

## ارزیابی تاثیر سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی و استرس تاس‌ماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus*

محمد تقی سلاخ قاسمی<sup>۱</sup>، حسین خارا<sup>۲\*</sup>، جلیل جلیل‌پور<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: دی ۹۴

تاریخ پذیرش: اسفند ۹۴

### چکیده

ضد عفونی کننده‌های سطحی برای کنترل عفونت‌های موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان و ریشه‌کن کردن یا کاهش عوامل بیماری‌زا در کارگاه‌های پرورش ماهی به کار می‌روند. هدف این پژوهش تعیین اثر دوره‌های مختلف حمام درمانی سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم بر شاخص‌های خونی و استرس تاس‌ماهی استرلیاد (میانگین وزن  $41/83 \pm 2/85$  گرم) است. این آزمایش در ۶ تیمار شامل سولفات مس با غلظت‌های ۲ (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۵ (حمام‌دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه) و ۱۰ mg/L (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و پرمنگنات پتاسیم با دوزهای ۱ (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت)، ۲ (حمام‌دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه) و ۳ mg/L (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه) و یک گروه شاهد (بدون ماده ضد عفونی) انجام شد. پس از عملیات ضد عفونی از هر تیمار ۴ تا ۵ عدد ماهی به صورت تصادفی برای خون‌گیری انتخاب شدند. نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل در تیمار ۲ mg/L سولفات مس (حمام‌دهی بلندمدت) و ۱ و ۲ mg/L پرمنگنات پتاسیم (حمام‌دهی بلندمدت و حمام‌دهی کوتاه‌مدت) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد و سایر تیمارها داشتند ( $P < 0/05$ ). همچنین میزان هورمون کورتیزول و گلوکز به عنوان شاخص‌های استرس در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ). اما این افزایش در تیمار پرمنگنات پتاسیم ۱ mg/L (حمام‌دهی بلندمدت) به صورت مشخص‌تری مشهود بود. از لحاظ درصد لنفوسیت، مونوسیت و آنوزینوفیل، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبول قرمز، مقدار متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز، بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). با توجه به نتایج بدست آمده در ماهی استرلیاد روش ضد عفونی کوتاه مدت (۱۰ دقیقه) برای هر دو ماده توصیه می‌شود.

### واژگان کلیدی: عوامل بیماری‌زا، ضد عفونی، حمام، درمان، تاس‌ماهی.

- ۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
- ۲- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
- ۳- کارشناس ارشد بخش بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

\* نویسنده مسئول: [h.khara1974@yahoo.com](mailto:h.khara1974@yahoo.com)

## مقدمه

ماده ضدعفونی کننده مناسب، مطالعه آزمایشگاهی است که به ویژه برای تعیین مقدار مورد نیاز برای ضدعفونی کردن ماهی ضروری است (چالکش امیری، ۱۳۷۶).

سولفات مس در آبزیان به طور گسترده برای جلوگیری از پوسیدگی باله‌ها و آسیب‌های پوست ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Davis, 1953; Gratzek et al., 1992). همچنین برای جلوگیری از انگل‌های خارجی ماهی، در آکواریوم‌های دریایی استفاده می‌شود (Gratzek and Blasiola, 1992; Cardeilhac and Whitaker, 1998). اگرچه مس و مشتقات آن (سولفات مس) دارای اثرات ضد میکروبی بوده اما دارای اثرات جانبی بر روی آزاد ماهیان نیز هستند و غلظت‌های تحت کشنده این ماده، ماهیان را نسبت به عفونت‌ها حساس‌تر می‌کند (Carballo et al., 1995).

پرمنگنات پتاسیم یک ماده شیمیایی غیرآلی است که به طور گسترده در سطح جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و اطلاعات زیادی در مورد فرآورده‌های شیمیایی و موارد استفاده آن در دسترس است (Duncan, 1978). این ماده از سال ۱۹۱۸ به عنوان یک دارو و وسیله پیشگیری برای بیماری‌های ماهی

با توجه به گسترش فعالیت‌های تکثیر و پرورش ماهی استرلیاد به عنوان یک گونه وارداتی جدید در کشور، همچنین پرداختن به موضوع افزایش تولید در واحد سطح، توجه به مسائل بهداشتی و بیماری‌های ماهی ضروری است. چرا که عدم توجه کافی در این زمینه می‌تواند خسارات جبران ناپذیری را به همراه داشته باشد (شریف روحانی، ۱۳۷۴).

یکی از راه‌های کنترل بیماری‌ها استفاده از مواد ضدعفونی کننده است. ضدعفونی کننده های خارجی را برای کنترل عفونت های ناشی از موجودات زنده سطح خارجی بدن ماهیان و ریشه‌کن کردن یا کاهش عوامل بیماری‌زا در کارگاه های پرورش ماهی به کار می‌برند (آذری تاکامی، ۱۳۶۳).

