شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶

صفحات ۱۴۷-۱۳۸

اثرات تغذیه‌ای زردچوبه (*Curcuma longa*) بر کاهش آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از مواجهه با سولفات مس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

اباذر قاسمی[۱]، محمد مازندرانی[۲]، محمد سوداگر[۳]، سید مرتضی حسینی[۴]*

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴. استادیار سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی-گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۳۰

چکیده

سولفات مس به عنوان یک داروی قابل قبول در کنترل جمعیت حلزون‌ها و گیاهان‌آبزی در استخرهای ماهیان گرمابی کاربرد فراوانی دارد. در بررسی حاضر اثرات زردچوبه (*Curcuma longa*) خوراکی در کاهش آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از سولفات مس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی مطالعه قرار گرفته است. به این منظور تعداد ۱۸۰ بچه ماهی با میانگین وزنی ۲/۴۳±۱۶/۵۱ در ۱۲ تانک فایبر گلاس تقسیم شدند. برای انجام آزمایش ۳ گروه تیمار و یک گروه شاهد (در ۳ تکرار) در نظر گرفته شد. ماهیان گروه‌های شاهد و تیمار به مدت ۶ هفته به ترتیب با جیره غذایی حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد زردچوبه به میزان ۳ درصد وزن بدن تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش تمامی گروه‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم/ لیتر سولفات مس به مدت یک هفته مواجه شده و نهایتاً وضعیت آنزیم‌های کبدی و آسیب‌های بافتی کبد و کلیه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمارهای تغذیه شده با ۱ و ۲ درصد زردچوبه به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر گروه‌ها اندازه‌گیری شد، در عین حال آنزیم آلکالین فسفاتاز بعد از مواجهه با سولفات مس در تیمارهای یادشده بالاتر بود ($P<0/05$). در بررسی‌های بافت‌شناسی، آسیب‌های بافتی وارده به کبد و کلیه بطور محسوسی در ماهیان تغذیه شده با زردچوبه کمتر بود. و بر اساس نتایج بررسی حاضر افزودن ۰/۵ تا ۲ ٪ زردچوبه خوراکی در جیره باعث کاهش محسوس آسیب‌های کبدی احتمالی در مواجهه با سولفات مس در کپور معمولی می‌شود.

واژگان کلیدی: زردچوبه، بافت‌شناسی، آنزیم‌های کبدی، سولفات مس.

* نویسنده مسئول: ایمیل: mazandarani@gau.ac.ir

۱. مقدمه

در سال‌های اخیر با افزایش روند جمعیت و ضرورت تامین نیاز غذایی، صنعت آبزی‌پروری از توجه بیشتری برخوردار شده است و در این راستا استفاده از سیستم‌های متراکم و نیمه متراکم پرورش آبزیان به سرعت در حال توسعه است (Harikrishnan *et al.*, 2011). محیط‌های پرورشی برای آبزیان در هر حالتی که باشند با محیط طبیعی متفاوت بوده و همواره استرس‌زا است که در این حالت ماهیان نسبت به عوامل بیماری‌زا بسیار حساس و آسیب‌پذیرتر خواهند شد. بنابراین کنترل این عوامل در محیط‌های پرورشی ضروری است، یکی از روش‌های رایج برای کنترل و کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا در صنعت آبزی‌پروری، استفاده از برخی مواد شیمیایی و ضدعفونی کننده‌ها است (Azari Takami, 1996). در این راستا عوامل گوناگونی بر عملکرد و کارآیی استفاده از این مواد ضدعفونی کننده تأثیرگذار هستند که از آن جمله می‌توان به نوع و مقدار استفاده ماده موردنظر، جمعیت میکروارگانسیم‌های آسیب‌رسان، مدت زمان تماس و کیفیت فیزیکوشیمیایی آب پرورش اشاره کرد (Salakh Ghasemi, 2016; Chalkesh Amiri, 1997).

سولفات مس از جمله داروهایی است که در مزارع پرورش ماهیان گرمابی و به‌خصوص در استخرهای خاکی کاربرد فراوانی دارد این دارو برای کنترل شکوفایی جلبکی فیتوپلانکتون‌ها و گیاهان آبزی بسیار کاربردی است (Havens, 1994; Rowe and Prince, 1983)، در عین حال برای کنترل حلزون‌ها و سایر نرم‌تنان استخرهای پرورشی که عمدتاً نقش میزبان واسط بسیاری از انگل‌ها را بر عهده دارند، دارویی موثر و مناسب به حساب می‌آید (Al-Sabri, 1993; Winger *et al.*, 1984; Rowe and Prince, 1983). در عین حال این ماده توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) در آبزی‌پروری برای کنترل جلبک ها و فیتوپلانکتون‌های آبی مورد تائید قرار گرفته است (Straus and Tucker, 1993). یکی از مشکلات کاربرد این دارو تعیین دوز دقیق برای استفاده در آبزی‌پروری است، زیرا کارآیی این دارو در آب‌هایی که دارای سختی بالایی هستند به شدت کاهش می‌یابد اما در آب‌های سبک می‌تواند مسمومیت‌زا باشد به‌طوری‌که در سختی آب زیر ۵۰ میلی‌گرم/لیتر مصرف آن به‌هیچ عنوان توصیه نمی‌شود. یکی از عمده‌ترین اثرات سمی این دارو، اثرات هپاتوتوکسیکی و مسمومیت کبدی است که در بسیاری موارد بدون اینکه ماهی دچار تلفات شود آسیب‌های کبدی در ماهیان ایجاد می‌گردد (Mazandarani *et al.*, 2015).در بررسی Marek و همکاران (۱۹۹۱) سولفات مس بیشترین تجمع را در کبد بچه ماهیان کپور معمولی داشته است.

