مجله شیلات
سال اول، پیش، شماره چهارم، زمستان ۸۶

# شمارش لوکوسیت‌های خون کفال طلایی (*Liza auratus*) طی مهاجرت تولید مثلی

*حبیب وهاب‌زاده‌رودسری[۱]، علی‌اصغر سعیدی[۲]،
فاطمه خیاط[۱] و عالیه چالکش‌کریمی[۱]
[۱]گروه مهندسی شیلات دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان، [۲]ایستگاه تحقیقات اکولوژی دریای خزر، خیرود نوشهر
*E-mail: habib.vahabzadeh@gmail.com

## چکیده

۳۰ قطعه ماهی کفال طلایی (*Liza auratus*) از آبان تا نیمه اول دی ماه ۱۳۸۳، از ٤ ایستگاه در اندازه‌های مختلف در منطقه غرب مازندران توسط تور پره نمونه‌برداری شد. پس از بیهوشی ماهیان با $MS_{222}$ خونگیری از ماهیان انجام شد و نمونه‌های خون برای شمارش گلبول‌های سفید در لام نئوبار و شمارش افتراقی (لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل، گرانولوسیت و سلول‌های نابالغ) در گسترش به آزمایشگاه منتقل گردید. تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌مترمکعب خون در رده‌های طولی I (۲۷-۲۲ سانتی‌متر)، ۱۵۵۵۰ ± ٤۳۲۲۵، در رده طولی II (۳۳-۲۷ سانتی‌متر)، ۱٦٦۸۰ ± ٤٦۷٦٦ و در رده طولی III (٤۰-۳۳ سانتی‌متر)، ۱۵۸۷۰ ± ٤٤۲۵۰ شمارش گردید. درصد فراوانی لنفوسیت در کلاسه طولی I، II و III به‌ترتیب ۹۸، ۹۷ و ۹۷ درصد بود. میانگین تعداد نوتروفیل‌ها در کلاسه طولی I۲درصد و در دو کلاسه طولی دیگر ۳ درصد بود. از نمونه‌های مورد آزمایش مونوسیت و ائوزونوفیل مشاهده نشد. در مقایسه تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های طولی مختلف، اختلاف بین تعداد گلبول‌های سفید معنی‌دار نبود. در حالت طبیعی این وضعیت معمولاً در یک جمعیت از یک گونه ماهی که تقریباً به مرحله بلوغ رسیده‌اند و یا یک مرحله اختلاف دارند دیده می‌شود. در کفال اوراتوس لنفوسیت غالباً در اندازه کوچک دیده شد. لنفوسیت‌های بزرگ کمتر دیده شدند. تعداد هسته‌ها در نوتروفیل اغلب بین ۳-۲ قطعه مشاهده گردیدند و هسته‌های ٤ و ۵ قطعه‌ای کمتر دیده شدند، اما از نظر اندازه بزرگتر از لنفوسیت‌ها بودند. هسته در لنفوسیت متراکم و پر رنگ و شدیداً بازوفیلیک دیده شد. تعداد گلبول‌های سفید کفال طلایی دریای خزر در ۳-۲ سال اخیر در مقایسه با حالت طبیعی کفال به نصف تقلیل پیدا کرده است، در واقع کفال با لکوپنی شدید مواجه شده است.

***واژه‌های کلیدی:*** کفال طلایی، لوکوسیت، شمارش افتراقی، مهاجرت تولید مثلی.

## مقدمه

استفاده از یافته‌های خون‌شناسی در تشخیص بیماری‌ها امری است غیرقابل انکار و از دهه ۸۰ میلادی به بعد در مورد آبزیان نیز کاربرد خود را نشان داده است. به‌طوری‌که با استفاده از الگوی خونی مربوط به یک ماهی بیمار و مقایسه آن با الگوی طبیعی آن گونه به‌راحتی می‌توان به وجود بیماری پی برد و راهکار مناسب برای درمان آن را پیدا کرد.

