان تأمین کننده‌ی مواد غذایی لازم برای رشد و نمو قارچ استفاده می‌شود و قارچ‌ها می‌توانند با تجزیه کمپوست از مواد مغذی موجود در آن استفاده نمایند (Adams and forstick 2008). بر این اساس تحقیق حاضر به منظور بررسی میکروسکوپی راس کلیه و برخی فاکتورهای خونی در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان یک ماده ارگانیک و کود شیمیایی قرار گرفته‌اند پرداخته است. زیرا در بسیاری از استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی در شمال و جنوب کشور دو ماده‌ی فوق به عنوان ترکیبات اولیه در حین پرورش جهت غنی‌سازی استخر و به عنوان ماده‌ی تغذیه‌ای به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد.

### مواد و روش کار

جهت بررسی عملکرد کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای (Table 1) در محیط استخرهای پرورش ماهیان گرمابی و مقایسه آن با کودشیمیایی تعداد شش استخر یک هکتاری به همراه تکرار، مزارع پرورشی بخش خصوصی شهید احمدیان خرمشهر به مدت دو ماه مورد بررسی قرار گرفتند. عملیات انجام گرفته در این استخرها شامل، تعیین استخرها، آماده‌سازی، ضدعفونی، آبگیری، ذخیره‌سازی و نمونه-برداری از ماهیان بوده است. برای انجام این تحقیق ماهیان

آبی می‌تواند باعث تغییرات زیادی در شکل ظاهری بدن گردد ولی کپور ماهیان از نظر شکل ظاهری عموماً دارای طرح بدنی دوکی شکل تا کمی فشرده و دارای فلس‌های برجسته، باله‌های شکمی و تحتانی با یک سر حاوی چشم-های بزرگ و یک دهان انتهایی کوچک می‌باشند (Horvath et al. 2002). ماهیان مورد استفاده در سیستم‌های پرورشی کشور کپور معمولی، کپور علف‌خوار، کپور نقره‌ای و کپور سرگنده بوده که غیر از کپور معمولی بقیه غیر بومی می‌باشند. خون‌شناسی یکی از شاخه‌های مهم علم تشخیص بیماری در آبزیان که از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد. خون به عنوان یک بافت سیال و به دلیل دسترسی آسان یکی از مهمترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (Velmurugan et al. 2007). چنانچه میزان طبیعی پارامترهای خون و دامنه‌ی تغییرات آن، در انواع ماهیان در شرایط سلامت در دسترس باشد بررسی این فاکتورها می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌ها ایفا بکند. به هر حال نقش مواد غذایی در تغییرات فاکتورهای خونی انکارناپذیر می‌باشد. مطالعات زیادی نیز در این زمینه در موجودات مختلف از جمله ماهی صورت پذیرفته است (Panayotis and Anastasios 2014). به طور کلی اتفاق نظر محققین بر این است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف باهم تفاوت داشته و ارتباط مستقیم و غیرمستقیم زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و سایر فاکتورها دارد. تغییرات پارامترهای خونی اغلب به تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی وابسته هستند. لذا آگاهی از وضعیت فیزیولوژیکی خون ماهیان و به خصوص شناخت اثر محیط‌های جدید پرورشی بر شاخص‌های خونی می‌تواند ما را در پیشبرد تکنیر و پرورش ماهیان یاری نماید (Ng et al. 2013). رأس کلیه در ماهیان اندام لنفوئیدی و هماتوپویتیک اصلی بوده و به عنوان مکان تولید سلول‌های اریتروئیدی، لنفوئیدی و میلوئیدی ثابت شده

شیمیایی بر بافت راسی کلیه و برخی پارامترهای خونی کپورماهیان پرورشی گرمابی در هر یک از گروه‌های شاهد و کنترل نمونه‌برداری حدود ۲۰ قطعه از ماهیان سالم و دارای خصوصیات زیست‌سنجی مشابه از هر استخر انجام گرفت. بدین منظور ماهیان پس از انتقال به صورت زنده به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، بلافاصله پس از بیهوشی با استفاده از پودر گل میخک (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ هپارینه به مقدار دو میلی‌لیتر (Murugesan et al. 2013) جهت تعیین و شمارش گلبول-های قرمز و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ترمبوسیت) به روش استفاده از لام هموسیتر، درصد هماتوکریت به روش میکروهیاتوکریت و اندازه‌گیری هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین انجام شد (Gabriel et al. 2009). همچنین نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۵ میلی‌متر از نواحی راسی کلیه برداشت و پس از ثبوت در محلول بوئن، روش معمول تهیه مقاطع بافتی شامل آبیگری با سری افزایشی اتانل، شفاف‌سازی با گزلیل و آغشتگی با پارافین انجام گرفت. در نهایت نمونه‌ها در قالب‌های پارافینی بلوک‌گیری سپس برش‌هایی به ضخامت  $4\mu\text{m} - 6\mu\text{m}$  با استفاده از میکروتوم نیمه دیجیتالی لایکا (آلمان) تهیه و تحت رنگ‌آمیزی عمومی هماتوکسیلین-انوزین قرار گرفتند. سپس میکروگراف‌های تهیه شده به کمک میکروسکوپ نوری المپیوس (ژاپن) مجهز به دوربین داینولیت و سیستم کامپیوتری مجهز به نرم‌افزار داینوکپچر بروش هیستومورفولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند (Srivastava et al. 2004). داده‌های فاکتورهای خونی اندازه‌گیری شده به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شد. برای تعیین نرمالیتی از تست Shapiro-wilk و جهت مقایسه شاخص‌ها در هر ماهی در تیمارهای مختلف از آنالیز واریانس یکطرفه (one-away ANOVA) و نرم‌افزار SPSS استفاده گردید و اختلاف در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $P < 0.05$ ) پذیرفته شد.