زردچوبه (*Curcuma longa*) گیاهی علفی و پایا از خانواده زنجبیرین و بومی نواحی گرم قاره آسیا است (Keys, 1976) و کورکومین ماده مؤثره ریزوم گیاه زردچوبه است (Yang *et al.*, 2009). در بررسی‌های متعدد اثرات فراوانی برای این گیاه در انسان و سایر موجودات گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Masuda *et al.*, 2002)، ضدالتهابی، ضد سرطانی (Duvoix *et al.*, 2005)، ضد میکروبی و ضد دیابتی (Saravanan and Pari, 2005) این ماده اشاره نمود. در آبزیان نیز بررسی‌های مختلفی در رابطه با اثرات افزودن زردچوبه خوراکی در جیره ماهیان صورت گرفته است که در بسیاری موارد حاکی از افزایش رشد، ایمنی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌ها در ماهیان است (Ahmad Mohammad, 2017; Mahmoud *et al.*, 2014; Behera *et al.*, 2011). در عین حال در برخی گزارشات در تحقیقات انجام شده بر موش‌های آزمایشگاهی یکی از اثراتی که برای این گیاه ذکر می‌کنند خاصیت محافظتی هپاتوسیت‌های کبدی است به گونه‌ای که در مواجهه با مسمومیت‌های مختلف منجر به کاهش میزان آسیب‌های کبدی شده است (Khodaparast *et al.*, 2014; Ayoubi *et al.*, 2014). با توجه به کاربرد بالای سولفات مس در استخرهای خاکی مزارع ماهیان گرمابی، احتمال آسیب‌های کبدی در این ماهیان در اثر استفاده از این دارو وجود دارد، بنابراین در بررسی حاضر اثرات آسیب‌های بافتی کبد و کلیه ماهی کپور معمولی را در دامنه دوز درمانی سولفات مس مورد بررسی قرار گفته است و در عین حال اثرات افزودن زردچوبه در جیره غذایی این ماهیان بر کاهش آسیب‌های بافتی نیز مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره غذایی مورد استفاده در گروه‌های مختلف آزمایش

اقلام غذایی(٪)	شاهد	۰/۵درصد	۱ درصد	۲ درصد
پودر ماهی	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
آرد سویا	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
پودر گوشت	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳
آرد گندم	۲۴/۸	۲۴/۸	۲۴/۸	۲۴/۸
روغن ماهی	۴	۴	۴	۴
مکمل معدنی	۵	۵	۵	۵
مکمل ویتامینه	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵
سلولز	۲	۱/۵	۱	۰
زردچوبه	۰	۰/۵	۱	۲
کولین	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره غذایی

ترکیب شیمیایی	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	خاکستر خام (درصد)	رطوبت (درصد)
	۴۱/۱	۶/۶۰	۱۲/۴	۱۰

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه بچه ماهی و دوره پرورش

این مطالعه در بهار ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.در این راستا تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۲/۲۱±۱۶/۷۱ گرم تهیه شده و به منظور سازگاری با شرایط آزمایش، به مدت ۱۴ روز در دو مخازن ذخیره به حجم ۵۰۰ لیتر مورد نگهداری و پرورش قرار گرفتند. غذا دهی در این مدت به‌صورت دستی و دوبار در روز و به میزان ۳ درصد وزن بدن صورت گرفت.

۲.۲. تیمار بندی و طرح آزمایش

به‌منظور انجام آزمایش ۳ گروه تیمار و یک گروه شاهد در ۳ تکرار در نظر گرفته شد، بنابراین ماهیان در ۱۲تانک فایبرگلاس (۱۵ ماهی در هر تانک) با حجم آب ۳۰۰ لیتر تقسیم شدند. تیمار بندی به‌صورت کاملاً تصادفی بوده و هر تانک با استفاده از یک سنگ هوا هوادهی می‌شد. ماهیان گروه‌های تیمار به ترتیب با جیره غذایی حاوی ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ زردچوبه به مدت ۶ هفته تغذیه شدند ماهیان گروه شاهد نیز تنها با جیره پایه در این مدت مورد تغذیه قرار گرفتند. غذادهی به‌صورت روزانه با ۳ درصد وزن بدن و در دو نوبت انجام می‌شد. تعویض آب هر تانک به‌صورت روزانه و به میزان ۷۰ درصد صورت گرفت. در طول مدت آزمایش دمای آب ۱/۱°C±۲۴، اکسیژن محلول ۷/۴-۷/۸ میلی‌گرم درلیتر و pH ۰/۱۵±۷/۷۸ ثبت گردید.