امروزه کشورهای پیشرفته در این علم به‌دلیل تلاش بیشتر و امکانات بهتر پیشرفت زیادی داشته‌اند ولی در ایران بدلیل جوان بودن این علم تنها چند کار تحقیقاتی که بیشتر توسط گروه‌های خاصی صورت گرفته تحقیقات زیادی دیده نمی‌شود. در این تحقیق از کفال طلایی (*Liza auratus*) در صیدگاه‌های منطقه غرب استان مازندران جهت تعیین تابلوی خونی، الگوی طبیعی و نرمال خون ماهی کفال دریای خزر و تهیه اطلاعات پایه خون‌شناسی به‌خصوص طی مدت زمان مهاجرت و

تخم‌ریزی این گونه در سواحل جنوبی دریای خزر نمونه‌برداری و بررسی شد. به‌طوری‌که بتوان با در دست داشتن وضعیت طبیعی و نرمال فاکتورهای خونی در این ماهی به یک الگوی خونی مناسب رسید و در موارد مشکوک شدن به بیماری یا سایر وضعیت‌های زیستی اعم از مهاجرت تولید مثل و تغذیه با مقایسه با الگوی طبیعی به وضعیت طبیعی یا غیرطبیعی ماهی بتوان پی برد. میزان ذخایر *L.auratus* مناسب و از نظر صید شیلاتی دارای ارزش فراوانی است و در سال‌های اخیر با توجه به عرضه کم سایر ماهیان فلس‌دار مخصوصاً ماهی سفید و تقاضای بیش از اندازه مردم ماهی کفال توانست تا حدود قابل توجه‌ای پاسخگوی نیازمندی‌های مردم باشد.

مهاجرت از نظر زمانی طولانی بوده و مسیرهای آن در مقایسه با مهاجرت کفال ماهیان دریای سیاه تقریباً دو برابر افزایش یافته است. کفال ماهیان دریای خزر نرها در سن ۳ سالگی و ماده ها در سن ٤ سالگی به بلوغ جنسی می‌رسند. طبق بررسی‌های به‌عمل آمده در سال ۱۹۷٦ تا ۱۹۸۰ ماده‌های بالغ (مرحله ٤ رسیدگی) جوان‌تر از سه سال در گله‌ها مشاهده شده است، در میان نرهای بالغ هم تعداد زیادی از نمونه‌های دو ساله گزارش شده است، در روزهای قبل از تخم‌ریزی و دوران تخم‌ریزی در میان ماهیان ماده که گنادهای آنها در مراحل بین ٤ و ۳ رسیدگی قرار داشت، سنین $^{+}$۳ سال به‌طور متوسط ۳۹ درصد، $^{+}$٤ سال ۲۵ درصد و $^{+}$۵ سال، ۱٦ درصد را تشکیل می‌دادند. ۲۰ درصد بقیه متعلق به ماهیان ٦ تا ۹ ساله بوده است، از اختصاصات کفال ماهیان می‌توان به رشد نسبتاً سریع و فعال گامت‌های جنسی اشاره نمود. به این ترتیب بلوغ جنسی ماده‌ها از مراحل ۲ تا ۳ به مرحله ٤ رسیدگی، به‌طورکلی ۱/۵ تا ۲ ماه طول می‌کشد (۸ و ۵).

خون بافتی حساس نسبت به تغییرات ایجاد شده در موجودات زنده است و در تحقیقات ماهی‌شناسی کاربرد وسیعی دارد. البته باید مدنظر داشت که کارهای انجام شده بیشتر در ماهیان پرورشی یا ماهیانی که به نحوی امکان نگهداری آنها در محیط بسته میسر بود صورت گرفته است. گروهی از این تحقیقات جهت تشخیص بیماری‌ها در این موجودات زنده است و این امر میسر نیست مگر آنکه ابتدا نکاتی در زمینه فیزیولوژی و مقدار نرمال فاکتورهای خونی به‌دست آورد. در بعضی موارد هم با اثر دادن ماده شیمیایی، تأثیرات آنرا برروی ماهی‌ها بررسی کردند. از آنجا که هر گونه از ماهیان دارای الگوی خاص خونی‌اند و هر عاملی استرس‌زایی برروی میزان این فاکتورها تأثیر می‌گذارد کار در این زمینه با مشکل روبه رو شده است و از سرعت تحقیقات کاسته است.

در ایران نیز کارهایی برروی ماهیان خاویاری انجام شد که تعیین فاکتورهای خونی ماهی‌ازون برون (*Acipenser stellatus*) در سواحل شرقی دریای خزر (٤) و مقایسه سلول‌های خونی در ماهیان چالباش، قره برون و فیل‌ماهی (۲) مقایسه پاسخ‌های هماتولوژی در ماهیان خاویاری در شرایط محیطی مختلف (۳)، اثرات محرک‌های سیستم ایمنی بر تعداد لکوسیت‌ها (٦) را می‌توان نام برد.