مورد نظر در گروه یک که به مدت یک ماه در یک استخر یک هکتاری با شرایط کاملاً یکسان نگهداری و با تغذیه رایج در صنعت شیلات به دو گروه شاهد و کنترل تقسیم شده به این ترتیب که گروه شاهد در سه استخر و به مدت دو ماه با کود شیمیایی و گروه کنترل در سه استخر دیگر به مدت دو ماه با کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان غذای کمکی تغذیه شدند. گونه و تراکم ماهیان در هر تکرار از تیمارهای مختلف و در کل تیمارها شامل کپور معمولی ۲۰ درصد، کپور علف‌خوار ۱۰ درصد، کپور نقره‌ای ۵۵ درصد و کپور سرگنده ۱۵ درصد متغییر بوده است (El-Seify et al. 2011). شایان ذکر است منبع تأمین کننده آب این استخرها همگی از یک منشاء و از رودخانه کارون و شرایط استخرها از نظر قدمت، جنس خاک و بستر یکسان و از نظر آماده‌سازی کاملاً مشابه بودند. کود شیمیایی از مراکز خدمات کشاورزی و کمپوست نیز از یکی از کارخانه‌های پرورش قارچ منطقه تأمین شد. میزان و نوبت کود دهی با توجه به شرایط لازم که شامل در نظرگیری دمای آب، شرایط جوی و کدورت آب تنظیم و اعمال می‌گردید. به منظور حل شدن بهتر کودها از وان‌های ۱۰۰۰ لیتری استفاده می‌شد. با توجه به این که کود اوره زود حل و سوپرفسفات دیر حل می‌باشد در طول تحقیق، یک روز قبل از کوددهی، نسبت به خیساندن و حل کردن این کود اقدام شده و کمپوست مصرفی نیز ۲۴ ساعت قبل از تزریق، در داخل وان‌ها ریخته و پس از هم زدن، به صورت شیرابه در روز بعد به داخل آب تزریق می‌شد (Anastasios and Panayotis, 2014). زمان کود دهی در ساعات اولیه صبح و در هر بار کود دهی، محلول کود شیمیایی و شیرابه در نقاط مختلف استخر در آب پخش می‌گردید. مقادیر کودهای تزریق شده در هر روز به آب استخرها تابع حاصل خیزی آب، دما، آفتابی بودن روز و میزان شدت نور، از ۵۰ تا ۱۵۰ کیلوگرم کمپوست و ۲ تا ۵ کیلوگرم کود شیمیایی در هر استخر نیم هکتاری در نوسان بوده است (Sadekarpawar and Parikh 2013). به منظور مطالعه مقایسه‌ای تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای و کود

**Table 1: Analysis of parameters and mineral compounds in button mushroom compost**

Humidity (%)	Total nitrogen (%)	Phosphorus (%)	potassium (%)	Calcium (%)	magnesium (%)	Iron PPM	Manganese PPM	Zinc PPM	Copper PPM	Ammonia PPM
71	1.88	0.87	1.63	2.5	0.5	772	35	227	31.7	0.05

## نتایج

### سنجش شمارش میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت

نتایج حاصل از شمارش تعداد گلبول‌های قرمز در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش مقدار گلبول‌های قرمز در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است. همچنین تنها در کپور علفخوار این اختلاف معنی‌دار نبوده است ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش میزان هموگلوبین در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش میزان هموگلوبین در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است. همچنین در ماهیان کپور نقره‌ای و سرگنده این اختلاف معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش میزان هماتوکریت در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش میزان هماتوکریت در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است. همچنین تنها در کپور علفخوار این اختلاف معنی‌دار نبوده است ( $P > 0.05$ ).

همچنین تنها در کپور سرگنده این اختلاف معنی‌دار نبوده است ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش مونوسیت در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش میزان مونوسیت در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است. همچنین در کپور نقره‌ای و کپور علف-خوار این اختلاف معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش نوتروفیل در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش میزان نوتروفیل در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل با اختلاف معنی‌داری بوده است ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش ترومبوسیت در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند بدون اختلاف معنی‌داری و با اختلاف جزئی با هم برابر گزارش گردید (Table 2).

