

## تأثیر لوامیزول هیدروکلراید بر تعداد گلبول‌های سفید خون بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

\*سمیه بهرام<sup>۱</sup>، حبیب و هابزاده رودسری<sup>۲</sup> و سید روح‌ا... جوادیان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>مربی گروه مهندسی شیلات دانشگاه آزاد اسلامی - واحد قائمشهر، <sup>۲</sup>استادیار گروه مهندسی شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد لاهیجان،

### چکیده

استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی یکی از روش‌های موثر برای افزایش توانایی‌های حفاظتی ماهی می‌باشد. لوامیزول هیدروکلراید دارویی است که موجب تنظیم و تحریک سیستم ایمنی و افزایش گلبول‌های سفید ماهیان می‌شود. این تحقیق با هدف بررسی اثر داروی لوامیزول هیدروکلراید به‌عنوان محرک سیستم ایمنی در تحریک گلبول‌های سفید بچه‌تاس‌ماهی ایرانی به‌صورت حمام درمانی با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و به‌مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین تعداد گلبول‌های سفید در بچه‌ماهیان جوان، در تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر لوامیزول و تیمار شاهد به‌ترتیب برابر ۱۰۰۶۰، ۱۶۷۴۰ و ۱۸۳۲۰ بوده است. نتایج حاصله مؤید مؤثر بودن داروی لوامیزول هیدروکلراید در تحریک سیستم ایمنی بچه‌ماهیان است، به‌طوری‌که با استفاده از این ماده تعداد گلبول‌های سفید در واحد حجم خون به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

**واژه‌های کلیدی:** تاس‌ماهی ایرانی، تحریک سیستم ایمنی، گلبول‌های سفید، لوامیزول هیدروکلراید

### مقدمه

آبزی‌پروری یکی از راه‌های رسیدن به اهداف تغذیه‌ای در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (۱۴). در بین گونه‌های مختلف ماهیان که در پیکره‌های آبی کره زمین زیست می‌کنند ماهیان خاویاری، ماهیان گران‌بهای هستند. یکی از ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری که خاویار آن در دنیا از مرغوبیت خاصی برخوردار است تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) است. به‌دلیل صید بی‌رویه و از بین رفتن محیط‌های طبیعی تخم‌ریزی حفظ نسل این ماهی از طریق تکثیر و پرورش مصنوعی ضروری به نظر می‌رسد (۲). به‌همین دلیل هر ساله تعداد زیادی بچه‌ماهی حاصل از تکثیر مصنوعی این گونه به دریای خزر رهاسازی می‌گردد. شرایط نگهداری مصنوعی نوزادان ماهی می‌تواند موجب افزایش حساسیت آنها نسبت به آلودگی‌ها، تراکم کشت و تغییرات شرایط محیطی گردد، همچنین پاسخ‌های ناقص سیستم ایمنی که می‌تواند در اثر فقدان آنتی‌ژن‌ها باشد موجب بروز این حساسیت‌ها می‌شود (۱۰).

مواد محرک سیستم ایمنی گلبول‌های سفید خون (لکوسیت‌ها) را فعال می‌کنند. برای مثال اثر لوامیزول بر روی فعالیت نوتروفیل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. در این تحقیق ماهی قزل‌آلا در حمام دارویی ۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفت که در نتیجه این حمام دارویی نوتروفیل‌های ماهی فعال شد (۱۷). همچنین در تحقیق دیگری تغذیه ماهی کپور با ۵ میلی‌گرم لوامیزول به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن با فاصله ۳ روز (طی دوره ۱۵ روزه)، تعداد گلبول‌های سفید خون، عملکرد نوتروفیل‌ها و فعالیت لیزوزم سرم را افزایش داد (۱۵). چنین موادی مقاومت موجود را نسبت به بیماری‌های عفونی بیشتر می‌کنند و خطر شیوع بیماری را کم می‌کنند. این مواد افزایش مقاومت در موجود را به‌وسیله بالا بردن مکانیسم‌های دفاعی غیراختصاصی انجام می‌دهند (۱۲). در گذشته تحریک سیستم ایمنی در برخی از ماهیان به‌طور آزمایشی اثبات شده است (۳، ۱۶ و ۱۸). از میان این مواد لوامیزول دارویی است که موجب تنظیم و تحریک سیستم ایمنی (۵، ۹ و ۱۱)، تحریک و افزایش گلبول‌های سفید (۱۲ و ۱۴)، تحریک