در کانادا برروی قزل‌آلای قهوه‌ای وحشی (*Salmo trutta*) در فصل تخم‌ریزی تحقیقاتی کرده و تعداد گلبول‌های سفید و قرمز را به‌دست آوردند و با حالات عادی جاندار مقایسه کردند (۱۳).

از این قبیل کارهای تحقیقاتی در جهان بسیار انجام می‌گیرد و در ایران نیز کم‌کم، جای خود را در بین تحقیقات باز می‌کند. گلبول‌های سفید (Leucocytes) نسبت به گلبول‌های قرمز، خیلی کمتر هستند و در سیستم دفاعی و ایمنی بدن، دخالت دارند. اندازه و تعداد آنها در انواع ماهیان مختلف است. در یک تقسیم‌بندی کلی آنها را به دو دسته تقسیم می‌کنیم.

در خون ماهیان چندین نوع گلبول سفید چند هسته‌ای وجود دارد اگر چه تاکنون نام‌گذاری مشخصی، برای این سلول‌ها، به‌عمل نیامده است ولی با توجه به شباهت آنها با گلبول‌های پستانداران به همان نام نامیده می‌شوند. اکثر ماهیان نوتروفیل‌ها را دارند. این‌ها در ماهیان بیشترین

مقدار گلبول‌های چند دسته‌ای را تشکیل می‌دهند (بجز ماهی بادکنکی puffers).

وظیفه نوتروفیل‌ها دفاع بر علیه عفونت‌های باکتریایی است. در مارماهی مهاجر ژاپن *Anguilla japonica* دیده شده که میزان گلیکوژن سیتوپلاسمی در عفونت‌های باکتریایی افزایش می‌یابد. (۱۲ و ۱).

بازوفیل‌ها با هسته‌های رنگ‌پذیر در کنار و دانه‌های بزرگ قابل تشخیص هستند. این سلول‌ها بیشتر در کپور ماهیان (Cyprinidae) و بادکنک ماهیان (Tetoraodontidae) دیده می‌شوند. بازوفیل‌ها در ماهیان حرکات زیاد و فعالی دارند. این سلول‌ها در مرحله حاد جراحات تورمی ظاهر می‌گردند. این سلول‌ها دارای قدرت فاگوسیتی کمی می‌باشند. طبیعت ساختمان شیمیایی پلی‌ساکاریدها در دانه‌های آنها معلوم نیست، بنابراین اثر آنها در تورم هنوز مشخص نشده است.

دانه‌های ائوزینوفیل‌ها با رنگ‌های ائوزینوفیلی رنگ می‌گیرند. در پستانداران عمل آنها حمله به انگل‌هاست در ماهی‌ها هم احتمالاً چنین عملی را انجام می‌دهند. میزان ائوزینوفیل در گونه‌های مختلف بسیار متفاوت است، فرم تیپیک آن در گیش دم زرد (*Seriola quinqueradiata*) مشاهده می‌شود. در ماهیان خاویاری نیز این سلول‌ها دیده شده است (۳). در ماهی حوض (*Carassius auratus*) نیز این مقدار بین ۸-۳ درصد گزارش شده است (٤).

میزان این سلول‌ها در عفونت‌های انگلی افزایش می‌یابد به‌طوری‌که در یک بررسی انجام شده برروی ماهیان خاویاری ائوزینوفیلی ۸۰ درصد گزارش شده بود که این‌ها آلوده به کرم *spaerrocephala cucullanus caspicus* بوده‌اند (۲).

هسته در گلبول‌های سفید تک هسته‌ای (بدون دانه Nongranalar) یک قطعه است و به دو گروه مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها تقسیم می‌شوند. مونوسیت‌های ماهیان مانند پستانداران عمل ماکروفاژی دارند. در گسترش خونی مونوسیت‌ها بزرگترین و بی‌شکل‌ترین سلول‌های خونی را تشکیل می‌دهند. یک هسته بزرگ با شبکه کروماتین ظریف در آنها دیده می‌شود. سیتوپلاسم آنها بازوفیلی کمرنگ و اغلب دارای فاگوزم است.

سلول‌های لنفوسیت از سلول‌های مهم ایمنی می‌باشند که به دو دسته B و T تقسیم می‌شوند. سلول‌های B قابل تبدیل به پلاسماسل نیز هستند و در تولید آنتی بادی دخالت دارند. سلول‌های T در کنترل پاسخ‌های ایمنی دخالت دارند.