علت استفاده از مواد ضدعفونی کننده، از بین بردن و یا غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله باکتری‌ها، جلبک‌ها، ویروس‌ها و غیره است. عملکرد یک ماده ضدعفونی کننده تابع پیچیده‌ای از چندین متغیر همچون نوع و مقدار ماده مورد نظر است. همچنین تابع نوع و غلظت میکروارگانیسم‌ها، زمان تماس، کیفیت آب و غیره است. بنابراین در بسیاری از موارد بهترین راه برای انتخاب

۰/۰۳، ۰/۱۶ و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند. همچنین بر اساس گزارش Alam و همکاران (۲۰۱۱) در گونه روهو ( *Labeo rohita* ) از خانواده کپور ماهیان،  $LC_{50}$  برای پرمنگنات پتاسیم ۷ میلی‌گرم در لیتر در ۱۸ ساعت و برای سولفات مس ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر در ۲۱/۴ ساعت تعیین شد. Adil و همکاران (۲۰۱۳) در گربه ماهی آفریقایی (به عنوان گونه مقاوم)  $LC_{50}$  ۹۶ برای سولفات مس را ۴۰/۸۶mg/L و Kori-siakpere (۲۰۰۸) در همین گونه  $LC_{50}$  ۹۶ برای پرمنگنات پتاسیم را ۳/۰۲mg/L گزارش کردند. با توجه به رشد سریع آبی‌پروری تاس‌ماهیان در طی دهه اخیر در کشور، ورود گونه‌های جدید و احتمال بروز بیماری‌های جدید رعایت اصول پیشگیری و درمان بیش از پیش از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین به دلیل عدم وجود اطلاعات در زمینه تأثیر این دو ضدعفونی کننده بر تاس‌ماهی استرلیاد *Acipenser ruthenus* (گونه وارداتی)، این پژوهش با هدف بررسی مقایسه اثر حمام‌درمانی با غلظت‌های متفاوت سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم بر شاخص‌های خونی و اتخاذ مناسب‌ترین روش‌های درمانی انجام شد.

مورد استفاده قرار گرفت و اولین بار توسط Davis در سال ۱۹۵۳ برای مقابله با میکسوباکتریوزیس به کار گرفته شد.

پرمنگنات پتاسیم برای درمان عوامل بیماری‌زای خارجی شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و تعدادی از انگل‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lay, 1971; Masser and Jensen, 1991; Stoskopf, 1993; Noga, 1996; Plump, 1999; Carpenter et al., 2001; Straus and Griffin, 2002; Thomas-Jina and Goodwin, 2004; Bishop, 2005).

استفاده از ترکیبات رنگی مانند پرمنگنات پتاسیم یا سولفات مس نیز برای شستشو مفید است، زیرا می‌توان مناطقی را که غلظت ماده ضدعفونی کننده زیاد است، دید و مدت زمانی را که باید ماهیان تحت درمان قرار بگیرند کنترل کرد (ستاری، ۱۳۷۸). سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم جزء داروها و مواد شیمیایی هستند که باید همیشه در انبار دارویی آزمایشگاه به مقدار مورد نیاز موجود باشند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸).

مشتاقی و همکاران (۱۳۸۸) با مطالعه بر روی بچه تاس‌ماهی ایرانی ( *Acipenser persicus* ) میزان  $LC_{10}$ ،  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  را برای پرمنگنات پتاسیم به ترتیب ۰/۰۹، ۰/۴۱ و ۱/۹ میلی‌گرم در لیتر و برای سولفات مس

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۳ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان رشت در حاشیه رودخانه سفیدرود و در جوار سد سنگر اجراء شد. برای انجام این پژوهش ۱۰۵ قطعه بچه تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) با میانگین وزن  $41/83 \pm 2/85$  گرم مورد آزمایش قرار گرفتند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ گروه تیمار با مواد ضدعفونی کننده و یک تیمار شاهد (هریک با سه تکرار) انجام شد و ماهیان در ۲۱ تراف با حجم ۴۰ لیتر آب تقسیم شدند.

در طول دوره دو روزه آزمایش برای ضدعفونی کردن ماهیان استرلیاد، فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن و pH توسط دستگاه اکسی‌متر (HACH، مدل HQ40d، آمریکا) اندازه‌گیری شدند.

دوزهای درمانی در نظر گرفته شده در این مطالعه بر اساس مطالعات مشتاقی و همکاران (۱۳۸۸)، Alam و همکاران (۲۰۱۱)، Adil و همکاران (۲۰۱۳) و Kori-siakpere (۲۰۰۸) که بر روی غلظت کشندگی سولفات منگنز و پرمنگنات پتاسیم انجام شدند به عنوان معیار

محاسبات لگاریتمی غلظت‌های درمانی مورد استفاده در این بررسی، به شرح زیر تعیین شد. تیمارها شامل سولفات مس با دوزهای ۱۰ mg/L (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه، تیمار ۱)، ۵ mg/L (حمام‌دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه، تیمار ۲) و ۲ mg/L (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت، تیمار ۳) و پرمنگنات پتاسیم با دوزهای ۳ mg/L (حمام‌دهی غوطه‌وری، ۴۵-۳۰ ثانیه، تیمار ۴)، ۲ mg/L (حمام‌دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه، تیمار ۵) و ۱ mg/L (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت، تیمار ۶) و یک گروه شاهد (بدون ماده ضدعفونی) بودند (هر تیمار با سه تکرار). بلافاصله پس از ضدعفونی کردن از هر تیمار ۴ تا ۵ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب شد. خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی به وسیله سرنگ ۲ سی‌سی انجام شد. سرنگ‌ها قبل از شروع خون‌گیری برای جلوگیری از انعقاد خون هپارینه شدند. در هنگام فرآیند خون‌گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص‌های خونی استفاده نشد (Torrecillas et al., 2010). نمونه‌های خون برای انجام آزمایش‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی تا رسیدن به آزمایشگاه در محل خنک (کلمن حاوی یخ) نگهداری شدند.

رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شدند ( Klontz, 1994).

رابطه ۱:

$$MCV(\text{fL}) = \frac{\text{Hct}(\%) \hat{10}}{\text{RBC}(\text{million}/\text{mm}^3)}$$

رابطه ۲:

$$MCH(\text{pg}) = \frac{\text{Hb}(\text{g}/\text{dL}) \hat{10}}{\text{RBC}(\text{million}/\text{mm}^3)}$$

رابطه ۳:

$$MCHC(\text{g}/\text{dL}) = \frac{\text{Hb}(\text{g}/\text{dL}) \hat{100}}{\text{Hct}(\%)}$$

#### آنالیز آماری داده‌ها

به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در تیمارها و تکرارها از آزمون Kolmogorov-Smirnov و رسم نمودار هیستوگرام استفاده شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از پس‌آزمون دانکن استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات توسط نرم افزار SPSS و ویرایش ۲۰ و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel و ویرایش ۲۰۰۷ استفاده شد.

در آزمایشگاه برای تهیه سرم، لوله‌های همولیز در داخل سانتریفوژ قرار داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس با استفاده از سمپلر سرم‌ها از داخل لوله همولیز برداشت شده به داخل میکروتیوب‌هایی با حجم ۲mL منتقل شد.

در مطالعه حاضر، میزان هورمون کورتیزول و گلوکز به عنوان دو فاکتور مهم در استرس مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری هورمون کورتیزول (ng/mL) با روش ELISA، بر اساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در نمونه سرم با هورمون متصل به آنزیم برای اتصال به آنتی‌بادی ضدهورمون در فاز جامد انجام شد (Foster and Dunn, 1974). میزان گلوکز (mg/dL) با کیت پارس آزمون و اسپکتوفتومتر (UV-2100، ساخت آمریکا) سنجیده شد (Sacks, 1999).

فاکتورهای خونی که در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بودند. شاخص‌های MCV، MCH و MCHC به ترتیب از

## نتایج

تیمارها بود. درصد نوتروفیل به ترتیب در تیمارهای سولفات مس  $2\text{mg/L}$  و پرمنگنات پتاسیم ۳، ۲ و  $1\text{mg/L}$  افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر اساس نتایج بین میانگین درصد لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل خون بچه ماهیان در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). درصد لنفوسیت در تیمار پرمنگنات پتاسیم  $2\text{mg/L}$  کم‌ترین و در تیمار شاهد بیش‌ترین بود. تیمار پرمنگنات پتاسیم  $2\text{mg/L}$  بیش‌ترین درصد مونوسیت را نشان داد (جدول ۱).

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب که در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند عبارت بودند از: دمای آب  $14.80 \pm 0.73$  درجه سانتی‌گراد، اکسیژن  $4.80 \pm 0.26$  میلی‌گرم در لیتر و pH  $7.65 \pm 0.12$ . تعداد گلبول‌های سفید به ترتیب در تیمارهای سولفات مس  $5$  و  $2\text{mg/L}$  و پرمنگنات پتاسیم  $2$  و  $1\text{mg/L}$  افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. اما این افزایش در تیمارهای سولفات مس  $2\text{mg/L}$  و پرمنگنات پتاسیم  $2\text{mg/L}$  بیش از سایر

جدول ۱: شاخص‌های گلبول سفید در خون ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد). حروف غیرهم‌نام در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است.

تیمار	گلبول سفید ( $\text{mm}^3$ )	نوتروفیل (%)	لنفوسیت (%)	مونوسیت (%)	ائوزینوفیل (%)
شاهد	$8166/67 \pm 202/76^a$	$28/67 \pm 0/67^a$	$68/67 \pm 0/88^a$	$2/33 \pm 0/33^a$	$0/33 \pm 0/33^a$
تیمار ۱	$9066/67 \pm 366/674^a$	$29/33 \pm 0/67^a$	$67/00 \pm 0/58^a$	$2/67 \pm 0/33^a$	$1/00 \pm 0/58^a$
تیمار ۲	$10900/00 \pm 321/45^{ab}$	$30/33 \pm 0/89^a$	$65/33 \pm 1/45^a$	$3/00 \pm 0/57^a$	$1/33 \pm 0/33^a$
تیمار ۳	$14200/00 \pm 1650/25^c$	$33/67 \pm 0/88^c$	$61/33 \pm 0/67^a$	$3/67 \pm 0/33^a$	$1/33 \pm 0/33^a$
تیمار ۴	$10300/00 \pm 208/17^a$	$32/67 \pm 1/45^{bc}$	$63/33 \pm 1/45^a$	$3/33 \pm 0/33^a$	$0/67 \pm 0/33^a$
تیمار ۵	$13933/33 \pm 1689/51^c$	$35/33 \pm 1/33^c$	$59/67 \pm 0/33^a$	$4/00 \pm 0/58^a$	$1/00 \pm 0/58^a$
تیمار ۶	$13300/00 \pm 264/58^{bc}$	$33/67 \pm 0/67^c$	$62/67 \pm 0/88^a$	$2/33 \pm 0/33^a$	$1/33 \pm 0/33^a$