### نتایج میکروسکوپی بافت رأسی کلیه در ماهیان گروه کنترل و شاهد

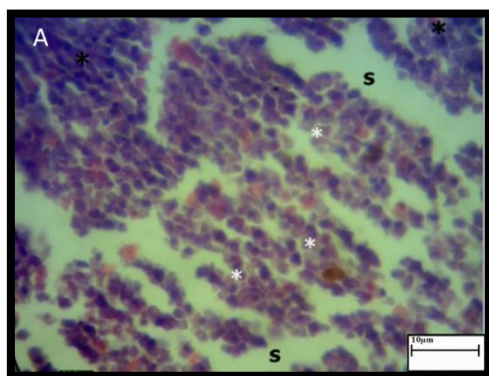
نتایج مطالعات میکروسکوپی ناحیه راسی کلیه در در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد نشان از افزایش بافت همبند بینابینی در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل بوده و در گروه کنترل نمای سلولی بیشتر فضاها را در بر گرفته بود (Fig 1-4).

### سنجش میزان لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ترومبوسیت

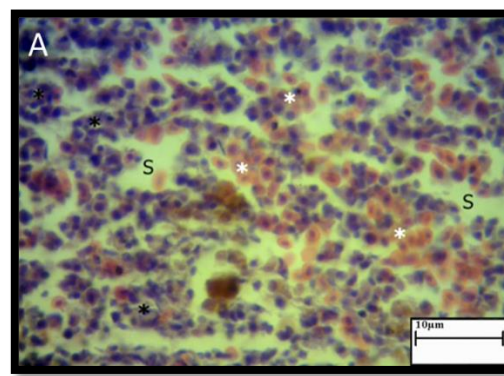
نتایج حاصل از سنجش میزان لنفوسیت در چهار خانواده از کپور ماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان گروه کنترل و کود شمیایی به عنوان گروه شاهد قرار گرفته‌اند نشان از افزایش میزان لنفوسیت در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است.

**Table 2: (Mean ± SEM) results of some blood parameters of warm water aquaculture in the tested groups (dissimilar letters show a significant difference ( $p < 0.05$ ))**

Thrombocytes	Neutrophils	Monocytes	Lymphocytes	HB	HCT	RBC	Group	Species
29.71±2.6 <sup>a</sup>	54.41±4.84 <sup>a</sup>	2.93±0.79 <sup>a</sup>	42.33±4.88 <sup>a</sup>	12.02±0.19 <sup>a</sup>	27.44±0.87 <sup>a</sup>	1.77±0.18 <sup>a</sup>	One	Silver carp
28.72±4.59 <sup>a</sup>	56.48±4.48 <sup>b</sup>	2.56±0.59 <sup>b</sup>	41.06±5.63 <sup>b</sup>	11.15±0.90 <sup>a</sup>	28.48±0.84 <sup>a</sup>	1.39±0.29 <sup>b</sup>	Test	
29.01±2.67 <sup>a</sup>	36.21±4.04 <sup>c</sup>	2.97±0.39 <sup>a</sup>	42.63±4.58 <sup>a</sup>	12.92±0.94 <sup>b</sup>	29.44±0.87 <sup>b</sup>	1.98±0.54 <sup>c</sup>	Control	
27.71±3.66 <sup>a</sup>	53.96±4.24 <sup>a</sup>	2.23±0.78 <sup>a</sup>	40.31±4.62 <sup>a</sup>	12.12±0.99 <sup>a</sup>	27.48±0.81 <sup>a</sup>	1.73±0.13 <sup>a</sup>	One	Big head
28.71±3.70 <sup>a</sup>	57.48±4.95 <sup>b</sup>	2.77±0.68 <sup>a</sup>	41.08±4.29 <sup>a</sup>	11.72±0.92 <sup>a</sup>	28.03±0.88 <sup>a</sup>	1.79±0.29 <sup>a</sup>	Test	
27.51±3.82 <sup>a</sup>	45.36±4.28 <sup>c</sup>	2.83±0.71 <sup>a</sup>	40.51±4.61 <sup>a</sup>	13.16±0.92 <sup>b</sup>	29.48±0.81 <sup>b</sup>	1.96±0.14 <sup>b</sup>	Control	
28.91±3.15 <sup>a</sup>	54.49±4.64 <sup>a</sup>	2.53±0.78 <sup>a</sup>	41.03±4.22 <sup>a</sup>	12.22±0.92 <sup>a</sup>	28.40±0.13 <sup>a</sup>	1.65±0.21 <sup>a</sup>	One	Grass carp
29.56±4.86 <sup>a</sup>	57.48±4.58 <sup>b</sup>	2.56±0.92 <sup>a</sup>	40.13±4.83 <sup>b</sup>	12.79±0.94 <sup>a</sup>	28.33±0.93 <sup>a</sup>	1.66±0.19 <sup>a</sup>	Test	
28.96±3.95 <sup>a</sup>	44.09±4.67 <sup>c</sup>	2.19±0.71 <sup>b</sup>	41.73±4.66 <sup>a</sup>	13.21±0.89 <sup>a</sup>	29.40±0.13 <sup>b</sup>	1.69±0.53 <sup>a</sup>	Control	
28.71±3.65 <sup>a</sup>	55.46±4.34 <sup>a</sup>	2.83±0.74 <sup>a</sup>	41.33±4.42 <sup>a</sup>	12.82±0.94 <sup>a</sup>	28.42±0.81 <sup>a</sup>	1.75±0.11 <sup>a</sup>	One	Common carp
28.42±4.18 <sup>a</sup>	58.05±1.73 <sup>b</sup>	2.90±0.28 <sup>a</sup>	40.03±4.33 <sup>b</sup>	12.72±0.96 <sup>a</sup>	29.21±0.82 <sup>a</sup>	1.69±0.21 <sup>a</sup>	Test	
28.86±4.44 <sup>a</sup>	43.06±1.15 <sup>c</sup>	2.28±0.84 <sup>a</sup>	41.03±4.52 <sup>a</sup>	12.84±0.91 <sup>a</sup>	28.48±0.86 <sup>a</sup>	1.95±0.17 <sup>b</sup>	Control	