\* مسئول مکاتبه: so.bahram@yahoo.com

لنفوسیت‌های T و نوتروفیل‌ها (۶، ۷ و ۱۱) در ماهیان می‌شود. بررسی کنونی در رابطه با تأثیر داروی لوامیزول هیدروکلراید بر سیستم ایمنی و گلبول‌های سفید خون بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) می‌باشد. داروی مورد نظر با عنایت به موارد ذکر شده و براساس شرایط قابل دسترس انتخاب شده است.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بچه تاس ماهیان ایرانی با وزن تقریبی ۳ گرم استفاده شد و نظارت بر آنها در کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری آغاز شد. بچه تاس ماهیان در ۲ گروه تیماری ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر لوامیزول و یک تیمار شاهد هر کدام با سه تکرار تقسیم شدند.

تغذیه بچه ماهیان با دافنی و لارو شیرونومید و به مقدار مساوی در هر وان، انجام می‌شد و در روزهای معدودی به دلیل بالا رفتن شدید درجه حرارت و کمبود دافنی و لارو شیرونومید در استخرها از ماهی تازه چرخ شده که در همان کارگاه تهیه می‌شد، جهت تغذیه بچه ماهیان استفاده شد.

تخلیه و نظافت وان‌ها نیز روزانه با قطع جریان آب و به‌روش سیفون کردن انجام می‌شد. در این بررسی بچه ماهیان به مدت ۷ روز تحت تأثیر حمام درمانی لوامیزول هیدروکلراید قرار گرفتند. این دارو پس از حل شدن در آب گرم و هم‌زمان با غذادهی و قطع جریان آب در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. علت هم‌زمانی مصرف دارو و غذادهی احتراز از دفعات احتمالی قطع جریان آب و بروز مشکل کمبود اکسیژن و نیز یکسان نمودن شرایط گروه‌های تیمار و شاهد بوده است.

جهت بررسی اثرات لوامیزول هیدروکلراید بر روی گلبول‌های سفید خون تعداد ۳۰ قطعه ماهی از هر تیمار (۱۰ قطعه ماهی از هر تکرار) و جمعاً ۹۰ قطعه ماهی از سه تیمار انتخاب و طی سه دفعه (هر دفعه ۳۰ قطعه بچه ماهی) و با رعایت شرایط صحیح انتقال از کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری به آزمایشگاه خون‌شناسی واقع در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر (ساری) منتقل شدند. لازم به ذکر است که بین دفعه اول

آزمایش با دفعه دوم و سوم فاصله زمانی به مدت ۴ روز به وجود آمد و بچه ماهیان طی این چهار روز به علت کمبود شدید لارو شیرونومید و دافنی با ماهی تازه چرخ شده تغذیه شدند. پس از انتقال بچه ماهیان به آزمایشگاه ابتدا قبل از خون‌گیری بچه ماهیان به آرامی تمیز، خشک و بیومتری گشته و پس از قطع ساقه دمی خون‌گیری و شمارش گلبول‌های سفید طبق روش (۱۳) انجام شد.

در تمام گروه‌های تیماری کلیه شرایط آماری (غذادهی و غیره) یکسان بود، در نتیجه طرح آماری مورد استفاده برای این تحقیق طرح Completely Randomized CRD (Design) بود.

