

بررسی مقایسه ای سطوح برخی از پارامترهای خونی در کفال ماهیان طلایی

دریای خزر (*Liza auratus*)

*شهاب سراجیان^۱، عباسعلی زمینی^۲، مهدی یوسفیان^۳، علی اصغر سعیدی^۴ و عباس جعفری^۵

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، ^۲استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ^۳دانشیار مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ^۴پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، ^۵کارشناس گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر و عضو باشگاه پژوهشگران جوان

*E-mail: Shahab_sarajian@yahoo.com

چکیده

بررسی‌های کمی فاکتورهای خونی در مراحل اولیه رشد و نمو ماهیان بعنوان یک شاخص مهم فیزیولوژیک محسوب گردیده و در تکثیر و پرورش بسیار حائز اهمیت است. مطالعه پارامترهای خون‌شناسی علاوه بر تعیین وضعیت فیزیولوژیک سلول‌های خونی، در تشخیص بیماری‌ها کاربرد دارد، به طوری که با تعیین پارامترهای خونی و مقایسه با شرایط طبیعی از آن به عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص بیماری‌ها می‌توان بهره جست و نسبت به درمان آن اقدام نمود. جهت مقایسه پارامترهای خونی بین ماهیان ماده نابالغ و بالغ کفال طلایی دریای خزر در پاییز سال ۸۴ از ۴۲ قطعه ماهی به تفکیک ۲۱ قطعه ماهی نابالغ و ۲۱ قطعه ماهی بالغ در پره‌های غرب استان مازندران از خیرود تا چالوس خونگیری به عمل آمد و آزمایش‌های هماتولوژی شامل شمارش گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید انجام شد. نتایج آزمایش‌های نشان داد میانگین میزان هموگلوبین در ماهیان نابالغ ۱۲/۹ گرم در دسی‌لیتر و در ماهیان بالغ ۱۱/۵ گرم در دسی‌لیتر و میانگین میزان هماتوکریت در ماهیان نابالغ ۴۷/۵ درصد و در ماهیان بالغ ۳۹/۸ درصد محاسبه گردید. تعداد میانگین گلبول‌های قرمز در ماهیان نابالغ ۳۹۹۰۰۰۰ عدد در میلی‌متر مکعب خون و در ماهیان بالغ ۳۵۷۲۰۰۰ عدد در میلی‌متر مکعب خون شمارش گردید. تعداد میانگین گلبول‌های سفید در ماهیان نابالغ ۷۰۶۶۷ عدد در میلی‌متر مکعب خون و در ماهیان بالغ ۷۰۲۱۱ عدد در میلی‌متر مکعب خون تعیین گردید. نتایج محاسبه اندیس‌های خونی نیز بدین ترتیب بود که مقدار MCV در ماهیان نابالغ ۱۲۰/۹ فمتولیترا و در ماهیان بالغ ۱۱۱/۹ فمتولیترا، میانگین MCH در ماهیان نابالغ ۳۲/۵ پیکوگرم و در ماهیان بالغ ۳۲/۳ پیکوگرم و میانگین $MCHC$ در ماهیان نابالغ ۲۷/۵ درصد و در ماهیان بالغ ۲۹/۳ درصد بوده است. در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، میانگین لنفوسیت‌ها در ماهیان نابالغ و بالغ ۹۵ درصد، میانگین نوتروفیل‌ها در ماهیان نابالغ ۴/۶ درصد و در ماهیان بالغ ۴/۹ درصد بود. مونوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل مشاهده نگردید. همچنین براساس آزمون همبستگی پیرسون بین مقادیر پارامترهای مختلف در ماهیان نابالغ و بالغ همبستگی وجود دارد به طوری که بین مقادیر گلبول قرمز با هموگلوبین، مقادیر هماتوکریت با MCV همبستگی از نوع مثبت بوده و اختلاف معنی‌داری نیز بین آنها مشاهده گردید ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: ماهی کفال طلایی دریای خزر، *Liza auratus* پارامترهای خونی

مقدمه

سریعی داشته است و از آنجایی که هر گونه ماهی دارای الگوی خونی خاصی است این امر به مشکلات کار خون شناسی افزوده است. استفاده از یافته‌های خون‌شناسی

علم هماتولوژی در زمینه ماهیان حدوداً از دهه ۸۰ میلادی کار خود را آغاز کرده و روند رو به پیشرفت

علاوه بر مشخص کردن وضعیت فیزیولوژیک سلول‌های خونی، بیشتر در امر تشخیص بیماری‌ها است که در آن با خونگیری از ماهی و تعیین پارامترهای خونی و مقایسه با شرایط طبیعی، می‌توان تا حدی از آن به‌عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص بیماری استفاده کرد و در امر درمان آن کوشید. امروزه اهمیت علم خون‌شناسی و اندوکرینولوژی برای دستیابی به وضعیت فیزیولوژیک مناسب در ماهیان و کنترل تولیدمثل جانوران به وضوح شناخته شده است و ریتم‌های دوره‌ای هورمون‌ها، در بافت‌ها و پلاسمای ماهی‌ها در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۱). اولین مطالعات هماتولوژی عمدتاً بر روی کپورماهیان و قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت گرفته و غالباً هم در برگرنده ماهیان استخوانی است به‌طوری‌که **Robert** و همکاران در سال ۱۹۷۸ بیان داشتند که تعداد گلبول‌های قرمز در ارتباط با گونه ماهیان و استرس‌های محیطی و حرارتی تغییر می‌کند، به‌طوری‌که تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان گرم‌آبی بیشتر از ماهیان سردآبی و نیز افزایش درجه حرارت موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در خون محیطی می‌گردد. بنابر تحقیق **Sharma** و همکاران در سال ۱۹۸۵ کاهش اکسیژن محیط باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و مقادیر هموگلوبین می‌شود. در ایران نیز کارهای خون‌شناسی روی ماهیان انجام شده است که از میان آنها می‌توان به بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (وثوقی و همکاران، ۱۳۷۶)، تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (شاهسونی، وثوقی و خضرائی‌نیا، ۱۳۷۸) و بررسی تصویر طبیعی خون آزاد ماهیان (جمالزاده، ۱۳۸۰) و ... اشاره نمود. مطالعات اندوکرینولوژی در ماهیان نشان دهنده نوسانات سالیانه هورمون‌ها در رابطه با سیکل‌های تولیدمثلی و تغذیه‌ای و همچنین رشد در ماهی‌ها می‌باشد (۲۹).