**Figure 2: Microscopic view of head kidney histological structure of big head, (Black stars, white blood cells and lymphocytes), (White stars, red blood cells) (S, connective tissue view), (H&E, x2900).**

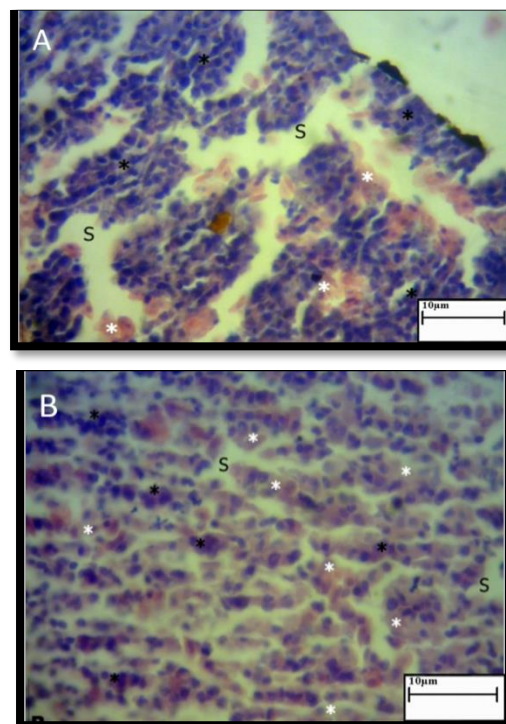


**Figure 1: Microscopic view of head kidney histological structure of silver carp, (Black stars, white blood cells and lymphocytes), (White stars, red blood cells) (S, connective tissue view), (H&E, x2900).**

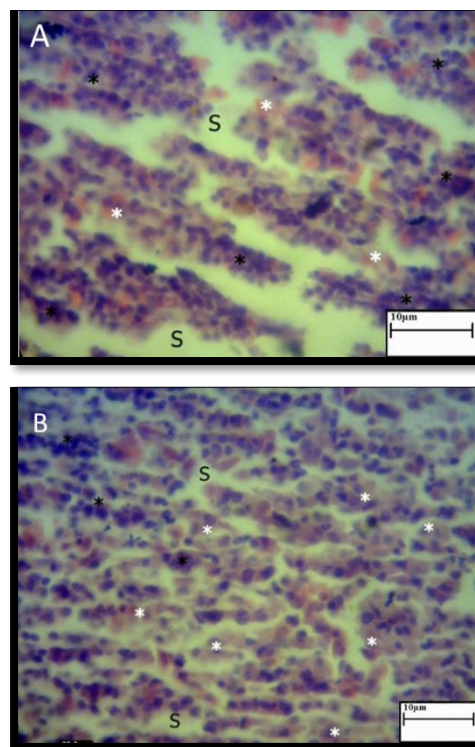
تصاویر A مربوط به ماهی دریافت کننده کود شیمیایی و تصاویر B مربوط به ماهی دریافت کننده کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای می‌باشد (حرف S نشان دهنده بافت بینابینی، ستاره سیاه نشان دهنده گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها و ستاره سفید نشان دهنده گلبول‌های قرمز می‌باشد).