از برنامه نرم‌افزاری SPSS برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به لکوسیت‌ها استفاده شد. مقایسه آماری میانگین تعداد گلبول‌های سفید بین گروه‌های تحت تیمار با لوامیزول و شاهد با آزمون دانکن صورت گرفت. مقایسه آماری میانگین طول کل و وزن بین گروه‌های تیماری و کنترل با آزمون دانکن انجام شد.

### نتایج

جدول ۱ مقایسه میانگین وزن تر و طول کل بچه ماهیان را در زمان خون‌گیری در گروه‌های مختلف تیماری و با استفاده از آزمون دانکن نشان می‌دهد. بر طبق نتایج حاصله بین میانگین وزن تر و نیز میانگین طول کل بچه ماهیان در گروه‌های مختلف تیماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

مقایسه میانگین تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده در لام ثوبار پیشرفته در هر میلی‌مترمکعب از خون بچه تاس ماهی در تکرارهای مختلف هر یک از گروه‌های تیماری با استفاده از آزمون دانکن انجام شد (جدول ۲). نتایج حاصله نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین تکرار اول با تکرارهای دوم و سوم هر یک از گروه‌های تیماری است.

مقایسه میانگین تعداد لکوسیت‌ها در گروه‌های مختلف تیماری با روش دانکن انجام شد که نتایج آن در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاصله بیانگر بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر لوامیزول ( $1177 \pm 18320$ ) است که علی‌رغم بالا بودن

تعداد گلبول‌های سفید در این تیمار نسبت به تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر لوامیزول ( $1060 \pm 16740$ ) اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار در سطح ۵ درصد دیده نمی‌شود. کمترین تعداد گلبول‌های سفید نیز در تیمار

جدول ۱- مقایسه میانگین وزن تر و طول کل بچه‌ماهیان در زمان خون‌گیری در گروه‌های مختلف تیماری

گروه‌های تیماری	وزن (گرم)	طول (سانتی‌متر)
شاهد	$0.26 \pm 3.05^a$	$0.44 \pm 9.98^a$
تیمار ۱۰ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول	$0.69 \pm 3.18^a$	$0.66 \pm 10.18^a$
تیمار ۵ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول	$0.56 \pm 3.88^a$	$0.81 \pm 10.34^a$

<sup>۱</sup> میانگین سه تکرار با انحراف معیار

جدول ۲- مقایسه میانگین<sup>۱</sup> تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌مترمکعب از خون بچه‌تاس‌ماهی ایرانی در تکرارهای مختلف هر یک از گروه‌های تیماری

گروه‌های تیماری	تکرار ۱	تکرار ۲	تکرار ۳
شاهد	$1647 \pm 8520^b$	$10750 \pm 1804^a$	$10910 \pm 1819^a$
تیمار ۱۰ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول	$1282 \pm 16990^b$	$18840 \pm 2186^a$	$19230 \pm 1846^a$
تیمار ۵ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول	$1365 \pm 15040^b$	$18020 \pm 1823^{ab}$	$17160 \pm 2154^a$

<sup>۱</sup> میانگین تعداد لوکوسیت‌های ۱۰ قطعه ماهی با انحراف معیار

جدول ۳- مقایسه میانگین<sup>۱</sup> تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌مترمکعب از خون بچه‌تاس‌ماهی ایرانی در گروه‌های مختلف تیماری

گروه‌های تیماری	۱	۲
شاهد	$1336 \pm 10060^b$	
تیمار ۵ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول		$16740 \pm 1060^a$
تیمار ۱۰ میلی‌گرم/لیتر لوامیزول		$18320 \pm 1177^a$