۳.۲. آماده سازی جیره غذایی

جیره غذایی مورد استفاده در بررسی حاضر به‌صورت دستی و بر اساس فرمول ذکر شده در جدول ۱ آمادسازی و تهیه گردید. اجزای تشکیل دهنده غذا پس از مخلوط شدن به‌صورت پلیت درآمده و در پلاستیک‌های زیپ‌دار تا زمان مصرف در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۴.۲. مواجهه با سولفات مس و بررسی‌های آزمایشگاهی

در پایان دوره پرورش تمامی ماهیان گروه‌های مورد بررسی به مدت یک هفته تحت مواجهه با دوز ۱میلی‌گرم درلیتر (ppm) سولفات مس قرار گرفتند. در پایان این دوره میزان بازماندگی ماهیان ثبت گردید همچنین از تعدادی ماهی به‌صورت تصادفی خون‌گیری از طریق ورید ساقه دمی انجام گرفت و خون داخل میکروتیوپ‌هایی ریخته شد در مرحله بعد به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم خون با کمک سمپلر ۱۰۰ میکرون جدا شد (Acerete *et al.*, 2004) و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر با دمای ۲۰°C- قرار داده شد. سنجش گلوکز و

جدول ۳- تغییرات برخی پارامترهای سرمی در پایان دوره پرورش و بعد از مواجهه یک هفته‌ای با سولفات مس ppm ۱ در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*).

تیمار / پارامتر	متغیر	شاهد	۰/۵ درصد	۱ درصد	۲ درصد
گلوکز (mg/dl)	پایان دوره پرورش	^{a}۸۵/۶۱ ± ۱۴/۱۵	^{a} ۹۳/۹۴ ± ۱۹/۶۰	^{b}۵۱/۵۸ ± ۱۹/۲۵	^{a}۹۶/۵۰ ± ۲۳/۴۲
	بعد از مواجهه	^{aA}۳۶۶/۷۷ ± ۹۵/۳۴	^{ab}۲۹۹/۱۰ ± ۵۲/۴۱	^{a}۲۶۸/۷۷ ± ۶۹/۷۰	^{b}۱۶۲/۴۵ ± ۳۶/۹۷
آلکالین فسفاتاز (U/L)	پایان دوره پرورش	^{a}۱۱۱/۱۰ ± ۱۸/۵۵	^{a}۱۴۹/۱۰ ± ۴۱/۳۲	^{a}۱۵۲/۴۰ ± ۲۴/۴۸	^{a}۲۴۳/۵۰ ± ۴۵/۱۵
	بعد از مواجهه	^{aA}۱۸۹/۶۶ ± ۲۶/۳۱	^{a}۱۹۷/۳۳ ± ۴۲/۲۵	^{b}۳۳۷/۱۰ ± ۴۹/۰۱	^{b}۳۷۳/۲۰ ± ۲۱/۰۱
آسپارتات آمینوترانسفراز (U/L)	پایان دوره پرورش	^{a}۱۷۵/۹۶ ± ۵۷/۵۴	^{a}۱۸۲/۷۲ ± ۴۵/۲۲	^{a}۱۶۲/۴۳ ± ۵۱/۲۵	^{a}۱۲۱/۱۶ ± ۲۵/۶۱
	بعد از مواجهه	^{a}۲۳۶ ± ۵۰/۰۵	^{a}۲۲۰ ± ۳۵/۷۰	^{b}۱۶۲ ± ۳۰/۲۰	^{b}۱۴۶ ± ۲۵/۱۰
آلانین آمینو ترانسفراز (U/L)	پایان دوره پرورش	^{a}۸/۳۵ ± ۰/۳۵	^{a}۸/۹۷ ± ۱/۴۵	^{b}۵/۹۵ ± ۱/۳۲	^{b}۶/۴۳ ± ۱/۴۰
	بعد از مواجهه	^{aA}۱۳/۸۹ ± ۲/۳۸	^{aA}۱۱/۵۱ ± ۲/۵۰	^{b}۶/۶۱ ± ۱/۲۰	^{b}۸/۱۰ ± ۱/۳۱

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارها است.

جدول ۴- درصد بازماندگی کپور ماهیان پرورشی بعد از مواجهه یک‌هفته‌ای با سولفات مس ppm ۱.

تیمار / پارامتر	۰ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد	۲ درصد
بازماندگی (درصد)	^{b}۵۶ ± ۸/۴۸	^{a}۸۱/۵ ± ۹/۱۹	۸۷/۵ ± ۱۷/۶۷^{a}	۹۴ ± ۸/۴۸^{a}

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارها است.