در آماس‌هایی که به‌صورت تجربی ایجاد شده تعداد آنها در حالت حاد کاهش و در حالت مزمن افزایش یافته است. استرس تعداد لنفوسیت‌ها را کاهش داده و کورتیکوئیدها سبب لنفوپنی (کاهش لنفوسیت Lymphopenia) می‌شود. در آزاد ماهیان تعداد لنفوسیت‌های خون با بلوغ جنسی کاهش می‌یابد. هیپروتروفی غدد فوق کلیوی باعث کاهش لنفوسیت‌ها می‌شود (۱۳).

پلاکت‌ها مانند پلاکت‌های خونی پستانداران هستند و نقش آنها نیز در انعقاد خون است. این سلول‌ها بیضوی یا دوکی شکل با زوائد سیتوپلاسمی که در هر یک از دو انتهای سلول وجود دارند، قابل تشخیص هستند، این سلول‌ها دارای مقدار کمی سیتوپلاسم و هسته‌ای بیضی شکل و بزرگ با شبکه‌ای از کروماتین دانه‌دار مشاهده می‌شوند.

## مواد و روش‌ها

در نمونه‌برداری‌های انجام شده، ماهی کفال توسط تورپره در منطقه آب‌های غرب استان مازندران صید شد، پس از جداکردن ۳۰ قطعه از گونه مورد نظر (کفال طلایی) از سایر گونه‌ها به داخل وان پلاستیکی با حجم ۵۰ لیتر حاوی آب دریا منتقل شد، برای جلوگیری از هر گونه تغییرات در پارامترهای هماتولوژیک ماهیان مورد مطالعه از ماده بیهوشی $MS_{222}$ با دوز ۱۰۰ppm استفاده شد، پس از بیهوشی، خونگیری از ماهی انجام می‌شد. نمونه‌برداری از خون از ناحیهٔ ساقه دمی پشت مخرج با

استفاده از سرنگ پلاستیکی استریل شفاف با حجم ۵ سانتی‌متر مکعب انجام شد. مقدار خون مورد نیاز با توجه به تعداد آزمایش‌ها، ۱-۰/۵ میلی‌لیتر بود. پس از خونگیری بلافاصله سر سوزن از سرنگ جدا می‌شد و خون داخل سرنگ به آرامی از دیواره داخل لوله جمع‌آوری خون که حاوی ماده ضد انعقاد هپارین بود. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در کنار یخ، سریعاً به آزمایشگاه هماتولوژی ایستگاه تحقیقات اکولوژی دریای خزر نوشهر (خیرود) منتقل می‌گردید.

برای تهیه لام (گسترش خونی) بلافاصله بعد از خونگیری یک قطره خون را نزدیک به انتهای یک لام تمیز ریخته شد آنگاه لبه عرضی لام دیگری را با زاویه ۳۰ تا ٤۰ درجه از بالا به سمت قطره خون نزدیک کرده و وقتی لبه لام بالایی با قطره خون تماس پیدا کرد لام با سرعتی یکنواخت روی لام پایینی کشیده و به این ترتیب گسترشی از خون به‌دست آمد.گسترش‌های تهیه شده در محیط تمیز و دور از آلودگی و در دمای محیط خشک شدند تا برای فیکس و تثبیت کردن آماده شوند.

پس از خشک شدن گسترش‌های خونی تهیه شده، بلافاصله تثبیت برای این کار گسترش‌های تهیه شده را در مکان مناسبی قرار دادیم و با استفاده از سمپلر ۱۰ لاند ۱ برروی سطوح آنها الکل متانول ریخته شد تا به‌طور یکنواخت در سطح گسترش پخش شود. بعد از خشک شدن گسترش‌ها اقدام به رنگ‌آمیزی شد. بعد از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با گیمسا توسط میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰× مورد بررسی قرار گرفت.

برای مشاهده و تشخیص سلول‌های خونی از هم رنگ‌آمیزی گسترش‌های خونی انجام شد. برای این‌کار، بعد از قرار دادن گسترش‌های تهیه شده در مکان مخصوص رنگ‌آمیزی با استفاده از قطره چکان برروی سطوح آنها به‌صورت یکنواخت محلول گیمسا اضافه شد و بعد از گذشت زمان ۱۵-۱۰ دقیقه با آب خنثی شستشو، در هوای آزمایشگاه خشک، را در کاغذهای تمیزی پیچیده شد و درون جعبه‌های مخصوص نگهداری منتقل شدند. (٤).

لام‌های رنگ‌آمیزی شده بوسیله میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ روغن ایمرسیون (میزان یک قطره) مورد بررسی قرار داده شد. تعداد ۱۰۰ عدد لکوسیت در گسترش مورد بررسی شمارش افتراقی شد. پس از شمارش افتراقی و شمارش لکوسیت‌ها، میانگین و انحراف معیار تعداد لکوسیت‌ها و هر یک از لکوسیت‌های تفریق شده تعیین گردید.