<sup>۱</sup> میانگین سه تکرار با انحراف معیار

## بحث

لیتر لوامیزول موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید در گروه تحت تیمار با لوامیزول نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین به‌کارگیری خوراکی لوامیزول در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید در گروه تحت تیمار با لوامیزول نسبت به تیمار شاهد شد (۱۵). در این تحقیق نیز تفاوت آشکار و عمده‌ای بین تعداد گلبول‌های سفید در گروه تحت تیمار با لوامیزول هیدروکلراید نسبت به تیمار شاهد دیده می‌شود که مطابق با نتایج حاصل از بررسی سایر محققین می‌باشد، به‌طوری‌که بر طبق نتایج حاصل از جدول ۳ بین تعداد گلبول‌های سفید تیمار شاهد و تیمار لوامیزول در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های تحت تیمار با لوامیزول ( $1177 \pm 18320$ ،  $1060 \pm 16740$  به ترتیب در تیمار ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر لوامیزول) و کمترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد ( $1336 \pm 10060$ ) دیده

استفاده از مواد محرک سیستم ایمنی نظیر لوامیزول هیدروکلراید یکی از روش‌های مؤثر برای افزایش توانایی‌های حفاظتی ماهیان می‌باشد (۶). از شاخص شناسایی اثرات لوامیزول هیدروکلراید در تحریک سیستم ایمنی ماهیان، تعیین تعداد و تراکم گلبول‌های سفید در واحد حجم خون است، به‌طوری‌که این دارو موجب تحریک و افزایش تعداد گلبول‌های سفید (۳، ۸ و ۱۵) و نیز افزایش پارامترهای دفاعی غیراختصاصی (۴، ۹ و ۱۱) می‌شود. برای مثال حمام درمانی ماهی یک‌ساله باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) با لوامیزول در مقادیر ۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر موجب تفاوت و افزایش در تراکم گلبول‌های سفید گروه تحت تیمار با لوامیزول نسبت به تیمار شاهد شد (۸). در تحقیقی که توسط وهاب‌زاده، ۱۳۸۲ انجام شد حمام درمانی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با دوز ۵ میلی‌گرم بر

گلبول‌های سفید مشاهده شد که با توجه به مطالب مذکور موجب افزایش گلبول‌های سفید (لکوسیت‌ها) شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که استفاده از داروی لوامیزول هیدروکلراید در تحریک سیستم ایمنی بچه‌تاس ماهی ایرانی که از شاخص‌های آن تعیین تعداد لکوسیت‌ها می‌باشد، مؤثر است.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس بینائی به‌علت همکاری در تجزیه و تحلیل کارشناس محترم آزمایشگاه به‌دلیل همکاری‌های صمیمانه در زمینه خون‌شناسی، از آقای مهندس رضائی در آماری و از آقای دکتر فارابی عضو هیئت علمی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر به‌دلیل همکاری در کلیه مراحل کار کمال امتنان به‌عمل می‌آید.

می‌شود. این نتیجه مؤثر بودن داروی لوامیزول هیدروکلراید در تحریک سیستم ایمنی و در نهایت تحریک و افزایش گلبول‌های سفید است. گلبول‌های سفید ماهیان در عمل فاگوسیتوز پاسخ ایمنی بدن نسبت به عوامل انگلی، باکتریایی و ویروسی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۱). در این تحقیق براساس اطلاعات جدول ۲، بین تعداد گلبول‌های سفید تکرار دوم و سوم هر یک از گروه‌های تیماری با تکرار اول اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود داشت علت این اختلاف شاید فاصله زمانی بین آزمایش‌های سری اول با سری دوم و سوم (فاصله ۴ روزه) و تغذیه بچه تاس ماهیان در طی چهار روز با ماهی چرخ شده باشد، زیرا ماهیان نتوانستند این غذا را به خوبی هضم کنند و یک حالت تورمی در بدن آنها در مراحل آخر از عملیات خون‌گیری و شمارش