### بحث

بر اساس مطالعه‌ی اخیر که بر روی بافت راسی کلیه و برخی فاکتورهای خونی در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی انجام پذیرفت که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای به عنوان یک ماده ارگانیک و کود شیمیایی قرار گرفته بودند تغییراتی در جهت بهبود و عدم بهبود در طی دوره‌ی تغذیه با عوامل فوق در بافت‌شناسی قسمت راسی کلیه و خون ماهیان اتفاق افتاد. محققین علم تغذیه آبزیان بر این باورند که تغییر در نسبت و ترکیب سلول‌های خونی مورد نظر در ماهی ممکن است نشان دهنده ایجاد تغییراتی در محیط زندگی موجود مثل تغییر در تغذیه، اکسیژن دریافتی، وجود یک بیماری و یا قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی باشد (Kavitha et al. 2010; Sirvastava and Choudhary, 2010). دانش اطلاع از میزان تغییرات فیزیولوژیکی و هماتولوژیکی خون ماهیان می‌تواند وسیله‌ای کاربردی جهت تشخیص، تعیین و پیش‌بینی سطح تهدید تغییرات زیستی جدید باشد (Davis et al. 2008). به طور کلی محققین بر این باورند که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت داشته و ارتباط مستقیم و غیر مستقیم با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و قرار گرفتن در معرض آلاینده‌ها دارند (Gabriel et al. 2009; Abdel-hameid, 1994). زیرا تغییرات پارامترهای خونی اغلب به تغییرات فیزیولوژیکی و محیطی وابسته هستند یعنی در مواقعی که ماهیان در معرض شرایط تغذیه‌ای جدید قرار می‌گیرند، برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خون آن‌ها



**Figure 3: Microscopic view of head kidney histological structure of grass carp, (Black stars, white blood cells and lymphocytes), (White stars, red blood cells) (S, connective tissue view), (H&E, x2900).**



**Figure 4: Microscopic view of head kidney histological structure of grass carp, (Black stars, white blood cells and lymphocytes), (White stars, red blood cells) (S, connective tissue view), (H&E, x2900).**

عنوان یک شاخص در محیط مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس تحقیقات انجام گرفته بر روی گونه‌های مختلف بهترین شاخص خونی برای استرس‌های زیست محیطی هموگلوبین خون ماهیان تشخیص داده شد (Banaee et al. 2008; al. 2011). در تحقیق حاضر افزایش قابل توجه و چشم‌گیری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیانی که در معرض کمپوست قرار گرفته نسبت به گروهی که در معرض کود شیمیایی قرار گرفته بودند دیده شده است. در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر اتیلن‌دی‌آمین تترا اسید استیک به عنوان افزودنی بر شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان جوان انجام گرفت نتایج حاکی از کاهش میزان هموگلوبین و هماتوکریت بوده است که نتایج مشابهی مانند تأثیر کود شیمیایی بر گروه شاهد داشته است (Davis et al. 2008). با توجه به کاهش میزان هماتوکریت در ماهیان دریافت‌کننده‌ی کود شیمیایی می‌تواند حاکی از افزایش آلودگی احتمالی در این دسته از ماهیان باشد زیرا در مطالعه تغییرات پارامترهای هماتولوژیکی در ماهیان *Salmo trutta caspius* که با کلرید جیوه تیمار شده بودند کاهش هماتوکریت خون گزارش گردید. این اثر به دلیل اختلال در سنتز هموگلوبین به علت اثرات آلاینده منجر به آئمی و در نتیجه کاهش فاکتورهای مرتبط به همراه خواهد داشت (Kavitha et al. 2008; Oner et al. 2010). از جمله فاکتورهای پرداخته شده در تحقیق حاضر اندازه‌گیری و شمارش گلبول‌های سفید در چهار خانواده از کپورماهیان گرمابی پرورشی بوده است. زیرا عملکرد اصلی این سلول‌ها مبارزه با عفونت، دفاع از بدن در برابر نفوذ عوامل خارجی، پاسخ‌های ایمنی و نقش مهمی در ارزیابی وضعیت جدید ماهی مانند دریافت یک جیره غذایی یا یک افزودنی تغذیه‌ای جدید دارد. نتایج مربوط به مطالعه‌ی اخیر حاکی از تخریب وضعیت فاکتورهای مرتبط به تعداد گلبول‌های سفید در ماهی کپور نقره‌ای در گروهی که با کود شیمیایی تغذیه شده بودند با نسبت کمتر از گروه‌های دیگر بود. همچنین در کپور سرگنده در تمامی گروه‌ها تفاوت نامحسوسی مشاهده