برای شمارش تعداد لکوسیت‌ها از ملانژور سفید ماده رقیق‌کننده Rees استفاده می‌شود. برای همگن کردن لکوسیت‌ها در مخزن و جلوگیری از خطای شمارش ملانژور به مدت ۲-۱ دقیقه برروی دستگاه Shaker (دستگاه تکان‌دهنده) قرار گرفت. سپس لام شمارش (نئوبار) آماده و لام سنگی برروی آن قرار گرفت یک تا دو قطره خون داخل ملانژور بیرون ریخته و سپس قطره سوم به گونه‌ای بین لام و لامل قرار می‌گرفت که فقط فضای محل شمارش از آن پر می‌شد.

پس از گذشت چند ثانیه و تثبیت لکوسیت‌ها در خانه‌های شمارش لام تعداد آن‌ها در ٤ مربع ١٦ تایی لام شمارش می‌شد. سپس تعداد لکوسیت‌های شمارش شده را در ۵۰ ضرب کرده تا تعداد واقعی لکوسیت‌ها در میلی‌متر مکعب به‌دست آید اما به جهت تعداد لکوسیت درخون ماهی و سهولت کار از ملانژور قرمز با رفت $\frac{۱}{۲۰۰}$ استفاده گردید. لکوسیت‌های به‌دست آمده را در عدد ۵۰۰ ضرب کرده تا تعدادی واقعی لکوسیت‌ها در میلی‌متر مکعب به‌دست آید. برای شمارش گلبول‌های قرمز و سفید معمولاً از لام نئوبار (هماتوسیتومتر) استفاده شد.

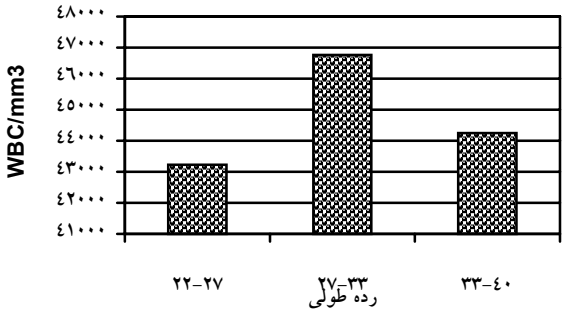
## نتایج

**تعداد گلبول‌های سفید**: حداقل تعداد گلبول‌های سفید در کفال اوراتوس ۵۳۰۰ عدد و حداکثر ۱۲۵۵۰۰ میلی‌متر مکعب مکعب خون مشاهده گردید، میانگین تعداد

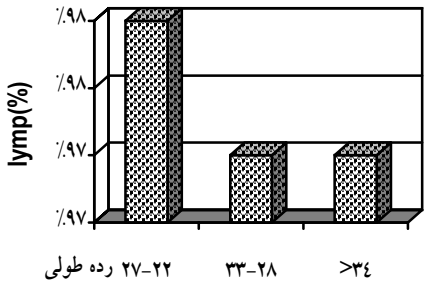
لوکوسیت در کفال طلایی ۱۶۰۳۳/۳±۴۴۷۴۷ اندازه‌گیری شده است، حداکثر تعداد گلبول سفید در شمارش افتراقی تا ۹۷ درصد به لنفوسیت تعلق دارد و ۳ درصد بقیه لوکوسیت به نوتروفیل مرتبط می‌باشد و مونوسیت و ائوزینوفیل مشاهده نشد.

**جدول ۱- تعداد گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی آنها در کفال طلایی در کلاس‌های طولی و میانگین وزنی مختلف**

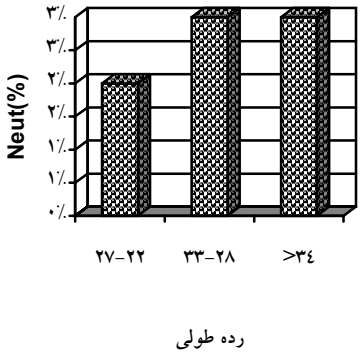
| انحراف معیار | مونوسیت | آئوزنوفیل | نوتروفیل درصد | لنفوسیت درصد | تعدادگلبول سفید/$mm^3$ | وزن (گرم) | رده‌طولی(سانتی‌متر) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱۵۵۵۰ | – | – | ٪۲ | ٪۹۸ | ۴۳۲۲۵ | ۱۷۳/۷۵ | ۲۲-۲۷ |
| ۱۶۶۸۰ | – | – | ٪۳ | ٪۹۷ | ۴۶۷۶۶ | ۳۲۰/۲۶ | ۲۷-۳۳ |
| ۱۵۸۷۰ | – | – | ٪۳ | ٪۹۷ | ۴۴۲۵۰ | ۵۳۱/۶۶ | ۳۴-۴۰ |