همچنین در بررسی فاکتورهای خونی بچه ماهیان در تیمارهای درمانی به لحاظ تعداد گلبول‌های قرمز، MCV، MCH و MCHC اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).  
 کم‌ترین و در تیمار ۱ بیش‌ترین مقدار بود. شاخص MCV در تیمار شاهد کم‌ترین و در تیمار ۲ بیش‌ترین میزان را داشت. شاخص MCH در تیمار ۴ دارای کم‌ترین و در تیمار ۳ بیش‌ترین مقدار بود. شاخص MCHC نیز در تیمار ۲ کم‌ترین غلظت را داشت (جدول ۲).

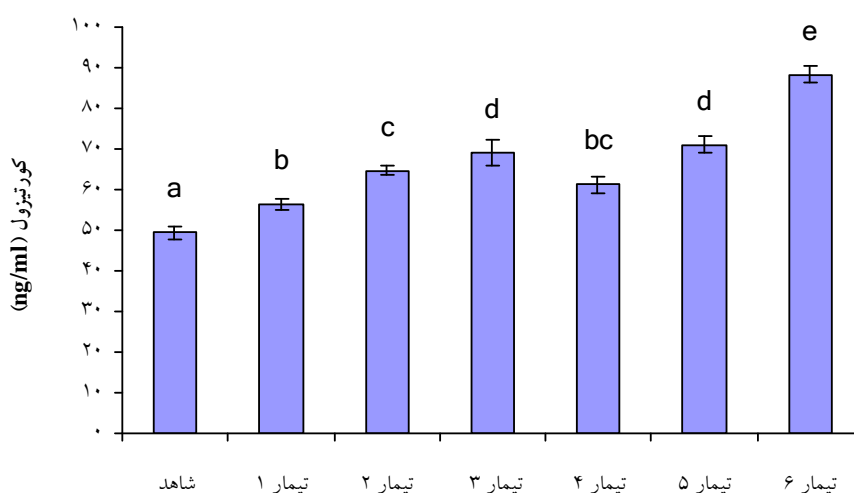
جدول ۲: شاخص‌های گلبول قرمز در خون ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

تیمار	گلبول قرمز ( $\text{mm}^{-3}$ )	Hb (g/dL)	Hct (%) <sup>*</sup>	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
شاهد	۶۵۱۶۶۶/۶۷ $\pm 10038/81$	۷/۲۳ $\pm 0/12$	۲۶/۶۷ $\pm 0/33^a$	۴۰۹/۰۰ $\pm 1/53$	۱۱۰/۶۷ $\pm 0/33$	۲۷/۰۰ $\pm 0/00$
تیمار ۱	۷۴۸۳۳۳/۳۳ $\pm 37118/43$	۸/۳۰ $\pm 0/40$	۳۲ $\pm 1/53^b$	۴۲۷/۰۰ $\pm 1/15$	۱۱۰/۶۷ $\pm 0/33$	۲۶/۰۰ $\pm 0/00$
تیمار ۲	۶۹۵۰۰۰/۰۰ $\pm 35827/59$	۷/۷ $\pm 0/41$	۳۰ $\pm 1/52^{ab}$	۴۳۱/۳۳ $\pm 1/33$	۱۱۰/۶۷ $\pm 0/33$	۲۵/۳۳ $\pm 0/33$
تیمار ۳	۷۱۱۳۳۳/۳۳ $\pm 37355/64$	۷/۹۳ $\pm 0/42$	۳۰/۳۳ $\pm 1/67^{ab}$	۴۲۵/۶۷ $\pm 2/67$	۱۱۱/۳۳ $\pm 0/33$	۲۶/۰۰ $\pm 0/00$
تیمار ۴	۷۰۴۰۰۰/۰۰ $\pm 24248/71$	۷/۷۷ $\pm 0/28$	۲۹ $\pm 1/00^{ab}$	۴۱۱/۳۳ $\pm 2/03$	۱۰۹/۶۷ $\pm 0/33$	۲۷/۰۰ $\pm 0/00$
تیمار ۵	۷۰۸۶۶۶/۶۷ $\pm 36884/20$	۷/۸۳ $\pm 0/43$	۳۰/۳۳ $\pm 1/76^{ab}$	۴۲۷/۳۳ $\pm 4/37$	۱۱۰/۳۳ $\pm 0/33$	۲۵/۶۷ $\pm 0/33$
تیمار ۶	۷۰۴۶۶۶/۶۷ $\pm 20185/25$	۷/۸ $\pm 0/25$	۲۹/۶۷ $\pm 0/33^{ab}$	۴۲۱/۰۰ $\pm 7/77$	۱۱۰/۳۳ $\pm 0/67$	۲۶/۳۳ $\pm 0/67$

\* حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در مقدار هماتوکریت بین تیمارها است.