پارامترهای بیوشیمیایی سرم (آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز) به‌وسیله دستگاه طیف‌سنج نوری و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون انجام گرفت. به‌منظور بررسی‌های بافت‌شناسی کبد، از ماهیان گروه‌های مختلف در پایان دوره نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌برداری آبشش از دومین کمان آبششی، نمونه کلیه از قسمت‌های انتهایی آن و از تمام بافت کبد صورت گرفت. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و بعد از ۲۴ ساعت فرمالین نمونه‌های تعویض گردیده و جهت تهیه مقاطع بافتی به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه بافت‌ها به کمک دستگاه پروسسور بافتی (Shandon Duplex Processor) ساخت کشور انگلستان آماده نمونه‌برداری شدند. جهت تهیه برش‌های بافتی از نمونه، ابتدا نمونه‌ها آبگیری شدند سپس در الکل اتانول پارافینه شده و در نهایت برش‌های ۵ میکرونی از نمونه‌ها تهیه گردید. سپس برش‌ها بر روی لام چسبانیده شد و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. بررسی‌های بافت‌شناسی با کمک میکروسکوپ نوری و بر اساس کلیدهای شناسایی آسیب‌های بافتی انجام گرفت (Robert, 2012).

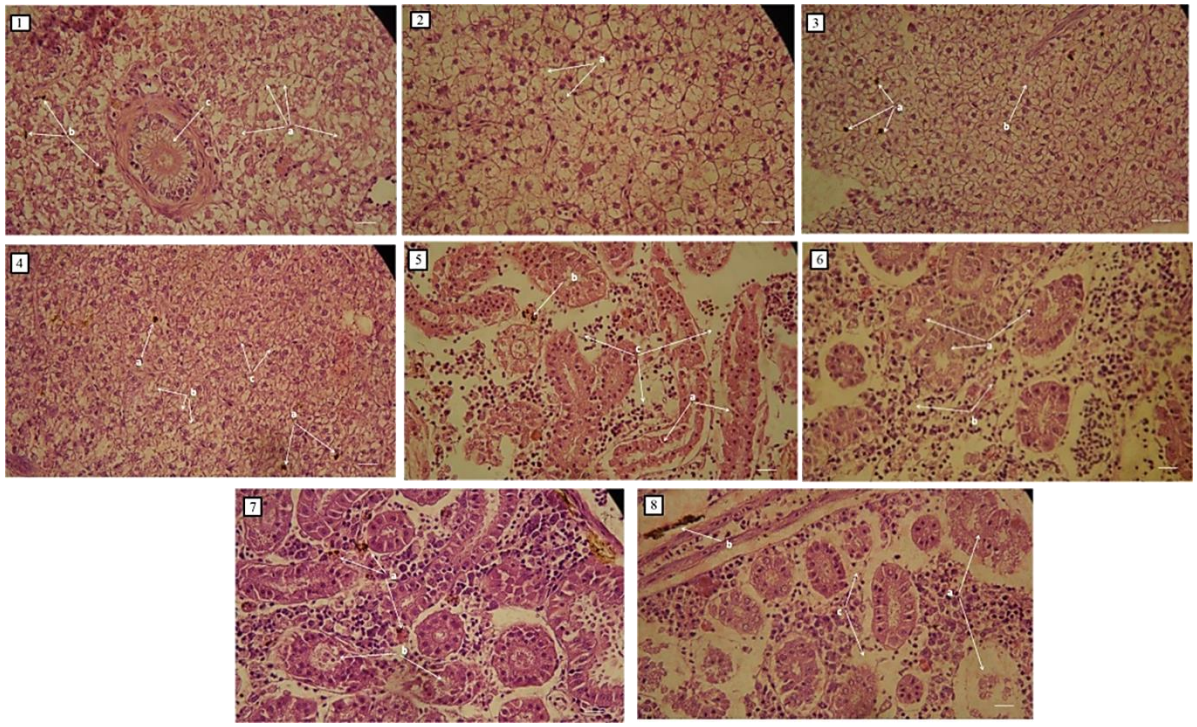
۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه درصد بازماندگی، فاکتورهای خونی و فعالیت آنزیم‌های کبدی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با کمک نرم‌افزار SPSS16 استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. بازماندگی و تغییرات گلوکز و آنزیم‌های کبدی

نتایج مربوط به گلوکز سرم خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی بعد از مواجهه یک‌هفته‌ای با سولفات مس ppm ۱ در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد پس از مواجهه با سولفات مس میزان گلوکز خون در ماهیان تغذیه شده با زردچوبه نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($P<۰/۰۵$). مقادیر آنزیم آلکالاین فسفاتاز (ALP) پس از پایان دوره پرورش در ماهیان تغذیه شده با ۲٪ زردچوبه در جیره بالاتر از گروه شاهد بود و در عین حال این میزان در ماهیان تغذیه شده با ۲٪ و ۱٪ زردچوبه در جیره بالاتر از سایر گروه‌ها اندازه‌گیری شد ($P<۰/۰۵$). از طرفی مقادیر آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در ماهیان تغذیه شده با دوزهای ۱ و ۲ درصد