از آنجایی که در ماهی‌ها روند بلوغ به ندرت با تغییرات مورفولوژیک همراه می‌باشد عمده تغییرات در

سطح فیزیولوژیک معطوف به تغییرات هورمون‌ها در رشد گنادها می‌باشد (۲۴). ماهی کفال طلائی از نظر اقتصادی با ارزش بوده و بازار پسندی بسیار خوبی دارد این ماهی‌ها ۳۰ درصد صید کلی از دریای خزر را تشکیل می‌دهند که گونه *Liza auratus* قریب ۹۰-۸۰ درصد انواع کفال را شامل می‌شود. در این پروژه مقدار طبیعی فاکتورهای خونی و استروئیدهای جنسی این ماهی در دو رده سنی نابالغین و بالغین شناسایی و با هم مقایسه گردید تا در هنگام بروز بیماری بتوان با خونگیری از ماهیان بیمار و مقایسه با این مقدار نرمال، در امر تشخیص بیماری و ارائه روش‌های کنترل آن برنامه‌ریزی نمود.

کار در زمینه خون‌شناسی ماهی‌ها حدوداً از دهه ۸۰ میلادی شکل علمی و کاملی به خود گرفت و از آنجایی که هر گونه ماهی دارای الگوی خونی خاصی است این امر به مشکلات کار خون‌شناسی آنها افزوده است. اولین کارها عمدتاً بر روی کپور ماهیان (*Cyprinidae*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفته است. با توجه به اهمیت ماهیان خاویاری **Ivanova** برای اولین بار در روسیه در سال ۱۹۸۳ اطلس خون‌شناسی ماهیان خاویاری را ارائه نمود. در ایران نیز کارهای خون‌شناسی روی ماهیان بخصوص ماهیان خاویاری انجام شده است که از میان آنها می‌توان به بررسی و مقایسه سلول‌های خونی سفید و شمارش افتراقی آنها در ماهیان قره‌برون و دراکول (۴)، تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی ازون‌برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (۶)، مقایسه پاسخ‌های هماتولوژی در ماهیان خاویاری در شرایط محیطی مختلف (۳)، مقایسه سلول‌های خونی در ماهیان چالباش، قره‌برون و فیل ماهی (۱)، بررسی برخی از پارامترهای هماتولوژی ماهی سفید در راستای سبب‌شناسی ترک‌خوردگی تخم‌های ماهی سفید رود خانه شیرود و تجن (۵)، مطالعه رابطه بین فاکتورهای خونی و کیفیت مولدین تاس ماهی روسی جهت تکثیر مصنوعی (۷) و بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض (۹) اشاره نمود.

در آمریکا، با بررسی بر روی ۲۳ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) میزان متوسط گلبول‌های قرمز را در آنها تعیین کردند (۱۵). در آلمان بر اثرات سوء قارچ‌کش‌ها روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحقیق به عمل آمد که از دوز غیرکشنده قارچ‌کش تری فنیل تین استات استفاده کردند که ماهی‌ها را در غلظت‌های مختلف و زمان‌های متفاوت قرار داده و در دوزهای مختلف نتایجی متفاوت مثل افزایش هموگلوبین، پلاکت و افزایش گلبول‌های قرمز را به دست آوردند (۲۸). در لیتوانی تعدادی از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان را در غلظت‌های مختلف ترکیبات مس نگهداری کرده و اثر آن را بر روی ماهیان بررسی کردند (۳۲).

در کانادا بر روی قزل‌آلای قهوه‌ای وحشی (*salmo trutta*) در فصل تخم‌ریزی تحقیقاتی شده و میزان گلبول‌های سفید و قرمز را به دست آوردند و با حالات عادی جاندار مقایسه کردند (۲۲).

در سال ۱۹۸۶ مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در یک جمعیت از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در اسکاتلند توسط Ross, Mekinney و Coutls و در سال ۱۹۸۳ تغییرات طبیعی مهم‌ترین پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بوسیله Hendricks و Miller مطالعه شد. در سال ۱۹۸۳ پارامترهای هماتولوژی و آنزیمی در ماهیان پرورشی (آمور و فیتوفاگ) در ایالات متحده آمریکا بوسیله Beek و Barker بررسی شد. Roberts و همکاران در سال ۱۹۷۸ در تحقیقی بیان داشته‌اند که تعداد گلبول‌های قرمز در ارتباط با گونه ماهیان و استرس‌های محیطی و حرارتی تغییر می‌کند به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان گرم‌آبی بیشتر از ماهیان سردآبی و نیز افزایش درجه حرارت موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در خون محیطی می‌گردد.