**نمودار ۱- تعداد گلبول سفید در کلاسه‌های طولی مختلف در کفال طلایی**




**نمودار ۲- میانگین درصد لنفوسیت‌ها در کلاسه‌های طولی مختلف کفال طلایی**




**نمودار ۳ - میانگین درصد نوتروفیل‌ها در کلاسه‌های طولی مختلف**

**جدول ۲- نتایج فاکتورهای بیومتری و خونی در ماهی کفال طلایی.**

| نام فاکتور | میانگین | انحراف معیار نمونه‌ای | کمترین مقدار | بیشترین مقدار | خطای استاندارد |
|---|---|---|---|---|---|
| طول کل (سانتی‌متر) | ۳۳/۰۱ | ٤/۲٦ | ۲٦ | ٤٤ | ۰/۰٦۸ |
| طول استاندارد (سانتی‌متر) | ۲۷/۱۱ | ۳/۹٤ | ۲۰ | ۳٦ | ۰/۰٦٦ |
| طول چنگالی (سانتی‌متر) | ۲۹ | ٦/۰۹ | ۲۲ | ٤۰ | ۰/۰۸۲ |
| وزن (گرم) | ۳۱۷/۸ | ۱٤۰/٤۱ | ۱۳۰ | ٦۳۰ | ۰/۳۹٤ |
| گلبول سفیددر $mm^3$ | ٤٦۰۲٦/٦٦ | ۲۲۱٤٦/٦۲ | ۵۳۰۰ | ۱۲۵۵۰۰ | ٤/۹٦ |

## بحث و نتیجه‌گیری

در آلمان اثرات سوء قارچ‌کش‌ها روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تحقیق به‌عمل آمد که از دوز غیرکشنده قارچ‌کش تری فنیل تین استات (TPTAC) استفاده کردند که ماهی‌ها را در غلظت‌های مختلف و زمان‌های متفاوت قرار داده و در Doses مختلف نتایجی متفاوت مثل افزایش هموگلوبین، پلاکت و افزایش اریتروسیت‌ها را به‌دست آوردند (١٤).

در بررسی که برروی ماهی قزل آلای رنگین کمان آلوده به کرم *Proteocaphelus neglectus* انجام گرفت، مشاهده شد که تمام فاکتورهای خونی از قبیل هموگلوبین، هماترکریت، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و پلاکت‌ها تغییر کرده‌اند (۹). در بررسی دیگر که برروی آزاد ماهی چام *Oncorhynchus keta* در آمریکا صورت گرفت مشاهده کردند که ماهی‌های آلوده به ویروس نکروز اریتروسیت‌ها Erythrocytic necrosis virus حجم اریتروسیت کم و تعداد لکوسیت (گلبول سفید) بیشتر شمارش گردید (۱۰).

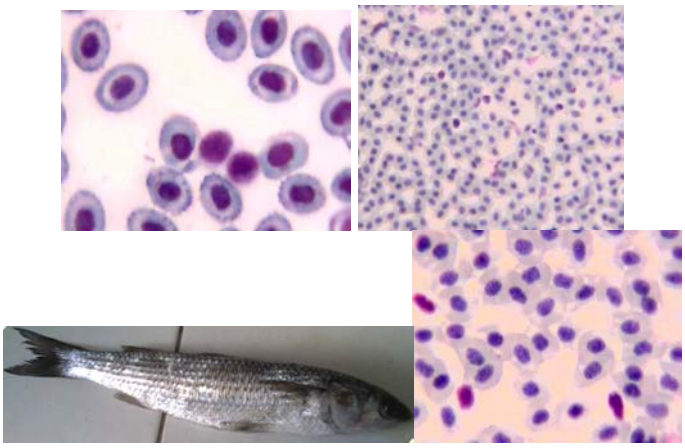
در مقایسه تعداد گلبول‌های سفید در کلاسه‌های طولی مختلف، اختلاف بین تعداد لوکوسیت‌ها معنی‌دار نبوده و در حالت طبیعی این وضعیت معمولاً در یک جمعیت از یک گونه ماهی که تقریباً به مرحله بلوغ رسیده‌اند و یا یک مرحله اختلاف دارند، دیده می‌شود و آن وقت است که تا تغییرات هماتولوژیک در یک گونه و در یک مرحله از تکامل جنسی مشاهده می‌شود و یا بین تعداد گلبول‌های سفید و وزن ماهی همبستگی مثبت وجود ندارد و یا بسیار ضعیف است (R=۰/۱) و از نظر فیزیولوژیک هم ارتباط تغییرات هماتولوژیک در یک گونه ماهی در شرایطی که پارامترهای زیستی (محیطی) ثابت باشد با جنسیت، (ماده و نر) و مراحل تکامل جنسی در ماهیان مختلف (بالغ و غیر بالغ) دیده می‌شود.