تصویرهای ۸-۱- مقاطع بافتی کبد و کلیه ماهیان مواجهه شده با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس- تصویر۱: بافت کبد ماهیان گروه شاهد: نکروز گستره هپاتوسیت‌های کبدی (a)، وجود مراکز ملانوماکروفاژ (b)، دژنره شده مجاری صفراوی (c)- تصویر۲: بافت کبدتغذیه شده با ۰/۵٪ زردچوبه: دژنره شدن بسیار مختصر برخی هپاتوسیت‌های کبدی (a). تصویر۳: بافت کبد ماهیان تغذیه شده با ۱٪ زردچوبه: وجود مراکز ملانوماکروفاژ (b)، دژنره شدن مختصر برخی هپاتوسیت‌های کبدی (b)- تصویر۴: بافت کبد ماهیان تغذیه شده با ۲٪ زردچوبه: وجود مراکز ملانوماکروفاژ (a)، دژنره شدن مختصر برخی هپاتوسیت‌های کبدی (b) واکئولاسیون مختصر هپاتوسیت‌ها (c)- تصویر۵: بافت کلیه ماهیان گروه شاهد: دژنره شدن گسترده توبول‌های کلیوی (a)، وجود مراکز ملانوماکروفاژ (b)، دژنره شدن و نکروز بافت بینابینی توبولی (c) - تصویر۶: بافت کلیه ماهیان تغذیه شده با ۰/۵٪ زردچوبه: دژنره شدن برخی توبول‌های کلیوی (a)، دژنره شدن و نکروز ملایم بافت بینابینی توبولی (b)- تصویر۷: بافت کلیه ماهیان تغذیه شده با ۱٪ زردچوبه: وجود مراکز ملانوماکروفاژ در بافت بینابینی توبولی (a)، دژنره شدن مختصر برخی توبول‌های کلیوی (b)- تصویر ۸: بافت کلیه ماهیان تغذیه شده با ۲٪ زردچوبه: دژنره شدن برخی توبول‌های کلیه (a)، وجود مراکز ملانوماکروفاژ (b)، نکروز بسیار ملایم در برخی نقاط بافت بینابینی کلیه (c).

زردچوبه در جیره به‌طور معنی‌داری در مواجهه با سولفات مس پایین‌تر از سایر گروه‌ها اندازه‌گیری و ثبت گردید ($P<۰/۰۵$). نتایج مربوط به درصد بازماندگی کپور ماهیان پرورشی بعد از مواجهه یک‌هفته‌ای با دوز ۱ میلی‌گرم در لیتر (ppm) سولفات مس در جدول ۴ قابل مشاهده است. مطابق این جدول افزودن زردچوبه به جیره غذایی باعث افزایش معنی‌دار در درصد بازماندگی تیمارهای پرورشی نسبت به تیمار شاهد شده است ($P<۰/۰۵$).

۲.۳. بررسی‌های بافت‌شناسی

آسیب‌های بافتی ناشی از مواجهه یک هفته‌ای با غلظت ۱ میلی‌گرم درلیتر سولفات مس در بافت کبد و کلیه ماهیان کپورمعمولی تغذیه شده با درصدهای مختلف زردچوبه در جیره غذایی در تصویرهای ۱ تا ۸ قابل مشاهده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در کبد ماهیان گروه شاهد نکروز گستره هپاتوسیت‌های کبدی و دژنره شدن مجاری صفراوی در اکثر مقاطع قابل مشاهده بود (تصویر ۱) اما در ماهیان تغذیه شده با زردچوبه در جیره، تنها دژنره شدن و نکروز مختصر برخی هپاتوسیت‌های کبدی مشاهده گردید (تصویرهای ۲ تا ۴). در بررسی مقاطع بافت‌های کلیه دژنره شدن گسترده توبول‌های کلیوی ، تجمع مراکز ملانوماکروفاژ، دژنره شدن و نکروز گسترده در بافت بینابینی در ماهیان گروه شاهد ثبت گردید (تصویر ۵) که این عوارض در ماهیان تغذیه شده با زردچوبه بسیار ملایم‌تر نسبت به

گروه شاهد ثبت شد (تصویرهای ۵ تا ۸).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