بنابر تحقیق Sharma و همکاران (۱۹۸۵) کاهش اکسیژن محیط باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و مقادیر هموگلوبین می‌شود. Konstantiov و همکاران

در سال ۱۹۸۶ با بررسی بر روی کپورماهیان مشاهده کردند که افزایش دما موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در آنها می‌گردد. Krajanovic و همکاران در سال ۱۹۹۱ با مطالعه بر روی ماهی Seabass دریافتند که تعداد گلبول‌های قرمز و Kunzman و همکاران در سال ۱۹۹۱ با تحقیقات روی شگ ماهی مشاهده نمودند که با سردی هوا تعداد گلبول‌های قرمز کاهش می‌یابد این در حالی است که تعداد لکوسیت‌ها افزایش می‌یابد. Watson و همکاران در سال ۱۹۸۳ تعداد گلبول‌های قرمز ماهی حوض را $10^6 \times 1/67$ در میلی‌متر مکعب، هماتوکریت را $29/4$ درصد و هموگلوبین را $9/1$ گرم در دسی‌لیتر گزارش کردند. Hines و همکاران در سال ۱۹۷۰ تعداد گلبول‌های قرمز ماهی کپور نقره‌ای را $10^6 \times 1/01$ در میلی‌متر مکعب، هماتوکریت را 32 درصد و هموگلوبین را $8/9$ گرم در دسی‌لیتر گزارش کردند. Riazda و همکاران در سال ۱۹۸۲ تعداد گلبول‌های قرمز ماهی کپور هندی را $10^6 \times 1/2$ در میلی‌متر مکعب و هموگلوبین را $7/4$ گرم در دسی‌لیتر گزارش کردند.

طبق تحقیقات Rakitskaya در سال ۱۹۸۲ ماهیانی که دارای سرعت حرکت بیشتری هستند، هموگلوبین و گلبول‌های قرمز بیشتری دارند، در حالی که گلبول‌های سفید آنها نسبت به ماهیان کم تحرک کمتر است.

Castillas و همکاران در سال ۱۹۷۷ نشان دادند که عوامل استرس‌زا باعث کاهش زمان انعقاد خون، افزایش تعداد ترومبوسیت‌ها و افزایش هماتوکریت در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است.

هدف از این تحقیق مقایسه سطوح برخی از پارامترهای خونی کفال طلائی دریای خزر جهت تعیین فیزیولوژیک سلول‌های خونی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی، ۲۱ عدد ماهی کفال بالغ و ۲۱ عدد ماهی کفال نا بالغ که طی فصل پاییز در سال ۱۳۸۴ از صیدگاه خیرود نوشهر در دریای خزر صید شده بودند،

در سطح ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

در شمارش گلبول‌های قرمز کمترین تعداد 2.86×10^4 عدد در میلی‌مترمکعب خون و بیشترین آن 4.35×10^4 عدد در میلی‌مترمکعب خون با میانگین $3.57/2 \times 10^4$ عدد در میلی‌مترمکعب خون با انحراف معیار $37/1 \times 10^4$ بوده است. ($\bar{X} = 3.57/2 \times 10^4 \pm 37/1 \times 10^4$) پس از شمارش گلبول‌های سفید، کمترین تعداد گلبول‌های سفید ۳۶۰۰۰ عدد در میلی‌مترمکعب خون و بیشترین آن ۱۰۴۰۰۰ عدد در میلی‌مترمکعب خون بوده است، میانگین آن برابر ۷۰۲۱۱ عدد در میلی‌مترمکعب خون و انحراف معیار آن $19713/4$ بود ($\bar{X} = 70211 \pm 19713/4$). پس از اندازه‌گیری هموگلوبین کمترین آن ۹/۲ گرم در دسی‌لیتر و بیشترین آن ۱۵/۲ گرم در دسی‌لیتر بوده است، میانگین آنها برابر با ۱۱/۵ گرم در دسی‌لیتر با انحراف معیار نمونه، $1/3$ بود ($\bar{X} = 11/5 \pm 1/3$).

پس از اندازه‌گیری هماتوکریت، کمترین مقدار آن ۲۹ درصد و بیشترین مقدار آن ۵۰ درصد با میانگین $39/8$ درصد بوده است. انحراف معیار نمونه برابر با $5/3$ بود ($\bar{X} = 39/8 \pm 5/3$).

در شمارش افتراقی (Diff) گلبول‌های سفید در ماهیان بالغ درصد هر یک از انواع لکوسیت‌ها در ماهیان بالغ بررسی شده که بیشترین مقدار مربوط به لنفوسیت‌ها و بعد نوتروفیل‌ها می‌باشد. سلول‌های ائوزینوفیل و بازوفیل و مونوسیت‌ها در این ماهیان مشاهده نشده کمترین میزان لنفوسیت ۹۲ درصد و بیشترین آن ۹۹ درصد و میانگین به‌دست آمده ۹۵ درصد بود. انحراف معیار نمونه $2/2$ بود، ($\bar{X} = 95 \pm 2/2$).

در مورد نوتروفیل‌ها کمترین آن ۱ درصد و بیشترین آن ۸ درصد بود. میانگین آن $4/9$ درصد با انحراف معیار نمونه $2/2$ اندازه می‌باشد. ($\bar{X} = 4/9 \pm 2/2$).