### منابع

- ۱- تاکاشیما، اف.، ۱۹۹۴. اطلس بافت‌شناسی ماهی. ترجمه الف. پوستی و ع. صدیق مروستی. انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۸. ۳۲۸ صفحه.
- ۲- وثوقی، غ.، و مستجیر، ب.، ۱۳۷۶. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۷ صفحه.
- ۳- وهاب‌زاده رودسری، ح.، ۱۳۸۲. ارزیابی کارایی پراکسید هیدروژن و لوامیزول هیدروکلراید در تیمار تخم‌ها و نوزادان تاس‌ماهی ایرانی و کپور چینی. رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان. ۱۰۷ صفحه.
4. Anderson, D.P., and Jeney, G., 1992. Immunostimulants added to inject *Aeromonas salmonicida* bacterin enhance the defense mechanisms and protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 34: 379-389.
5. Baba, T., Watase, Y., and Yoshinaga, Y., 1993. Activation of mononuclear phagocyte function by levamisole immersion in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59:301-307.
6. Cipriano, R.C., and Pyle, S.W., 1985. Adjuvant dependent immunity and agglutination response of fishes against *Aeromonas Salmonicida*, cause of furunculosis. *Canada Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42:1290-1295.
7. Jeney, G., and Anderson, D.P., 1993. Enhanced immune response and protection in rainbow trout to *Aeromonas salmonicida* bacterin following prior immersion in immunostimulants. *Fish and Shellfish Immunology* 3:51-58.
8. Jeney, G., Galeotti, M., and Volptii, D., 1994. Effect of immunostimulation on the non-specific immune response of Seabass (*Dicentrarchus labrax*). *International symposium on aquatic animal's health .program and abstracts*, p.76.
9. Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., and Kobayashi, M., 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology* 25: 93-98.
10. Kolman, R., Siwicki, A.K., Kolman, H., and Szczepkowski, M., 1996. The effect of levamisole on survival of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) fry in water recirculation system. *Archives of polish fisheries* 4(1): 37-44.
11. Mulero, V., Esteban, M.A., Munoz, J., and Mesesguer, J., 1998. Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of marie teleost gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 8:49-62.
12. Sakai, M., 1998. Current research study of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172:63-92.
13. Simmons, A., 1997. Hematology, Simmons, Butterwoath-Heinemonn, pp: 507.
14. Siwicki, A.K., 1987. Immunomodulating Activity of levamisole in carp spawners, (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fish Biology* 31A: 245-246.

- 15.Siwicki, A.K., 1989. Immunomodulating influence of levamisole on nonspecific immunity in carp (*Cyprinus carpio*). *Development and Comparative Immunology* 13:87-91.
- 16.Siwicki, A., Kossarini, K., and Dunier, M., 1990. Effect of levamisole on the lymphocytes and macrophage activity of Carp (*Cyprinus carpio*), *Annales de recherches veterinaries* 21: 95-100.
- 17.Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Dixon, O.W., 1992. Invitro effect of levamisole on the neutrophil activity in rainbow trout (*Oncorhync mykiss*) *Arch Immund. ther. EXP.* 1992. 40(5-6): 253-256.
- 18.Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Studnika, M., 1994. The immune system of fish, *Arch. Ryb. Pol.* 2, 6279.

---

## The Effect of Levamisole Hydrochloride on Leukocytes of Persian Sturgeon (*Acipenser Persicus*) Fry

\*S. Bahram<sup>1</sup>, H. Vahabzade Roodsari<sup>2</sup> and R. Javadian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instructor, Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch,

<sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Fisheries Islamic Azad University, Lahijan Branch

---

### Abstract

The use of immune-stimulants is an effective way of increasing protective-ability in fish. Levamisole hydrochloride is a drug which causes regulation immunostimulation and increases fish's white blood cells (Leukocytes). This research was performed to consider the effects of levamisole hydrochloride in activate Persian Sturgeon (*Acipenser Persicus*) Fry Leukocyte as a immunostimulator, Two treatment's: 5mg/lit and 10mg/lit levamisole applied on daily bath for 20 min. The results have shown that average W.B.C count of young was 18320, 16740 and 10060 in the 10 and 5mg/lit levamisole treated groups and control respectively. The results of this study demonstrate that levamisole was capable of significantly increasing WBC count.

**Keywords:** Persian sturgeon; Immunostimulation; Leukocyte; Levamisole Hydrochloride