کاهش استرس و افزایش مقاومت ماهیان در مواجهه با شرایط نامساعد محیطی و مسمومیت‌ها، یکی از راه‌های با ارزش برای پرورش‌دهندگان جهت رسیدن به تولید بیشتر است. که در این راستا کنترل شرایط فیزیکوشیمیایی بهینه آب برای پرورش ضروری است و در عین حال کنترل جمعیت عوامل آسیب رسان نیز در کاهش هزینه‌های درمان و افزایش تولید می‌تواند بسیار مفید باشد. یکی از داروهای معمول در این زمینه سولفات مس است که به‌خصوص در مزارع پرورش گرمابی کپورماهیان استفاده زیادی دارد. معمولاً سولفات مس در غلظت‌هایی که برای کنترل جلبک‌ها و حلزون‌های آبی استفاده می‌شود برای ماهیان کشنده نیست و بطور معمول تا ۲ میلی‌گرم درلیتر (بسته به سختی آب و زمان مواجهه) در آبزی-پروری استفاده می‌شود (Eisler, 1998)، اما این به معنی عدم وجود عارضه در ماهیان نیست به عبارت دیگر اگرچه سولفات مس در دامنه پیشنهادی درمان برای ماهیان کشنده نیست اما قادر به ایجاد مسمومیت و عوارض بافتی است.

در بسیاری از مسمومیت‌ها، کبد و کلیه به دلیل داشتن نقش فعال در فرآیند متابولیسم و تغییر شکل بیوشیمیایی آلاینده‌ها زیست‌محیطی و همچنین به علت خون‌رسانی بالای این بافت بیشتر در معرض آسیب‌ها قرار دارد (Mohamed, 2009; Van der Oost *et al*., 2003). میزان آسیب‌های وارد شده به این اندام بسته به نوع مسمومیت، دوز و مدت زمان مواجهه، شرایط فیزیکی-شیمیایی آب، گونه و سن ماهی متفاوت است (Roberts, 2012). بنابراین وضعیت کبد می‌تواند یک راه مناسب جهت ارزیابی وضعیت سلامت آبزیان در زمان مسمومیت و شرایط نامساعد محیط پرورشی باشد. در بررسی حاضر نیز مسمومیت با داروی سولفات مس بدن اینکه در ماهی تلفاتی ایجاد کند در کبد قابل جستجو است.

در رابطه با اثرات زردچوبه در ماهیان بررسی‌های محدودی صورت گرفته است که در عمده این گزارشات اثرات تحریک سیستم ایمنی و گاهاً افزایش رشد برای این ماده در ماهیان عنوان شده است. به عنوان مثال در بررسی Mahmoud و همکاران (۲۰۱۴) افزودن ۰/۵ درصد زردچوبه به جیره غذایی تیلاپیای رود نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث افزایش کارآیی رشد و نیز افزایش معنی‌دار در مقاومت این ماهی در مواجهه با باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescence*) شده است. در بررسی دیگری تغذیه با ۷/۵ ٪ زردچوبه در جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) بهترین درصد رشد و بالاترین میزان گلبول‌های سفید خون گزارش شده است (Sodamola *et al*., 2106). تزریق داخل صفاقی ۱۵۰ میکروگرم کورکومین (ماده موثره زردچوبه) به ماهی *Labeo rohita* به افزایش پارامترهای ایمنی سرم خون منجر گردید (Behera *et al*., 2011). در تحقیق صورت گرفته توسط Ahmad Mohammad در سال ۲۰۱۷ افزودن ۱ تا ۲ درصد زردچوبه به جیره غذایی کپور معمولی باعث افزایش معنی‌دار در کارآیی رشد این ماهی شده است. در بررسی مشابهی افزودن میزان ۱۲/۵ تا ۵۰ میلی‌گرم عصاره زردچوبه در هر کیلوگرم غذای میگوی سیاه ببری (*Penaeuse monodon*) منجر به افزایش مقاومت این میگوها در مواجهه با باکتری *Vibrio harveyi* گردید (Malar and Charls, 2013). Prasad و همکاران (۲۰۱۷) در یک بررسی، اثرات آنتی ژنوتوکسیک کورکومین را در خامه ماهی (*Channa punctatus*) در مسمومیت با فلز سنگین کروم گزارش نمودند.

سنجش سطوح آنزیم‌هایی نظیر آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) به‌طور وسیعی در ارزیابی آسیب‌های کبدی مورد بررسی قرار می‌گیرد. هرگونه آسیب به غشای سلولی سبب رهاسازی این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود. در این زمینه آلکالین فسفاتاز آنزیمی با عملکردهای متنوع بوده که در سلول‌های کبد، اپیتلیوم مجاری صفراوی و کلیه یافت می‌شود. سطح این آنزیم در اختلالات کبدی معمولاً افزایش می‌یابد (Banaei *et al*., 2011). اما در مواردی نیز گزارش‌هایی در رابطه با کاهش این آنزیم در مسمومیت‌ها نیز وجود دارد، به عبارت دیگر در مسمومیت‌ها هم کاهش و هم افزایش این آنزیم