کمترین مقدار MCV اندازه‌گیری شده $89/8$ فمتولیترا و بیشترین آن $141/5$ فمتولیترا بوده است و میانگین آن

مورد استفاده قرار گرفتند. عوامل بیومتریکی این ماهیان شامل وزن، طول کل و طول چنگالی اندازه‌گیری و ثبت شد. تعیین سن این ماهیان، از روی فلس انجام شد. سپس از محل ساقه دمی هر ماهی به میزان سه میلی‌لیتر خون گرفته شد و به داخل شیشه‌های استریل محتوی هپارین (۵۰۰۰ واحد) منتقل گردید (یک قطره هپارین + ۱ سانتی‌متر مکعب خون)، سپس نمونه‌های خون در ظروف ایزوله حاوی یخ به آزمایشگاه بخش هماتولوژی مرکز تحقیقات خیرود نوشهر منتقل و گسترش خونی تهیه گردید و آنالیز آن انجام گرفت.

برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین استفاده شد که با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر، OD محلول اندازه‌گیری و با مقایسه با منحنی استاندارد مقدار هموگلوبین تعیین گردید. تعیین هماتوکریت نیز با روش میکروهماتوکریت و با سانتریفوژ هماتوکریت و خط کش مخصوص هماتوکریت سنجیده شد.

شمارش سلول‌های قرمز و سفید توسط لام نئوبار انجام گرفت. برای شمارش گلبول‌های قرمز از پیت ملانژور قرمز، برای شمارش گلبول‌های سفید از پیت ملانژور سفید استفاده شد. محلول بکار برده شده برای رقیق کردن خون، محلول ریس بود که از مواد زیر تشکیل شده است:

۱- رنگ Brilliantcresyl/Blue ۰/۱ گرم

۲- سترات سدیم ۳/۸ گرم

۳- فرمالین ۴۰ درصد ۰/۲ میلی‌متر مکعب (سی‌سی)

۴- آب مقطر تا ۱۰۰ میلی‌متر مکعب (سی‌سی)

برای رنگ‌آمیزی از محلول گیلسا با رقت ۰/۱ استفاده شد و تشخیص گلبول‌های سفید نیز از روی لام رنگ شده انجام گرفت:

پس از ثبت اطلاعات زیست‌سنجی، جهت مقایسه میانگین‌های مقادیر فاکتورهای خونی، داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزارهای Excel و Spss و آزمون‌های One way Anova, T-test و Tukey

برابر با ۱۱۱/۹ بوده و انحراف معیار نمونه ۱۵/۳ به دست آمد ($\bar{X} = 111.9 \pm 15.3$).

کمترین مقدار MCH اندازه‌گیری شده ۲۹/۱ پیکوگرم و بیشترین مقدارش ۳۵/۶ پیکوگرم بود، میانگین آنها برابر ۳۲/۳ پیکوگرم با انحراف معیار ۲/۱ محاسبه شد ($\bar{X} = 32.3 \pm 2.1$).

کمترین مقدار MCHC اندازه‌گیری شده ۲۲/۸ درصد و بیشترین مقدار آن ۳۷/۹ درصد محاسبه شد. میانگین این تعداد نمونه برابر ۲۹/۳ درصد با انحراف معیار ۴ به دست آمد ($\bar{X} = 29.3 \pm 4$).

مقایسه بین تعداد میانگین گلبول‌های قرمز در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به طوری که میانگین تعداد در ماهیان نابالغ حدود ۴۱۸/۰۰۰ عدد بیشتر از ماهیان بالغ است. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). مقایسه بین میانگین هموگلوبین در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به طوری که میانگین هموگلوبین در ماهیان نابالغ، حدود ۱/۴ گرم در دسی‌لیتر از ماهیان بالغ بیشتر است.

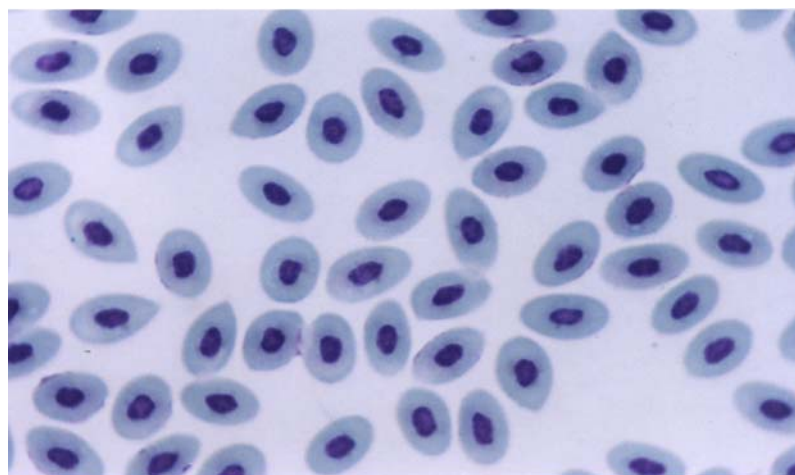
نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$) مقایسه بین میانگین هماتوکریت در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به طوری که میانگین هماتوکریت در ماهیان بالغ حدود ۷/۷ درصد از ماهیان نابالغ کمتر است. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). مقایسه بین تعداد میانگین گلبولهای سفید در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به طوری که میانگین تعداد در ماهیان نابالغ حدود ۴۵۶ عدد بیشتر از ماهیان بالغ است. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اندیس‌های خونی که خود تابعی از مقدار هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز می‌باشند، در ماهیان بالغ و نابالغ متفاوت بوده به طوری که میانگین MCH و MCV در ماهیان نابالغ از ماهیان بالغ بیشتر بوده و MCHC در ماهیان بالغ از ماهیان نابالغ بیشتر بوده است. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۱- فاکتورهای اندازه‌گیری شده در ماهیان نابالغ کفال اوراتوس دریای خزر