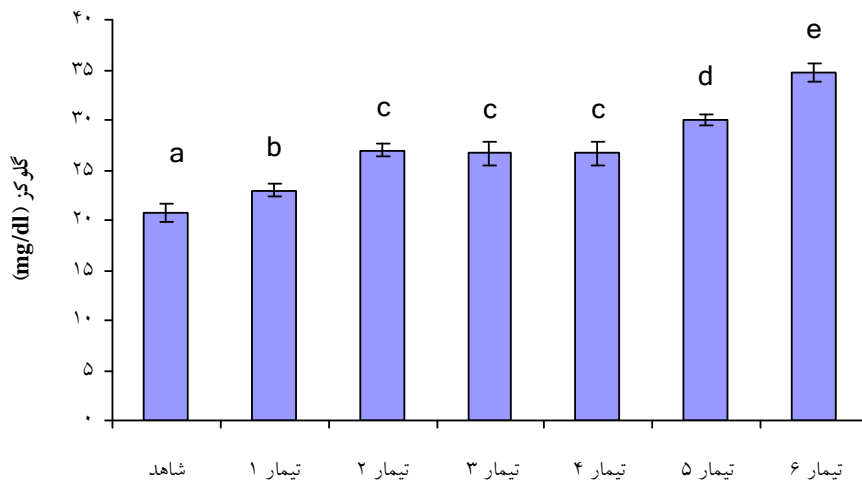
بر اساس نتایج، هموگلوبین تیمار شاهد کمترین و تیمار ۱ بیشترین میزان را داشت. در حالی که بر طبق آزمون واریانس یکطرفه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). میانگین درصد هماتوکریت در کلیه تیمارها اندکی افزایش یافت اما در تیمار ۱ افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ ).

میانگین هورمون کورتیزول و گلوکز در کلیه تیمارها افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ ). بر طبق آزمون واریانس یکطرفه و پس از آزمون دانکن بیشترین افزایش کورتیزول به ترتیب در تیمارهای ۶ و ۳ مشاهده شد. بیشترین افزایش مقدار گلوکز در تیمار ۶ مشاهده شد (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱: روند تغییرات هورمون کورتیزول خون ماهی استرلیاد در مواجهه با تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم حروف غیرهم نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری است.





شکل ۲: روند تغییرات گلوکز خون ماهی استرلیاد در مواجهه با تیمارهای مختلف سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم. حروف غیرهم‌نام نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است.

## بحث

در این مطالعه میزان گلبول سفید و

نوتروفیل خون بچه ماهیان استرلیاد در تیمار  $2\text{mg/L}$  سولفات مس (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت) و  $1$  و  $2\text{mg/L}$  پرمنگنات پتاسیم (حمام‌دهی بلندمدت، ۱۲ ساعت و حمام‌دهی کوتاه‌مدت، ۱۰-۵ دقیقه) افزایش یافت. افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در گردش خون غالباً با استرس در ماهی در ارتباط است. نوتروفیل‌ها مشخصاً به محل‌های عفونت باکتریایی مهاجرت می‌کنند و در آنجا به بیگانه‌خواری می‌پردازند، یا در غیر این صورت خاصیت باکتری‌کشی از خود نشان می‌دهند (Fänge, 1984). خوشباور رستمی و همکاران (۱۳۸۴) با مطالعه اثر سم

کاربرد ضدعفونی‌کننده‌ها به منظور کنترل آلودگی‌های ناشی از عوامل بیماری‌زا سطحی در کارگاه‌های پرورش ماهی از دیر باز رواج داشته است. استفاده از این ترکیبات باید در غلظت‌هایی صورت گیرد که برای ماهیان کشنده نباشد. تاثیر یک ماده ضدعفونی‌کننده بستگی به نسبت زمان-غلظت آن ماده و گونه ماهی دارد. به عبارت دیگر باید ماهی را در آبی با نسبتی از زمان-غلظت قرار داد که بدون صدمه وارد کردن به آن، عوامل بیماری‌زا را از بین برد (Noga and Dykstra, 1986).

همچنین در مطالعه‌ای که توسط Mottahari و همکاران (۲۰۱۳) صورت گرفت، اندازه‌گیری تغییرات بیوشیمیایی و هماتولوژیکی در خون ماهیانی که در معرض ماده سمی قرار گرفتند برای پیش‌بینی تاثیرات این مواد سمی استفاده شد. مفروض است که نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها دارای فعالیت بیگانه‌خواری هستند. این ویژگی می‌تواند افزایش درصد آن‌ها را طی مواجهه توضیح دهد (Brandao et al., 2009).

در مطالعه حاضر فاکتورهای استرس شامل هورمون کورتیزول و گلوکز نیز دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند. میانگین کورتیزول در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد اما بیش‌ترین افزایش به ترتیب در تیمار ۶ و ۳ مشاهده شد. از نظر میانگین گلوکز نیز در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد اما بیش‌ترین افزایش در تیمار ۶ وجود داشت. مقدار کورتیزول در سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی پاسخ‌های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی است. در این حالت کورتیزول که از کورتیکواستروئیدها است آزاد می‌شود و افزایش آن در خون اولین پاسخ به اکثر محرک‌های استرس است (Donaldson, 1981).