تغییر خواهد کرد. نتایج حاصل از شمارش تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت در چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی که تحت تأثیر کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای و کود شیمیایی قرار گرفته بودند نشان از بهبود و افزایش مقادیر فوق در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد بوده است. همچنین در کپورماهیان نقره‌ای و سرگنده این افزایش در میزان هموگلوبین معنی‌دار بوده در صورتی که تنها در کپور علفخوار این اختلاف در سنجش میزان هماتوکریت معنی‌دار گزارش گردید. بر اساس نظریه محققین علم تغذیه آبریان، سنجش پارامترهای خونی منعکس‌کننده فرایندهای فیزیولوژیک که در بدن ماهی اتفاق می‌افتد و ابزار مناسبی جهت ارزیابی وضعیت آن می‌باشد زیرا در مزارع پرورشی شرایط تغذیه‌ای و سلامت جانوران به طور معمول از طریق انجام آزمایش‌های خون و با توجه به شاخص‌هایی مانند شمارش سلولی در سطحی بالا و دقیق مورد بررسی قرار می‌گیرد (Mekawy et al. 2010; Hedayati et al. 2011). نتایج آزمایش Shah و Altindag در سال ۲۰۰۴ با جایگزینی قسمتی تا تمام منبع غذایی با ورمی کمپوست، بهبود وضعیت فاکتورهای خونی مثل افزایش شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و بهبود میزان هموگلوبین و هماتوکریت نسبت به گروه شاهد در تیلاپیای نیل را گزارش کردند. همچنین پژوهش دیگری که به مقایسه اثر روغن ماهی و سویا در جیره قزل‌آلای رنگین کمان انجام پذیرفت نشان از افزایش شاخص‌ها و راندمان خونی آن تحت تأثیر این جیره نسبت به گروه شاهد گزارش گردید (Mekawy et al. 2011). همان طوری که از نتایج مطالعه اخیر می‌توان دریافت شمارش میزان RBC در گروه تغذیه شده با کمپوست نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی کود شیمیایی بهبود یافته بود. پاسخ تغذیه‌ای مناسب اغلب در عملکرد کارآمد سلول‌های خونی نمایان می‌شود زیرا سلول‌های خونی جزء ضروری ایمنی ذاتی و اختصاصی در ماهی محسوب شده و در بسیاری از مطالعات تغذیه‌ای که اثرات افزودنی جیره مد نظر بوده است تعداد کل گلبول‌های قرمز خون، میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت به

افزوده شده بود. با بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی راس کلیه (*Channa punctatus*) تیمار شده با سوخت‌های فسیلی توسط Kakkar و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان گردید که علاوه بر افزایش تراکم مراکز ملانوماکروفاژی بر مقدار بافت همبند بینابینی نیز افزوده شده که دلالت بر اختلالات متابولیسمی و فقدان تغذیه‌ای کافی در پاسخ به آلاینده‌ها دارد. Altinok و Capkin (۲۰۰۸) در مطالعه‌ی هیستوپاتولوژی قسمت راسی کلیه قزال‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با آندوسولفان گزارش نمودند که افزایش غلظت‌های تحت کشنده باعث افزایش تعداد مراکز ملانوماکروفاژی همراه با کاهش مراکز خون‌سازی و افزایش حجم بافت همبند بینابینی در قسمت راسی کلیه شده که به دلیل تحریک سیستم ایمنی و افزایش ماکروفاژها جهت هضم و حذف سموم می‌باشد (Soma 2014). در بسیاری از گزارشات در رابطه با هیستومورفولوژی قسمت راسی کلیه افزایش بافت همبند بینابینی نسبت به ساختار سلولی در ماهیان حاکی از تغییر در فیزیولوژی و سیستم ایمنی خون بیان شده است که خود می‌تواند به دلیل تغییر در محیط جانور مثل تغذیه، شوری، دما، آلاینده‌ها و یا یک بیماری باشد (Davis et al. 2008). با توجه به نتایج تحقیق حاضر و نتایج مطالعات صورت گرفته می‌توان گفت کود شیمیایی نسبت به تغذیه دریافتی دیگر توسط ماهیان نوعی آلاینده محسوب شده که این موید ارجحیت کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای نسبت به کود شیمیایی می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که می‌توان کمپوست مصرفی قارچ دکمه‌ای را به جای کودهای شیمیایی رایج در صنعت شیلات در جیره کپورماهیان گرمابی پرورشی جایگزین کرد.