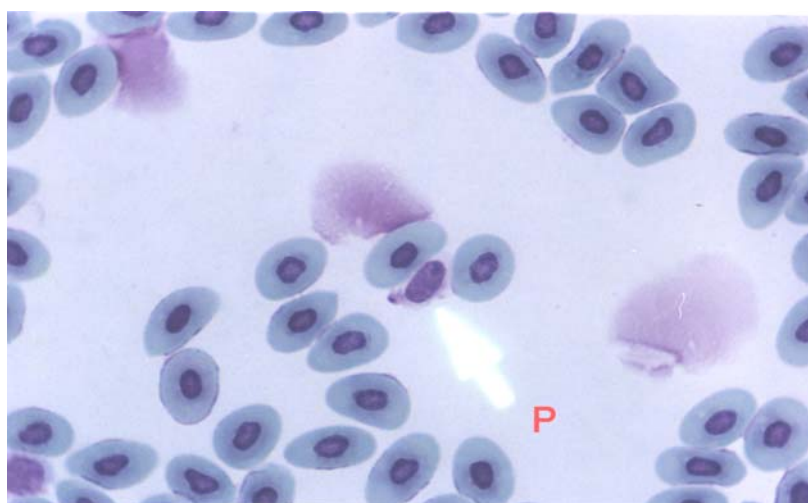
نام فاکتور	میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار
طول کل (سانتی‌متر)	۳۳	۲۸/۷	۳۸	۲/۵
طول فورک (سانتی‌متر)	۲۹/۶	۲۵/۴	۳۴/۸	۲/۴
وزن بدن (گرم)	۲۵۸/۱	۱۷۰	۳۷۰	۵۱/۱
وزن تخمدان (گرم)	۱/۲	۰/۱۲	۲/۶	۰/۹۶
سن	۳	۲	۴	۰/۵
گلبول قرمز ۳ (میلی‌متر)	۳۹۹۰۰۰۰	۳۱۵۰۰۰۰	۵۳۸۰۰۰۰	۴۸۰۰۰۰
گلبول سفید ۳ (میلی‌متر)	۷۰۶۶۷	۳۳۰۰۰	۹۰۰۰۰	۱۷۹۲۷
لنفوسیت (درصد)	۹۵	۹۱	۹۸	۲/۸۲
نوتروفیل (درصد)	۴/۶	۲	۹	۲/۸
هموگلوبین (gr/dl)	۱۲/۹	۱۰/۸	۱۴/۶	۱/۰۳
هماتوکریت	۴۷/۵	۳۸	۵۵	۵/۲۳
MCV (fl)	۱۲۰/۹	۸۱/۸	۱۷۴/۶	۲۱/۲
MCH (pg)	۳۲/۵	۲۵/۱	۳۶/۲	۲/۷۱
MCHC (درصد)	۲۷/۵	۱۹/۶	۳۱/۶	۳/۲۷

جدول ۲- فاکتورهای اندازه‌گیری شده در ماهیان بالغ کفال اوراتوس دریای خزر

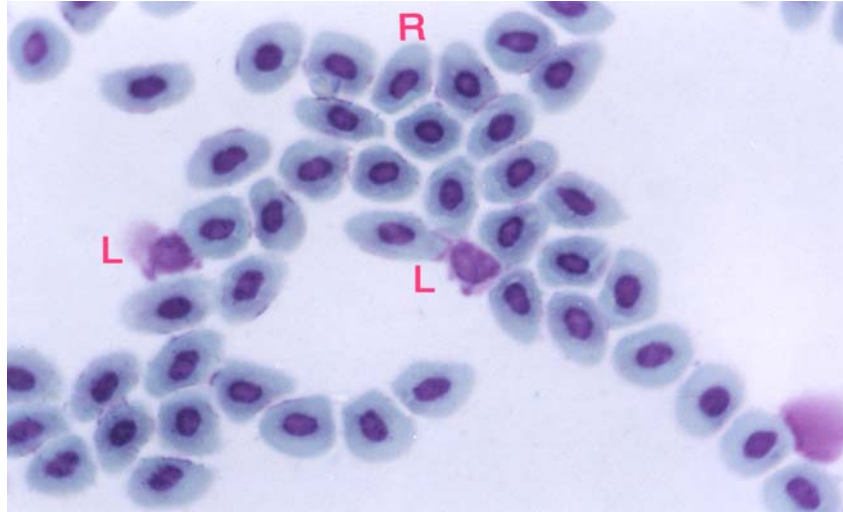
نام فاکتور	میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار
طول کل (سانتی‌متر)	۴۳/۴	۳۴/۵	۵۰/۲	۳/۶
طول فورک (سانتی‌متر)	۳۸/۹	۳۰/۸	۴۵/۲	۳/۳
وزن بدن (گرم)	۵۶۶/۴	۳۱۶	۸۲۰	۱۴۵/۹
وزن تخمدان (گرم)	۷/۹	۳/۳۰	۲۲/۲	۴/۹
سن	۴/۶	۳	۶	۰/۷۴
گلبول قرمز ۳ (میلی‌متر)	۳۵۷۱۵۷۹	۲۸۶۰۰۰۰	۴۳۵۰۰۰۰	۳۷۱۱۴۳/۳
گلبول سفید ۳ (میلی‌متر)	۷۰۲۱۱	۳۶۰۰۰	۱۰۴۰۰۰	۱۹۷۱۳/۴
لنفوسیت (درصد)	۹۵	۹۲	۹۹	۲/۲
نوتروفیل (درصد)	۴/۹	۱	۸	۲/۲
هموگلوبین (gr/dl)	۱۱/۵	۹/۲	۱۵/۲	۱/۳
هماتوکریت	۳۹/۸	۲۹	۵۰	۵/۳
MCV (fl)	۱۱۱/۹	۸۹/۸	۱۴۱/۵	۱۵/۳
MCH (pg)	۳۲/۳	۲۹/۱	۳۵/۶	۲/۱
MCHC (درصد)	۲۹/۳	۲۲/۸	۳۷/۹	۴