در شمارش افتراقی لکوسیت‌ها در کفال اوراتوس بیشترین تعداد لکوسیت‌ها به لنفوسیت‌ها تعلق دارد و مشاهده شد که ۹۷ درصد از لکوسیت به لنفوسیت تعلق دارد و ۳-۲ درصد را نوترفیل یا لکوسیت‌ها چند هسته‌ای گرانولی شامل می‌گردد. از نظر اندازه در کفال اوراتوس لنفوسیت غالباً در اندازه کوچک دیده شدند و لنفوسیت‌های بزرگ کمتر دیده شدند.

تعداد هسته‌ها در نوتروفیل اغلب بین ۳-۲ قطعه مشاهده گردیدند و کمتر هسته‌های ٤ و ۵ قطعه‌ای دیده شدند، اما از نظر اندازه در مقایسه با لنفوسیت‌ها بزرگتر بودند. هسته در لنفوسیت متراکم و پر رنگ و شدیداً بازوفیلیک دیده شد، تغییرات تعداد گلبول‌های سفید در کفال اوراتوس (کفال طلایی) در شرایط دریای خزر در سال‌های اخیر با توجه به آلودگی ویروسی کفال ماهیان در سال‌های اخیر (۳-۲ اخیر) در مقایسه با حالت طبیعی کفال دیده شده است و تعداد لکوسیت‌ها به نصف تقلیل پیدا کرده بودند، در واقع کفال با لکوپنی شدید مواجه شده بود.

این حالت ممکن است به آن علت باشد، که ویروس انگل اجباری داخل سلولی هستند و با از بین بردن لکوسیت‌ها بافت‌های خونساز فرصت جبران تعداد لکوسیت‌ها را پیدا نکرده باشند و با تماس به بافت‌های خونساز، تولید لکوسیت‌ها را متوقف کنند (۳ و ۱۱).

در یک دید کلی باید گفت که ماهی هر چه به بستر یا کف نزدیک‌تر باشد و مواد غذایی خود را از بستر تهیه کند، میزان ائوزینوفیلی در آن بالاتر خواهد رفت و در ماهیان پلاژیک و نریتیک این سلول‌ها در حالت طبیعی دیده نمی‌شود و یا درصد آن بسیار کم است اما کفال به جهت آنکه ماهی دتریت‌خوار است و بقایای دتریت می‌توانند حاوی خیلی از مواد باشد، معمولاً بیشتر در معرض مخاطرات خونی در مقایسه بادیگر ماهیان قرار می‌گیرد.



**شکل ٥- نمونه ماهی کفال طلایی شکل ٦ الف- ب، و پ نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده سلول‌های خونی کفال طلایی با بزرگنمایی‌های مختلف**


## سپاسگزاری

از پرسنل ایستگاه تحقیقات اکولوژی دریای خزر خیرود نوشهر، سرکار خانم مریم کامگار کاردان آزمایشگاه که همواره در انجام عملیات آزمایشگاهی یار و یاورمان بودند و سایر کارمندان آن مرکز آقای غلامرضا سالاروند، سرکار خانم رضوانی، آقایان مهندس ابو، رضوانی و مجید نظران کمال تشکر و قدردانی را داریم.


## منابع


١.تاکاشیما. اف و هیباپا. تی. ١٣٧٨. اطلس بافت‌شناسی ماهی، ترجمه پوستی. ایرج و سید عبدالحمید، صدیق مروستی، انتشارات دانشگاه تهران، ٣٢٧ ص.

٢.سعیدی، ع. الف. و پورغلام، ر. ١٣٧٤. تشخیص افتراقی لکوسیت‌ها در ماهیان خاویاری، ماهنامه آبزیان.