ثبت‌شده است. Hoseini و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند مواجهه با منگنز سبب افزایش آلکالین فسفاتاز سرم خون در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) می‌شود. Banaei و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند استفاده از عصاره پونه باعث افزایش سطح آلکالین فسفاتاز سرم خون ماهی کپور معمولی می‌شود. Hoseini و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند مواجهه با یون مس کاهش سطح آلکالین فسفاتاز در سرم خون ماهی کپور معمولی را در پی دارد. وقوع آسیب‌های کبدی نظیر هپاتیت‌های ویروسی نکروز و صدمات عضلانی باعث افزایش سطح آسپارتات آمینوترانسفراز نیز در خون می‌شود اما آلانین آمینوترانسفراز که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند و روند تغییرات آن شاخص مناسب‌تری برای تشخیص آسیب‌های کبدی است (Drotman and Lawhorn, 1978). نتایج این مطالعه نشان داد افزودن زردچوبه باعث کاهش معنی‌دار سطح این آنزیم‌ها در سرم خون کپور ماهیان بعد از مواجهه با سولفات مس شد، به‌طوری‌که در تیمارهای تغذیه شده با ۱ و ۲ درصد زردچوبه در جیره کمترین مقدار آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در سرم خون اندازه‌گیری گردید. در عین حال در بررسی‌های بافت شناسی کبد و کلیه در ماهیان تغذیه شده با زردچوبه میزان آسیب‌های بافتی نسبت به گروه کنترل از شدت بسیار کمتری برخوردار بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزودن ۰/۵ تا ۲ درصد زردچوبه در جیره غذایی ماهی کپور معمولی می‌تواند آسیب‌های احتمالی وارده به بافت‌های کبد و کلیه این ماهیان را در زمان درمان با سولفات مس تا حد زیادی کاهش دهد. در این رابطه بررسی زیادی در ماهیان صورت نگرفته است اما در مواردی مشابه اثرات محافظتی زردچوبه در کبد موش‌های آزمایشگاهی در مواجهه با مسمومیت‌های هپاتوتوکسیک مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال در مطالعات Khodaparast و همکاران (۲۰۱۴) به موش‌های آزمایشگاهی داروی سیکلوفسفامید به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید یکی از عوارض جانبی این دارو آسیب‌های کبدی است که در بررسی مذکور اثرات حفاظتی کورکومین خوراکی (به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) در کاهش آسیب‌های کبدی در این موش‌ها گزارش شد. در بررسی دیگری تغذیه موش‌های آزمایشگاهی با ۲ درصد زردچوبه خوراکی منجر به کاهش معنی‌دار آسیب‌های کبدی در مسمومیت ناشی از استات سرب گردید، در این بررسی آنزیم های AST و ALT نیز در موش‌های تغذیه شده با زردچوبه پایین‌تر نسبت به سایر گروه‌ها ثبت گردید (Ayoubi *et al.*, 2014). در نهایت بر اساس نتایج بررسی حاضر و میزان ۰/۵ تا ۲ درصد زردچوبه در جیره غذایی کپور معمولی به‌خصوص در ماهیانی که در استخرهای خاکی پرورش می‌یابند و احتمال استفاده از سولفات مس در این استخرها وجود دارد پیشنهاد می‌گردد.

References

Acerete, L., Balasch, J., Espinosa, E., Josa, A., Tort, L., 2004. Physiological responses in eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237, 167-178.

Ahmad Mohammad, M., 2017. Influence of different levels of turmeric *curcuma longa* and red paprika *Capsicum annum* L. Supplements on Growth Promoter and Chemical Composition of Common Carp *Cyprinus carpio* L.. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 13(1), 55- 64.

Al-Sabri, I.Y.N., Smith, J.D., Thomas, J.D., 1993. Copper molluscicides for controls of schistosomiasis. Absorption by clay suspensions. *Journal of Environmental Science and Technology* 27, 299-303.

Ayoubi, A., Valizadeh, R., Omidi, A., Abolfazli, M., 2014. Evaluation of Turmeric (*Curcuma longa*) effects in preventing consequences of lead acetate in male rats. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 21(1), 68-76.

Azari Takami, Gh., 1996. Health management and disease prevention methods fish. Privar Publications, 304 p.

Banaei, M., Mirvaghefi, A.R. Rafei, G.R., Sureda Gomila, A., 2011. Effects of oral administration of silymarin on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources* 63(4), 271-286.

Banaei, M., Nemat dost Haghi, B., Shukat, P., 2016. The effect of oregano extract (*Mentha longifolia*) on blood biochemical factors and growth indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal Management system* 3(3), 39-55.

Behera, T., Swain, P., Sahoo, S.K., Mohapatra, D., Das, B.K., 2011. Immunostimulatory effects of curcumin in fish, *Labeo rohita* (H.). *Academia Journal of Agricultural Research* 4(9), 593-596.

Bickford, N., Hamilton, B., Hannigan, R., 2004. Trace-element chemistry of fish tissues: Uptake routes in genus *Moxostoma*. Environmental Geosciences 11(2), 77-85.

Chalkesh Amiri, M., 1997. Principles of water treatment. Publication of Ardakan, 413 p.

Drotman, R.B., Lawhorn, G.T. 1978. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug and chemical toxicology* 1(2), 163-171.

Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E., Diederich, M., 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer letters* 223(2), 181-190.

Eisler, R., 1998. Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report. USGS/BRD/BSR. 98 p.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317(1), 1-15.

Haughey, M.A., Anderson, M.A., Whitney, R.D., Taylor, W.D., Losee, R.F. 2000. Forms and fate of Cu in a source drinking water reservoir following CuSO4 treatment. *Water Research*, 34(13), 3440-3452.

Havens, K.E., 1994. An experimental comparison of the effects of two chemical Stressors on a freshwater zooplankton assemblage. *Environmental Pollution* 84, 245-25.

Hoseini, S.M., Hedayati, A., Ghelichpour, M., 2014. Plasma metabolites, ions and thyroid hormones levels, and hepatic enzymes' activity in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) exposed to waterborne manganese. *Ecotoxicology and environmental safety* 107, 84-89.

Hoseini, S.M., Hedayati, A., Mirghaed, A.T., and Ghelichpour, M., 2016. Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp (*Cyprinus carpio*). *Experimental and Toxicologic Pathology* 68(9), 493-503.

Keys, J. D., 1976. Chinese herbs (their botany, chemistry, and pharmacodynamics). Charles E. Tuttle Company. Inc., Tokyo 388 p.

Khodaparast, Z., Yousofi, A.R., Khoshvaghti, A., 2014. Investigation of Curcumin Effects on Liver Tissue in Adult Male Rats Treated with Cyclophosphamide. *Journal of Fasa University of Medical Sciences* 4(3), 344-352.

Mahmoud, M.M.A., El-Lamie, M.M.M., Dessouki, A.A., Yusuf, M.S., 2014. Effect of turmeric (*Curcuma longa*) supplementation on growth performance, feed utilization, and resistance of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Pseudomonas fluorescens* challenge. *Global Research Journal of Fishery Science and Aquaculture* 12(1), 26-33.

Malar, H.L.V., Charles, P.M., 2013. Effect of turmeric *Curcuma longa* linn. extract on immunity and resistance to *Vibrio harveyi* in black tiger shrimp *Penaeuse monodon*. *International Journal of Research in Zoology* 3(2), 21-26.

Marek, J., Szulkowska-Wojaczek, E., Czarna, Z., 1991. The effect of copper (Cu^{2+}) on carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in laboratory experiment. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 38, 485-494.

Masuda, T., Toi, Y., Bando, H., Maekawa, T., Takeda, Y., Yamaguchi, H., 2002. Structural identification of new curcumin dimers and their contribution to the antioxidant mechanism of curcumin. *Journal of agricultural and food chemistry* 50(9), 2524-2530.

Mazandarani, M., Sudagar, M., Somayeh Namroodi., 2015. Histopathological effects of acute copper sulphate exposure on kidney, liver and gill of common carp, *Cyprinus carpio*, fingerlings. *Journal of Aquatic Ecology* 5(1), 9- 16.

Mohamed, F.A.S. 2009. Histopathological Studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1(1), 29-39.

Prasad, R., Kumar, M., Trivedi, S.P., 2017. Antigenotoxic effect of turmeric powder extract curcumin against chromium trioxide induced genotoxicity in fish *Channa punctatus. Journal of Entomology and Zoology Studies* 5(1), 89-9.

Roberts, R.J., 2012. Fish pathology. 4th edition. *Wiley-Blackwell, UK*. 590 p.

Rowe, B.L., Prince, H.H., 1983. Behavioral response of mallards to contaminated drinking water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 30, 505-510.

Salakh Ghasemi, M.T., Khara, H., Jalilpour, Jalil., 2016. Impact assessment of potassium permanganate and copper sulfate on hematological and stress indices in (*Acipenser ruthenus). Aquatic Physiology and Biotechnology* 3(4), 62-76.

Saravanan, R., Pari, L., 2005. Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 5(1), 1-11.

Sodamola, M.O., Jimoh, W.A., Adejola, Y.A., Akinbola, D.D., Olanrewaju, A., Apiakason, E., 2016. Effect of turmeric (*Curcuma longa*) root powder (TRP) on the growth performance, hematology and serum biochemistry of African catfish (*Clarias gariepinus). Academia Journal of Agricultural Research* 4(9), 593-596.

Straus, D.L., C.S. Tucker. 1993. Acute toxicity of copper sulfate and chelated copper to channel catfish *Ictalurus punctatus. Journal of the World Aquaculture Society* 24, 390-395.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E.,

2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13(2), 57-149.

Winger, P.V., Imlay, M.J., McMillan, W.E., Martin, T.W., Takekawa, J., Johnson, W.W., 1984. Field and laboratory evaluation of the influence of copper-diquat on apple snails in southern Florida. *Environmental Toxicology and Chemistry* 3, 409-424.

Yang, C., Zhang, X., Fan, H., Liu, Y., 2009. Curcumin upregulates transcription factor Nrf2, HO-1 expression and protects rat brains against focal ischemia. *Brain research* 1282, 133-141.