شکل ۱- گلبول‌های قرمز ماهی کفال اوراتوس بزرگنمایی ۱۰۰ ×



شکل ۲- پلاکت ماهی کفال اوراتوس بزرگنمایی ۱۰۰ ×



شکل ۳- سلول‌های خونی ماهی کفال اوراتوس، L: لنفوسیت، R: گلبول قرمز بزرگنمایی ۱۰۰ ×

بحث

فاکتورهای خونی در دو رده سنی نابالغین و بالغین تغییر کرده و کم و زیاد می‌شود. تغییرات فاکتورهای خونی همراه با فاکتورهای محیطی امری است غیرقابل انکار و در ماهیان به دلیل خونسرد بودن آنها، این امر به وضوح دیده می‌شود. عوامل بیماریزا و اکولوژیک ماهی نیز می‌توانند باعث تغییر فاکتورهای خونی شوند. بطور مثال در ماهیان خاویاری، در شمارش افتراقی سلولهای سفید، سلول ائوزینوفیل مشاهده شد (۳)، در حالی که در کفال ماهیان، این سلول‌ها در حالت طبیعی دیده نشده‌اند. بررسی پارامترهای خونشناسی در تحقیقات فیزیولوژیک و همچنین در تشخیص بیماری‌ها بسیار حائز اهمیت است به طوری که در اختلالات فیزیولوژیک بافت‌ها، پاسخ‌های بافتی به صورت ترشحات بیوشیمیایی وارد خون می‌شود که با اندازه‌گیری این دسته از پارامترها و مقایسه آن با حالت طبیعی می‌تواند ما را به تشخیص عامل اختلال نزدیک نماید (۱۴).

ماهی کفال بدلیل اینکه دتریت‌خوار است و بقایای دتریت می‌تواند حاوی خیلی از مواد باشد، معمولاً بیشتر در معرض مخاطرات خونی در مقایسه با دیگر ماهیان قرار می‌گیرد. در حالت فیزیولوژیک نیز تغییرات هماتولوژی در یک گونه ماهی در شرایطی که پارامترهای محیطی

ثابت باشد، با تکامل جنسی (بالغ و نابالغ) ارتباط دیده می‌شود.

از میان فاکتورهای خونی، پارامترهای Hb, HCT و RBC به هم وابسته هستند و در دو رده سنی نابالغین و بالغین بین آنها اختلافاتی وجود دارد. همچنین میان Hb و MCV رابطه مستقیمی برقرار است به طوری که هر قدر MCV بیشتر باشد بر میزان هموگلوبین نیز افزوده می‌گردد. در ماهیان نابالغ به جهت این که حجم متوسط گلبولی (MCV) بزرگتر از اندازه آن در ماهیان بالغ می‌باشد لذا در میزان هموگلوبین (Hb) اثر می‌گذارد و بر این اساس در ماهیان نابالغ مقدار هموگلوبین در مقایسه با بالغین بیشتر است. همچنین تعداد RBC در ماهیان نابالغ حدود ۴۰۰/۰۰۰ عدد بیشتر از ماهیان بالغ است به همین جهت مقدار هموگلوبین بیشتری در نابالغین مشاهده می‌شود. از طرف دیگر ماهیان نابالغ فعال‌ترند و از تغذیه بیشتری برخوردار بوده و متابولیسم شدیدتری دارند به همین جهت بر میزان هموگلوبین آنها افزوده می‌گردد این در حالی است که ماهیان بالغ پس از رسیدگی جنسی با توجه به اختلالات هورمونی و افزایش هورمونهای جنسی از تغذیه کمتری برخوردار بود. در نتیجه سیستم هماتوپوئز از فعالیت کمتری برخوردار بوده و نهایتاً با کاهش RBC, HCT, و Hb نسبت به نابالغین همراه است.

بین اندازه گلبول قرمز و تعداد RBC ارتباطی وجود ندارد بلکه با میزان هماتوکریت ارتباط دارد یعنی ممکن است با افزایش هماتوکریت، اندازه گلبول قرمز کاهش یابد. در ماهیان نابالغ چون تعداد RBC بیشتر است، بنابراین میزان هماتوکریت نیز بیشتر می‌باشد و از طرفی چون MCV در نابالغین بزرگتر است، بنابراین میزان هماتوکریت نیز در نابالغین بیشتر می‌باشد. افزایش هماتوکریت در کفال ماهیان نابالغ به حجم متوسط گلبولی ماهی (MCV) برمی‌گردد یعنی حجم متوسط گلبولی در کفال ماهیان نابالغ ۹ واحد بیشتر از حجم متوسط گلبولی در ماهیان بالغ است. بین ماهیان کفال بالغ و نابالغ اختلاف معنی‌داری براساس آزمون ANOVA در تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها مشاهده نگردید.

تعداد گلبول‌های قرمز، مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان کفال نابالغ نسبت به بالغ بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری است ($P < 0.05$). اما بین MCH و MCHC در دو گروه از ماهیان بالغ و نابالغ قرابت وجود دارد. MCH به تنهایی دارای ارزش مستقیم نیست بلکه اهمیت آن در این است که تغییراتش نسبت مستقیمی با MCV دارد و هر گونه تغییر غیرمرتبط با MCV دلیلی بر اشتباه در آزمایش شمارش گلبول‌های قرمز یا تعیین غلظت هموگلوبین است.