دیازینون روی شاخص‌های خونی ماهی ازون‌برون *Acipenser stellatus* کاهش تعداد گلبول‌های سفید را گزارش دادند. خوشبختانه رستمی و سلطانی در سال ۱۳۸۴ با مطالعه سمیت حاد دیازینون بر ماهی شیب *Acipenser nudiventris* کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید را گزارش دادند. تغییرات حاصل در سطوح گلبول‌های سفید متعاقب قرار گرفتن در معرض سم ممکن است ناشی از بروز اختلال در روند خون‌سازی و به دنبال آن کاهش یا تضعیف سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی باشد. نتایج آن‌ها با نتایج به دست آمده در این مطالعه مغایرت دارد که می‌تواند به دلیل نوع ماده، نوع گونه و یا مدت زمان تاثیر باشد. اما بر اساس گزارش Singh و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تاثیر سولفات مس بر روی گونه *Channa punctatus*، از ماهیان آب شیرین، افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون را در دراز مدت (۱۵ و ۳۰ روز) و تحت تاثیر این ضدعفونی‌کننده مشاهده کردند و دلیل آن را آسیب ناشی از عفونت بافت‌های بدن، استرس شدید و همچنین سرطان خون در ماهیان دانستند. یافته‌های مشابه‌ای توسط Mazon و همکاران (۲۰۰۲) و Nath و Bannared (۱۹۹۵) نیز در زمینه آبزیان ثبت شده است.

نوتروفیل مشاهده شد. تعداد گلبول‌های سفید به ترتیب در تیمارهای ۳، ۵، ۶ و ۲ افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. این افزایش در تیمارهای ۳ و ۵ بیش از سایر تیمارها بود و بین تیمارهای ۱ و ۴ اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد.

درصد هماتوکریت در کلیه تیمارها اندکی افزایش یافت اما در تیمار ۱ افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. درصد نوتروفیل به ترتیب در تیمارهای ۳، ۵، ۶ و ۴ افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. این افزایش در تیمارهای ۳، ۵ و ۶ بیش از سایر تیمارها بود اما بین تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد. سایر فاکتورهای خون‌شناسی اندازه‌گیری شده در این مطالعه شامل میانگین گلبول قرمز، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC، درصد لنفوسیت، درصد اتوزونوفیل اختلاف معنی‌دار آماری با شاهد نداشتند. در مطالعه‌ای که توسط Franca و همکاران (۲۰۱۳) بر ماهی تیلپای نیل (*Oreochromis niloticus*) قرار گرفته در معرض پرمنگنات پتاسیم صورت گرفت افزایش قابل ملاحظه‌ای در MCH مشاهده شد که نشان دهنده وجود سلولی‌هایی با حجم بیش‌تر و مقدار بیش‌تری از هموگلوبین بود.

غلظت گلوکز خون با اندازه و سن ماهی، مواد سمی و مراحل تولید مثلی مرتبط است (Satheeshkumar et al., 2010). Tavares-Dias و همکاران (۲۰۱۱) دلیل افزایش میزان گلوکز را در سرم خون ماهی *Ictalurus punctatus* تحت تاثیر سولفات مس، آسیب به کبد و آبشش‌ها دانستند که به دلیل افزایش در سطح پروتئین کل، قند خون به عنوان یک پاسخ به استرس می‌تواند منجر به انتشار کاتکول آمین و کورتیکواستروئیدها بعد از قرار گرفتن در معرض سولفات مس یا مواد سمی شود.

محورهای هیپوفیز در هیپوتالاموس با چندین محرک استرس فعال شده، سطح کورتیزول خون را بالا می‌برند و واکنش غدد درون‌ریز را با افزایش کاتکول آمین مرحله‌ای ایجاد و تحریک می‌کنند (لیپولیز، گلوکوکورتیزول و گلیکوژنولیز) که به روند انرژی حرکتی معروف هستند (Sheridan, 1986). افزایش غلظت گلوکز خون در نتیجه عدم تعادل بین محصولات کبدی گلوکز و مقدار جذب آن صورت می‌گیرد (Afaghi et al., 2007).

طبق نتایج حاصل از بررسی‌های خون‌شناسی تفاوت‌های معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت و

دقیقه) توصیه می‌شود. ضمن این که در این روش نیازی به دستکاری و خروج ماهی برای ضدعفونی غوطه‌وری و قطع طولانی مدت جریان آب برای روش ضدعفونی طولانی مدت (۱۲ ساعت) نیست.

### تشکر و قدردانی

از جناب مهندس عباسعلیزاده ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر تاس‌ماهیان شهید دکتر بهشتی و کلیه کارشناسان آن مرکز که در انجام این پژوهش همکاری لازم را مبذول داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

در مطالعه حاضر حتی با وجود تغییر وارونه MCH نسبت به تعداد گلبول‌های قرمز، سطح هماتوکریت، هموگلوبین و MCH تغییر چشمگیری پیدا نکرد ( $P > 0/05$ ) و مقادیر به دست آمده نزدیک به گروه شاهد بود. به علاوه مقدار میانگین MCV بالاتر از گروه‌های دیگر بود اما تفاوت چندانی وجود نداشت یعنی همان مقدار از هموگلوبین سطح وسیع‌تری از حجم سلول را اشغال کرده بودند.