گردید اما در کپور معمولی و کپور علف‌خوار تعداد این سلول‌ها در گروه دریافت کننده‌ی کود شیمیایی نسبت به دو گروه دیگر کاهش چشم‌گیری را نشان داد که این موید ایجاد آلودگی نسبی توسط کود شیمیایی بوده است. این کاهش ممکن است ناشی از بروز اختلال در روند خون-سازی و به دنبال آن کاهش یا تضعیف سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی باشد (Nelson and Cox 2002; Van 2003). زیرا کاهش اجزای گلبول‌های سفید در مطالعه‌ی اثر سم دیازینون بر روی شاخص‌های خونی ماهی خاویاری ازون برون (*Acipenser stellatus*) نیز گزارش گردید. نوتروفیل‌ها لکوسیت‌های فاگوسیتوز کننده اولیه هستند که در پاسخ به استرس محیطی، التهاب و عفونت تکثیر پیدا می‌کنند. تغییر در تعداد نوتروفیل‌ها در خون نشان‌دهنده‌ی آسیب بافتی در ماهی می‌باشد (Thrall 2004; Davis et al. 2008; Murugesan et al. 2013). در تایید نتیجه‌ی اخیر در تحقیقات انجام گرفته بر روی آبزی که در معرض آلاینده‌های شیمیایی متعدد قرار گرفته بود کاهش لنفوسیت‌ها، افزایش معنی‌دار نوتروفیل‌ها و کاهش نامحسوس در میزان مونوسیت خون گزارش گردید (Osman et al. 2009; Saha and Kaviraj 2009). در مطالعه‌ی اخیر نتایج مشترکی در هر چهار خانواده از کپورماهیان پرورشی گرمابی در میکروگراف‌های میکروسکوپ نوری بافت راسی کلیه در تیمار تغذیه شده با کمپوست مشاهده شد. به طوری که در این گروه میزان بافت همبند در مقایسه با گروه‌های تغذیه‌ای دیگر کاهش یافته و بیشتر نمای سلولی از رده‌های مختلف اجدادی خون به نظر می‌رسید. اما در گروه دریافت کننده‌ی کود شیمیایی بافت همبند بینابینی نسبت به سلول‌های خونی بر مقدار آن



## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند تا نهایت تشکر خود را از کارکنان زحمت‌کش و خدمت‌گزار شرکت پرورش ماهیان گرمابی شهید احمدیان خرمشهر به خاطر صبر، حوصله و زحمات بی‌دریغ‌شان در طی مدت زمان اجرای این پروژه اعلان دارند. از آن جایی که مجری تحقیق بر آن بود تا در مزرعه پرورشی و در محیط فیلدی به انجام تحقیق مورد نظر بپردازد صمیمانه از مزرعه‌دار محترم به خاطر همکاری صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید.

## تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع بین نویسندگان گزارش نگردید.

## منابع مالی

منابع مالی این تحقیق توسط دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر تأمین گردید.

## منابع

- Abdel-hameid, N. (1994). Effect of some pollutants on biological aspects of *Oreochromis niloticus*. M.Sc. Thesis, Faculty of Science. Zagazig University, Benha Branch, 9(1): 182- 198.
- Adams, j. and forstick, E. (2008). Investigating microbial activities in compost using mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation as an experimental system. *Bioresource Technology*, 99: 1097-1102.
- Altinok, L. and Capkin, E. (2008). Histopathology of Rainbow Trout b to Sulethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. *Review Aquatic Science*, 4:210-223.
- Bagherpour, A; Soltani, M. and Seyed Mortezaie, R. (2013). Effect of organic and chemical fertilizer on fresh water fish produces with emphasis on silver carp (*Hypophthalmichthys moltrix*) in shoushtar area. *Advances in Bioresearch*, 4 (4): 151-154.
- 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: 1-6.
- Banaee, M; Mirvaghefi, A; Rafei, G. and Majazi Amiri, B. (2008). Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*, 2: 189-198.
- Davis, A.K; Maney, D.L. and Maerz, J.C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22: 760-772.
- Di Giulio, R. and Hinton, D. (2008). *The toxicology of fishes*. Boca Raton, Taylor and Francis Group 8: 1101-1115.
- El-Seify, M; Zaki, M; Desouky, A; Abbas, H. and Abdel Hady, O. (2011). Study on clinopathological and Biochemical Changes in Some Freshwater Fish Infected With External Parasites and Subjected to Heavy Metals Pollution in Egypt. *Life Science Journal*, 8: 401-405.
- Feist, G; Van Enennaam, S; Doroshov, C. and Schreck, R. (2004). Early identification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. *Aquaculture*, 232: 581-590.
- Gabriel, U.U; Obomanu, F.G. and Edori, O.S. (2009). Haematology, plasma enzymes and organ indices of *Clarias gariepinus* after intramuscular injection with aqueous leaves extracts of *Lepidagathis alopecuroides*. *African Journal of Biochemistry Research*, 3(9): 312-316.
- Haschek, W.M; Rousseaux, C.G. and Walling, M.A. (2010). *Kidney and lower urinary tract. Fundamentals of Toxicologic Pathology*. Academic Press, Boston, 261-318.
- Hedayati, A; Safahieh, A; Savari, A. and Ghofleh Marammazi, J. (2010). Assessment of aminotransferase enzymes in Yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) under experimental condition as biomarkers of mercury pollution. *World Journal of Fish Marine Science*, 2(3):186-192.