براساس نتایج به‌دست آمده مشاهده گردید که بین تعداد گلبول‌های سفید در ماهیان بالغ و نابالغ اختلاف وجود دارد، به‌طوری‌که در ماهیان نابالغ، تعداد گلبول‌های سفید ۴۵۶ عدد در میلی‌متر مکعب خون بیشتر از ماهیان بالغ می‌باشد. دلیل این افزایش در ماهیان نابالغ این است که نابالغین از سیستم‌های خون‌ساز فعال‌تری برخوردار بوده و همچنین از تغذیه و سیستم ایمنی بهتری

برخوردارند، همچنین ماهیان جوان نسبت به بیماری‌ها مقاوم‌ترند.

تعداد گلبول‌های سفید و ترکیب آن یکی از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی بوده و نشان دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش بدن به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد. به‌طور معمول تعداد گلبول‌های سفید ماهیان بیشتر از دیگر مهره‌داران است.

در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در کفال اوراتوس بیشترین تعداد گلبول‌های سفید به لنفوسیت‌ها تعلق دارد و مشاهده شد که ۹۵ درصد از گلبول‌های سفید به لنفوسیت‌ها تعلق دارد و ۵-۴ درصد را نوتروفیل‌ها تشکیل می‌دهند. در سایر ماهیان نیز این مسأله به اثبات رسیده است، به‌طوری‌که در قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپورماهیان نیز بیشترین درصد را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند. از نظر اندازه در کفال اوراتوس لنفوسیت‌ها غالباً در اندازه کوچک دیده شدند و لنفوسیت‌های بزرگ کمتر دیده شدند. تعداد هسته‌ها در نوتروفیل اغلب بین ۲-۳ قطعه مشاهده گردیدند و از نظر اندازه در مقایسه با لنفوسیت‌ها بزرگتر بودند.

از جمله عوامل مؤثر در تعداد گلبول‌های سفید می‌توان به عواملی چون بیماری‌های عفونی، التهاب، استرس (۳۱)، دما، وضعیت تغذیه (۱۲)، سن، جنس و تغییر در میزان هورمون‌ها اشاره کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند ابراز می‌دارند.

منابع

۱. پورغلام، ر.، سعیدی، ع. ۱۳۷۵. مقایسه سلول‌های خونی در ماهیان چالباش، قره برون و فیل ماهی. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.
۲. جمالزاده، ح. ۱۳۸۰. بررسی فاکتورهای خونی آزادماهی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد واحد تهران شمال. ۱۱۵ ص.

۳. سعیدی، ع.، پورغلام، ر. ۱۳۷۷. مقایسه پاسخ‌های هماتولوژی در ماهیان خاویاری در شرایط محیطی مختلف. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران.
۴. سعیدی، ع.، و همکاران. ۱۳۷۸. بررسی و مقایسه سلول‌های خونی سفید و شمارش افتراقی آنها در ماهیان قره برون و دراکول. پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴.
۵. سعیدی، ع.، و همکاران. ۱۳۷۹. بررسی برخی از پارامترهای هماتولوژی ماهی سفید در راستای سبب شناسی ترک خوردگی تخم‌های ماهی سفید رود خانه شیروود و تجن.
۶. شاهسونی، د.، وثوقی، غ.، و خضرائی‌نیا، پ. ۱۳۷۸. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴.
۷. فلاحتکار، ب. ۱۳۷۷. مطالعه رابطه بین فاکتورهای خونی و کیفیت مولدین تاس ماهی روسی (چالباش) جهت تکثیر مصنوعی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس.
۸. قلیچی، الف. ۱۳۸۱. بررسی روند رسیدگی جنسی در کفال خاکستری، رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ۱۴۱ ص.
۹. وثوقی، غ.، شاهسونی، د.، پیغان، ر. ۱۳۷۶. بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.
10. Barker, C.J. and Beek, M.I., 1983. Haematologic and enzymatic analysis of *Ctenopharyngodon idella*, *Hypophthalmichthys nobilis* Dep F-sub (1) hybrid Dep-Biol. Memphis state University, Memphis. In 38152-USA. Pp:175-183.
11. Boujard, T., Leatherland, F. 1992. Circadian pattern of hepatosomatic index, Liver glycogen and Lipid content, plasma non-ester, free fatty acid, glucose, T3, T4, growth and cortisol concentration in *Onchorhynchus mykiss*, Fish Physiol. Biochem., 10(2): 111-122.
12. Bullis, R.A. 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fishes (Inifish Medicine, Stoskopf, pp: 232-234.
13. Castillas, E., and Smith, L.S. 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Offish Biology. 10, 481-491.
14. Cormack, D.H. 1991. Histology. Guanabara koogan, Rio de janerio, 9ed. p. 151.
15. Haley, P.J., Weiser, M.G. 1985. Erythrocyte volume distribution in rainbow trout, VET-RES, 46(10): 2210-2212.
16. Hines, R.S., and Yashouv, A. 1970. Differential leukocyte counts and total leukocyte and erythrocyte counts for some normal Israeli mirror carp. Bamidgeh. 22:106-113.
17. Ivanova, N.T. 1983. Atlas of fish blood cell. Moskva, Izd. Legkajai piscevaja promyselennost. 75p. (In Russian).
18. Konstantinov, A.S., and Zd Annovich, V.V. 1986. Peculiarities of fish growth in relation to temperature fluctuation. J. Ichthyol. Vol. 26, No. 4.
19. Krainovic-Ozertic, M. 1991. Hematological and biochemical characteristics of reared sea bass. Acta, Biol, Logosl (E, Ichthyol). Vol. 23. No 1.
20. Kunzman, A., Caruso C., and Diprisco, G. 1991. Hematological studies a high Antractic fish: Bathyraco mrii, Norman, J. EXP. Mar. Biol, Ecol, Vol. 153. no. oct. 1991/FRG.
21. Miller, W.R., Hendricks, A.C., and Cairns J.R. 1983. Normal range for diagnostically important and blood chemistry characteristics of rainbow trout-Biof-monant. Inc. P.O. BOX 184, Black sburg UA 24060/USA, PP: 111-119.
22. Pickering, A.D. 1986. Changes in blood cell composition of the brown trout, *Salmo trutta*, during the spawning season, Fish Biology, 29(3): 333-347.
23. Rakitskaya, L.V. 1982. Some morphological parameters of blood of editerranean fishes from different ecological groups. J. Ichthyol. Vol. 22. No. 4, 1982 /USSR.
24. Rankin, J.C., Pitcher, T.J., Duggan, R.T. 1983. Control processes in fish physiology. Croom Helm. 298p.
25. Riazada, M.N. and Singh, C.P. 1982. Observation of hematological value of fresh water fish. *Cirrhinus mrigala* (Ham). Comp. Physiol. Ecol. 7:34-36.
26. Roberts, R.J. 1987. Fish pathology. Ed. Baillier Tindall, London.
27. Ross, L.G., Mekinney, R.W., and Coutls, R.R. 1986. Comparison of (*Salmo gairdneri* Richardson) held at sea level and high Ali titute Inst. Univ. stirling FK 941 H Scotland. U.K.