٣.سعیدی، ع.الف. و همکاران. ١٣٧٧. مقایسه تعداد گلبول‌های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره‌برون و دراکول، پژوهش و سازندگی، شماره ٤٤ ص ١٣٣-١٣١.

٤.شاهسونی، د.، غ.ح.، وثوقی، خضرائی‌نیا، پ. ١٣٧٧. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر، پژوهش و سازندگی، شماره ٤٤. ص ١٣٠-١٢٦.

٥.فرید پاک، ف.، ١٣٧١. چگونگی و زمان راهیابی ماهی آزاد به دریای خزر، سیاه و اورال، ماهنامه آبزیان، شماره ٧، ص ٢٣-٢٢.

٦.وهاب‌زاده، ح. ١٣٨٢. ارزیابی کارایی پراکسید هیدروژن ولوامیزول هیدروکلراید در تیمار تخم‌ها ونوزادان تاسماهی ایرانی و کپور ماهیان چینی. رساله دکترای تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

7.Anderson, I.G., Schaumuller, L.F., and Kramer, H.L. 1996. A Preliminary study on the hematology of fresh water reaved seabass, barramundi, Lates calcarifer, and Asian fish. 9(2): 101-107

8.Berg, L.S. 1948. Freshwater fishes of the USSR and adjacent Countries, vol 1, Izdatels'tro akademil nauk sssr. Moskvaleningrad.

9. Engelhardt, A., Minle, C., and Petermann, H. 1989. Hematological studis into rainbow trout affected by *Proteocephalus neglecuts*, Veterinaermed, 44 (11): 390-393.
10. Haley, P.J., and Weiser, M.G. 1985. Erythrocyte Volume distribution in rainbow trout, VET-RES, 46(10): 2210-2212.
11. Mahoney, J.B., and McNulty, J.K. 1992. Disease associated blood changes and normal seasonal hematological Variation in winter flounder in the Hudson-Rariten Estuary, Trans, AM. Fish, 121(2): 261-268.
12. Nakamuru, Y., and Wakabyashi, H. 1985. Changes in glycogen content of neutrophils in eel, *Annguilla japonica* by bacterial infection, Fish Pathology 20:389-394.
13. Pickering, A.D., and Pottinger, T.G. 1987. Lymphocytopenia and interregnal activity during sexual maturation in the brown trout, Fish Biology, 30: 41-50.
14. Schwaiger, J., Fent, K., Stecher, H., Ferling, H., and Negele, R.D. 1996. Effects of ssublethal concentration of Triphenyltinacetate (TPTAc) on rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), Environ. 30 (3): 327-334.

# Whole and differential leukocyte count of Golden mullet *(Liza auratus)* during breeding migration

**H. Vahabzadeh roodsari[1], A.S. Saeedi[2], F. Khayat[1] and A. Chalkosh karimi[1]**
[1]Dept. of Fisheries, Azad Islamic University of Lahijan, Lahijan Branch,
[2]Ecological Research station of Nowshahr (Kheurood)
**E-mail: habib.vahabzadeh@gmail.com*

**Abstract**

During 22nd of October 2004 to 5th of January 2005; along western part of Mazandaran province (in 4 stations) 30 golden mullets with different sizes were caught by beach seine. Fishes were anesthetized by $MS_{222}$ then blood samples were taken. Blood smears were prepared and utilized for differential leukocyte counts (lymphocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils, special granulocytic cell and immature cells). Also, whole leukocyte counts conducted in improved Neubauer. Number of leukocytes per each $mm^3$ of blood, in different length classes was 43225±15550 in class I (22-27cm), 46766±16680 in class II (27-33 cm) and 44250±15870 in class III (33-40cm). Lymphocytes percentages in mentioned classes were 98%, 97% and 97% respectively. The average of neutrophils in class I was 2% and for two other classes was 3%. Now monocytes and eosinophiles were observered. There was no significant difference between leukocytes count in length classes (P.0.05). This is the characteristic of a normal population of fish, which all are in the same maturation stage or with one stage difference. There were more small lymphocytes than large lymphocytes in Golden mullet. The number of nuclei in neutrophils was about 2-3 and nuclei in 4 or 5 pieces were rarely seen. Neutrophiles were larger than lymphocytes. Nuclei of lymphocytes were darker, more intense and basophilic. Considering viral infections in Golden mullet during last 2-3 years in Caspian Sea leukocytes count decreased to 50% of normal condition. Actually it's a leucopenia.

***Keywords:*** Golden mullet; Leukocyte; Differential count; Breeding migration.