- Horvath, L; Tamas, G. and seagrave, C. (2002). Carp and pond fish culture. FAO publication.
- Kavitha, C; Malarvizhi, A; Kumaran, S.S. and Rmesh, M. (2010). Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*, Food and Chemical Toxicology, 48: 2848-2854.
- Mekkawy, I. A; Mahmoud, U. M; Wassif, E. T. and Naguib, M. (2011). Effects of cadmium on some haematological and biochemical characteristics of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) dietary supplemented with tomato paste and vitamin E. Fish physiology and biochemistry, 37(1): 71-84.
- Murugesan, A. G; Ramathilaga, A. and Haniffa, M. A. (2013). Haematotoxicity of Integrated Textile Mill Effluent to an Air-Breathing Fish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 90(5): 596-600.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2002). Lehninger, Principles of Biochemistry. Worth Publishing, New York 3: 34-45.
- Ng, W; The S. and Bureau, D. (2013). On-farm feeding and feed management in tilapia aquaculture in Malaysia. Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 583(5): 407- 413.
- Oner, M; Atli, G. and Calin, M. (2008). Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposure. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(2): 360-366.
- Osman, H.A; Ismaiel-Mona, M; Abbas-Wafaa, T. and Ibrahim-Taghreed, B. (2009). An Approach to the Interaction Between Trichodiniasis and Pollution with Benzo -a- Pyrene in Catfish (*Clarias gariepinus*). World Journal of Fish and Marine Sciences 1: 283-289.
- Panayotis, D. and Anastasios, Z. (2014). Fish Processing By-Products as a Potential Source of Gelatin: A Review. Journal of Aquatic Food Product Technology, 25(1): 65-92.
- Sadekarpawar, S. and Parikh, P. (2013). Gonadosmatic and hepatosmomatic indices of freshwater fish *Oreochromis mossambicus* Response to a plant nutrient. World Journal of Zoology, 8(1): 110-118.
- Saha, S. and Kaviraj, A. (2009). Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. Chemosphere, 74: 1254-1259.
- Soma, M. and Susanta, N. (2014). Toxic Impacts of Urea on the Hematological Parameters of Air Breathing Fish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental. Science, 14 (4): 336-342.
- Srivastava, A.S; Oohara, I; Suzuki, T; Shenouda, S; Singh, S.N; Chauhan, D.P. and Carrier, E. (2004). Purification and properties of cytosolic alanine aminotransferase from the liver of two freshwater fish, *Clarias batrachus* and *Labeo rohita*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 137: 197-207.
- Thrall, M. A. (2004). Hematology of amphibians. Veterinary hematology and clinical chemistry: text and clinical case presentations. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.112p.
- Van, R; Beyer, J. and Vermeulen, N. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology Pharmacology, 13(2): 57-149.
- Velmurugan, B ; Selvanayagam, M; Cengize, E.I. and Unlu E. (2007). The effects of monocrotopho to different tissue of fresh water fish. Bulltine Environmental Contamination Toxicology, 78 : 450-454.

Received: 24.06.2019A

Accepted: 10.02.2020

## Comparative study of impact of button mushroom compost and chemical fertilizer on head kidney and some blood biochemical parameters in warm water aquaculture

Azam Asad Seftjani<sup>1</sup>, Rahim Abdi<sup>2\*</sup>, Mohammad Ali Salari Aliabadi<sup>2</sup> and Zahra Basir<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSC Graduated of Animal Science, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

<sup>3</sup> Assistant professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 24.06.2019

Accepted: 10.02.2020

### Abstract

In this study the effect of button mushroom compost and chemical fertilizer on head kidney and some blood biochemical parameters in warm water aquaculture were examined. Fishes after transferring to six hemispherical pools for two months, received button mushroom compost and chemical fertilizer. In each group, 20 healthy fish with similar biometric characteristics were taken. After performing routine laboratory procedures, counting of red blood cells, differential white blood cell count with using the hemocytometer, hematocrit percentage using microhematocrit method and hemoglobin measurements were performed using standard hemoglobin cyanometric method. Specimens with a maximum thickness of 5 mm were also taken from the apical regions of the kidney. Following fixation in bouin's solution, the usual method of preparing sections of the tissue including dehydration with ethanol increase series, clearing with xylene and impregnation to paraffin was performed. Finally, samples were blocked in paraffin molds and then sections with thickness of 4µm - 6µm were cut using Leica semi-digital microtome and stained with hematoxylin-eosin. Then micrographs were studied as histomorphology method using Olympus's optical microscope equipped with Dinolite camera and a computer equipped with dinocapture software. Results showed that in four species of carp, only in *Ctenopharyngodon idella*, there was no significant difference between red blood cell count ( $p>0.05$ ). There was also a significant difference in hemoglobin levels in *Hypophthalmichthys molitrix* and *Hypophthalmichthys nobilis* and only in *Ctenopharyngodon idella* the difference between hematocrit percentage was not significant ( $p>0.05$ ). The results of microscopic studies of the head kidney showed an increase in interstitial connective tissue in control group compared to the treatment group, and in the control group, most of the space was occupied by cells. According to the recent findings, it can be concluded that button mushroom compost can be used as a suitable substitute for chemical fertilizers in warm water aquaculture.

**Keywords:** Compost, Chemical fertilizer, Kidney, Blood parameters, fresh water aquaculture

---

\* **Corresponding Author:** Rahim Abdi, Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran  
E-mail: abdir351@gmail.com



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).