28. Schwaiger, J., Fent, K., Stecher, H., Feling, H., and Negre, R.D. 1996. Effects sublethal concentration of Triphenyl tinacetate (TPTAc) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Environ. 30 (3): 327-342.
29. Scott, A.P., Sumpter, J.P., Hardiman, P.A. 1983. Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*), General and comparative Endocrinology, 49: 128-134.
30. Sharma, T.J., Shi, B.D. 1985. Effects of asphyxiation on some hematologic values of *Noemacheilus cupicula*. Int. J. Acad. Ichthyol, Modinagar. Vol. 6, No.1-2.
31. Stoskopf, M.K. 1993. Clinical pathology. In: fish medicine (Stoskopf Ed) Saunders company. pp.113-131.
32. Vosyliene, M.Z. 1996. Hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during short-term exposure to copper, Ecology.3:12-18
33. Watson, I.J., and Jackson, L.L. 1983. The hematology of gold fish (*Carassius auratus*). Cytological. 28: 118-130

Comparing of some hematological parameters in Golden grey mullet (*Liza auratus*) fishes in Caspian sea

*Sh. Serajian¹, A.A. Zamini², Mehdi Yousefian³, A.A. Saeedi⁴ and A. Jafari⁵

¹Former M.Sc. student Fisheries of Islamic Azad University, Lahijan Branch and Young researcher club,

²Assistant Prof. Dept. of Islamic Azad University, Lahijan Branch, ³Associate Prof. of Iranian Fisheries Researcher organization-Caspian sea Ecological Institute, ⁴Caspian sea Ecological Institute, Dept. of fish disease, ⁵Dept. of Fishery Islamic Azad Univ. of Ghaemshahr and young researcher club

*E-mail: Shahab_sarajian@yahoo.com

Abstract

Quantitative investigations of hematological factors in primitive stages of fish's growth are considered as one important physiological index in the propagation and rearing process. The study of hematological parameters is so helpful in both the determining blood cell physiological situation and in finding diseases. Therefore, after comparing these parameters with each other in normal condition, they can be used as paraclinical tools to distinguish diseases and to treat them. In fall to 2005, in order to compare hematological parameters in immature and mature golden grey mullet (i.e. 21 mature and 21 immature fish) in west part of Mazandaran province, were blood was attained. Homological experiments include erythrocyte and leukocyte count, hemoglobin, packed cell volume (PCV), mean corpuscular volume (MCV), leukocyte differential counts were examined. The results of experiments showed that the average hemoglobin value was 12.9 gr/dl in immature and 11.5 gr/dl in mature ones. Moreover, the average hematocrit 47.5 percent was in immature and 39.8 percent was in mature fish. Mean red blood cell count in immature fish 3990000, number per mm³ blood and in mature fish, 3572000 numbers per mm³ blood were counted. Mean white blood cell count 70667 number per mm³ in immature fish and 70211 number per mm³ in mature fish were counted. Calculating blood index showed the average of MCV in immature fish 120.9 FL and in mature ones 111.9 FL. The average of MCH in immature fish was 32.5 pg and in mature fish was 32.3 pg. Also, the average of MCHC in immature fish was 27.5 percent and in mature fish was 29.3 percent. Differential WBC, Mean Lymphocyte cells in immature and mature fish was 95%, Neutrophil in immature fish was 4.6% and in mature fish was 4.9%, Monocyte cells, Basophils cells and Eosinophil cells weren't observed. Based on the pearson correlation test, there was a correlation between different parameters in immature and mature fishes. So, there was not only positive correlation between RBC and HB, PCV and MCV but also the difference was significant ($P<0.05$).

Keywords: Golden grey mullet; *Liza auratus*; Hematological parameters