با توجه به نتایج به دست آمده از اثر سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم روی شاخص‌های خونی (عدم اختلاف معنی‌دار) و استرس (تفاوت‌های قابل قبول) در ماهی استرلیاد روش ضدعفونی کوتاه مدت (۱۰

## منابع

- آذری تاکامی ق. ۱۳۷۶. مدیریت بهداشتی و روش‌های پیشگیری بیماری‌های ماهی. انتشارات پرپور. ۳۰۴ص.
- آذری تاکامی ق. ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۱ص.
- چالکش امیری م. ۱۳۷۶. اصول تصفیه آب. نشر اردکان اصفهان. ۴۱۳ص.
- خوشباور رستمی ح. و سلطانی م. ۱۳۸۴. بررسی تأثیر سمیت حاد دیازینون بر روی شاخص‌های خونی ماهی شیب (*Acipenser nudiventris*) و تعیین میزان  $LC_{50}$  96h. مجله علمی شیلات ایران، ۳(۴): ۴۹-۵۹.
- activity of commonly used disinfectants. International Journal of Natural Sciences, 1(4): 102-105.
- Bishop Y. 2005. The Veterinary Formulary. British Veterinary Association. Pharmaceutical Press, London. 566P.
- Brandao H., Vidotto-Magnoni A.P., Ramos I.P. and Carvalho E.D. 2009. Assessment of the ichthyofauna in stretches under the influence of Salto Grande Reservoir (Middle Paranapanema River, SP/PR, Brazil). Acta Limnologica Brasiliensia, 21: 451-463.
- Carballo M., Munoz M.J., Cuellar M. and Tarazona J.V. 1995.
- ستاری م. ۱۳۷۸. بهداشت ماهی. انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۴ص.
- شریف روحانی م. ۱۳۷۴. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی (ترجمه)، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران. ۲۵۶ص.
- مشتاقی ب.، نظامی بلوچی ش.، خارا ح.، پژند ذ.، شناورماسوله ع.، حلاجیان ع. و فتح الهی ر. ۱۳۸۸. تعیین غلظت کشندگی پرمنگنات پتاسیم ( $KMnO_4$ ) و سولفات مس ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) در بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). مجله علوم زیستی، ۳(۴): ۶۷-۷۷.
- Adil A.W., Sikdar-Bar M. and Ahmad Khan H. 2013. Acute toxicity of copper sulphate to African catfish, (*Clarias gariepinus*). GERF Bulletin of Biosciences, 4(1): 14-18.
- Afaghi A., Zare S., Heidari R., Asadpoor Y. and Viayeh R.M. 2007. Effects of copper sulfate ( $CuSO_4$ ) on the levels of glucose and cortisol in common carp, *Cyprinus carpio*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(10): 1655-1560.
- Alam M., Rahman M.M, Foyosal M.J. and Hossain M.N. 2011. Determination of lethal concentration and antibacterial

- Effects of waterborne copper, cyanide, ammonia and nitrite on stress parameters and changes in susceptibility to Saprolegniasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 2108–2112.
- Cardeilhac P. and Whitaker B. 1998.** Copper treatments: Uses and precautions. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18: 435–448.
- Carpenter J.W., Mashima T.Y. and Ruppier D.J. 2001.** Exotic animal formulary. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 423P.
- Davis H.S. 1953.** Culture and diseases of game fishes. University of California Press, Berkeley. 331P.
- Donaldson E.M. 1981.** The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. P: 11–47. In: Pickering A.D. (Ed.). *Stress and Fish*. Academic Press, London.
- Duncan T.O. 1978.** The use of potassium permanganate (KMnO<sub>4</sub>) in fisheries; A literature review. National Technical Information Service, PB 275-397, FWS-LR-74-14, Washington DC. 108P.
- Fange R. 1984.** Lymphomyeloid tissues in fishes. *Vidensk Meddør Dansk Naturh Foren*, 145: 143–162.
- Foster L.B. and Dunn R.T. 1974.** Single-Antibody technique for radioimmunoassay of cortisol in unextracted serum or plasma. *Clinical Chemistry*, 20(3):365–368.
- Franca J.G., Ranzani-Paiva M.J.T., Lombardi J.V., De Carvalho S., Filipak-Neto F. and Oliveira-Ribeiro C.A. 2013.** Toxic effect of potassium permanganate on *Oreochromis niloticus* based on hematological parameters and biomarkers of oxidative stress. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 5(1): 1–6.
- Gratzek J.B., Shotts jr E.B. and Dave D.L. 1992.** Infectious diseases and parasites of freshwater ornamental fish. P: 227–274. In: Gratzek J.B. and Matthews J.R. (Eds.). *Aquariology: The Science of Fish Health Management*. Terra Press, Morris Plains, NJ.
- Gratzek J.B. and Blasiola G.C. 1992.** Checklists, quarantine procedures and calculations of particular use in fish health management. P: 301–331. In: Gratzek J.B. and Matthews J.R. (Eds.). *Aquariology: The Science of Fish Health Management*. Tetra Press, Morris Plains, NJ.
- Klontz G.W. 1994.** Fish hematology. P: 121–132. In: Stolen J.S., Flecher T.C., Rowley A.F., Zelikoff T.C., Kaattari S.L. and Smith S.A. (Eds.). *Techniques in Fish Immunology*, Vol. 2. SOS Publications, USA.

- Kori-Siakpere O. 2008.** Acute toxicity of potassium permanganate to fingerlings of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), African Journal of Biotechnology, 7(14): 2514–2520.
- Lay B.A. 1971.** Applications for potassium permanganate in fish culture. Transactions of the American Fisheries Society, 100: 813–816.
- Masser M.P. and Jensen J.W. 1991.** Calculating area and volume of ponds and tanks. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication. 103P.
- Mazon A.F., Monteiro E.A., Pinheiro G.H. and Fernandes M.N. 2002.** Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. Brazilian Journal of Biology, 62: 621–631.
- Mottahari J., Sadat R., Bozorgnia A., Farabi V. and Toosi S.M. 2013.** Impact of copper sulphate on hematological and some biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) in different pH. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5(5): 486–491.
- Nath R. and Bannered V. 1995.** Effects of various concentrations of lead nitrate on haematological parameters of an air breathing fish, *Clarias batrachus*. Journal of Freshwater Biology, 7: 267–268.
- Noga E.J. and Dykstra M.J. 1986.** Oomycete fungi associated with ulcerative mycosis in menhaden, *Brevoortia tyrannus* (Latrobe). Journal of Fish Disease, 9: 47–53.
- Noga E.J. 1996.** Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis. 367P.
- Plump J.A. 1999.** Health maintenance and principal microbial diseases of cultured Fishes. Ames: Iowa State University Press. 328P.
- Sacks D.B. 1999.** Carbohydrates. P: 750–808. In: Burtis C.A. and Ashwood E.R. (Eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, Philadelphia.
- Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthilkumar D., Basheer Khan A. and Jevantham K. 2010.** Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. Comparative Clinical Pathology, 21(3): 275–281.
- Sheridan M.A. 1986.** Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. General and Comparative Endocrinology, (2): 220–238.

- Singh D., Nath K., Trivedi S.P. and Sharma Y.K. 2008.** Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. Journal of Environmental Biology, 29(2): 253–257.
- Stoskopf M.K. 1993.** Fish Medicine. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 882P.
- Straus D.L. and Griffin B.R. 2002.** Efficacy of potassium permanganate in treating ichthyophthiriasis in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health, 14: 145–148.
- Tavares-Dias M., Ferreira J.S., Affonso E.G. ONO A.E. Martins L.M. 2011.** Toxicity and effects of copper sulfate on parasitic control and hematological response of tambaqui *Colossoma macropomum*. Boletim do Instituto de Pesca Sao Paulo, 37(4): 355–365.
- Thomas-Jina S. and Goodwin A.E. 2004.** Acute columnaris infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque): Efficacy of practical treatments for warm water Aquaculture ponds. Journal of Fish diseases, 27: 23–28.
- Torrecillas S., Makol M., Caballero M.J., Montero D., Gines R., Sweetman J. and Izquierdo M.S. 2010.** Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition, 17(2): 223–233.





## Impact assessment of potassium permanganate and copper sulfate on hematological and stress indices in *Acipenser ruthenus*

Mohammad Taghi Salakh Ghasemi<sup>1</sup>, Hossein Khara<sup>2\*</sup>, Jalil Jalilpour<sup>3</sup>

Received: January 2016

Accepted: March 2016

### Abstract

External disinfectants are used to control infections caused by organisms outside the body and to eradicate or reduce pathogens in fish. The present study investigates the effect of different copper sulfate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) and potassium permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ) baths on stress and blood indices of *Acipenser ruthenus*. The experiment was carried out in a completely randomized design with 6 treatments and a control group (triplicate). Treatments were copper sulfate concentrations of 2ppm (long-term bath, 12h), 5ppm (short-term bath, 5-10min), 10ppm (bath of immersion, 30-45s) and potassium permanganate concentrations of 1ppm (long-term bath, 12h), 2ppm (short-term bath, 5-10min), 3ppm (bath of immersion, 30-45s) and a control group (without sterilization). At the end of experiment, 4 to 5 fish had randomly selected for blood sampling. White blood cell and Neutrophil results showed a statistically significant difference between treatments and control group ( $P < 0.05$ ). Lymphocyte, monocytes and eosinophils percentage, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration and mean corpuscular hemoglobin didn't show a statistically significant difference between treatments and control group ( $P > 0.05$ ). Cortisol and glucose levels showed a statistically significant difference between treatments and control group ( $P < 0.05$ ). According to the results of the disinfection method, disinfection short-term (10 min) is recommended for both materials.

**Key words:** Pathogenic, Disinfection, Treatment, Therapeutic Baths, Sturgeon.

1- M.Sc. in Fisheries, Department of Aquaculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

2- Associated Professor in Department of Aquaculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3- M.Sc. in Fisheries, Department of Aquatic Animal Health, International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

\*Corresponding Author: [h.khara1974@yahoo.com](mailto:h.khara1974@yahoo.com)