

Study on hematological parameters of infected *Capoeta capoeta gracilis* with *Posthodiplostomum cuticola* in Zaringol Stream-Golestan province

بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهیان (*Capoeta capoeta gracilis*) آلوده به انگل پوستودیپلوستومم کوتیکولا (*Posthodiplostomum cuticola*) گل استان گلستان

Zohreh Mazaheri Kohanestani^{1*},

Abdolmajid Hajimoradloo², Rasoul Ghorbani³

1. Ph.D. Student of Aquatic Ecology, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, P.O.BOX 45165-386, Iran

2. Professor of Fishery, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Iran

3. Associate Professor of Fishery, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Iran

(Received: Nov. 9, 2015 - Accepted: Aug. 20, 2017)

Abstract

The aims of the present study was to obtain baseline data on hematological parameters of *Capoeta capoeta gracilis* and investigate the effects of parasite infection with *Posthodiplostomum cuticola* in Zaringol Stream. A total number of 132 fish specimens including 92 females and 40 males (length and weight ranged between 5.7-16.4 cm and 2.69-35.84 g respectively) were collected by electrofishing (150V, 10A) from 9 stations in summer 2010. The water quality parameters were measured at the same time. Blood were taken from caudal vein. After biometry, age and gender was determined by scales and clinical observation of gonads respectively. Also the black spots were counted from the fin, skin, and opercula. There was no gender effect on hematological parameters ($P>0.05$). Hematocrit (%) and hemoglobin (g/dL) increased in older fishes ($P<0.05$) and the maximum number of Monocyte (%), Neutrophils (%), Basophiles (%), MCV(fl), and MCH (Pg) were in 2⁺ and 3⁺ respectively ($P<0.05$). Red blood cells ($10^6/\text{mm}^3$), Neutrophils (%) and MCV (fl) were higher in *Capoeta* sp infected with *P. cuticola* while the Lymphocytes were lower significantly ($P<0.05$). The total number of white blood cells ($10^3/\text{mm}^3$), Neutrophils (%), and Basophiles (%), increased by increasing intensity index ($P<0.05$). The results revealed that fish responded to the infection through stimulate erythropoietic cells and immune system.

Keywords: Age, *Capoeta capoeta gracilis*, Hematological Parameters, *Posthodiplostomum cuticola*, sex.

زهره مظاهری کوهانستانی^{۱*}، عبدالمجید حاجی مرادلو^۲،

رسول قربانی^۳

۱. دانشجوی دکتری بوم‌شناسی آبیان، دانشکده شیات و محیط زیست،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، صندوق پستی

۴۵۱۶۵-۳۸۶

۲. استاد، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان

۳. دانشیار، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۱۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۵/۲۹)

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر آلودگی به انگل *Posthodiplostomum cuticola* و میزان شدت آلودگی بر پارامترهای خون‌شناسی *Capoeta capoeta gracilis* نهر زرین گل در کنار تعیین محدوده طبیعی پارامترهای مذکور انجام گرفت. برای این منظور در تابستان ۱۳۸۹ تعداد ۱۳۲ قطعه ماهی شامل ۹۲ ماده و ۴۰ نر در محدوده طولی و وزنی ۵/۷-۱۶/۴ سانتی‌متر و ۲/۶۹-۳۵/۸۴ گرم با استفاده از الکتروشوکر (۱۵۰ ولت و ۱۰ آمپر) از ۹ ایستگاه صید و به صورت همزمان پارامترهای کیفی آب اندازه‌گیری شد. خون‌گیری از نمونه‌ها از طریق ورید ساقه دمی انجام شد. ماهیان پس از زیست‌سنجی، با استفاده از فلس تعیین سن و از طریق مشاهده بالینی غدد جنسی تعیین جنسیت شدند. همچنین تعداد لکه‌های انگلی بر روی پوست، باله و آبشش ماهیان آلوده شمارش شد. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای خونی ماهیان در دو جنس وجود ندارد ($P>0.05$). همچنین با افزایش سن، میزان هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافت ($P<0.05$). بیشترین فراوانی انواع گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، نوتروفیل و بازوفیل در سن ۲ سالگی شمارش و بیشترین شاخص خونی MCV و MCH در سن سه سالگی محاسبه شد ($P<0.05$). سیاه ماهیان آلوده به انگل دارای تعداد گلبول قرمز و نوتروفیل بیشتر، بالاتر و نفوسیت کمتری در مقایسه با ماهیان غیرآلوده بودند ($P<0.05$). مقایسه پارامترهای خونی ماهیان در شدت‌های مختلف آلودگی انگلی نشان داد با افزایش شدت آلودگی شمار کل گلبول‌های سفید، قرمز، فراوانی نوتروفیل و بازوفیل افزایش یافت ($P<0.05$). افزایش تعداد گلبول‌های سفید و انواع آن نشان‌دهنده مقابله بدن به حضور انگل از طریق تحریک بافت‌های خونی و سیستم ایمنی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای خون‌شناسی، جنسیت، سن، *Capoeta capoeta*, *Posthodiplostomum cuticola*, *gracilis*

* نویسنده مسئول: زهره مظاهری کوهانستانی

E-mail: zohremazaheri_65@yahoo.com

مقدمه

در بعضی موارد منجر به مرگ آبی هم می‌گردد (Williams & Jones, 1994; Rolbiecki, 2004).

در جریان مطالعه پویایی‌شناسی سیاه ماهیان نهر زرین‌گل، آلودگی به انگل *P. cuticola* در این گونه‌های بومی نهر مشاهده شد (Mazaheri et al., 2014a) که در این بین گونه سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) یکی از گونه‌های مستعد به آلودگی به این انگل (در سنین مختلف و با شدت مختلف) بود (Mazaheri et al., 2014b). وابستگی تغذیه سیاه ماهی به حضور پریفیتون‌ها از یک سو (Golizadeh et al., 2009) و ترجیح زیستگاهی حلزون به حضور در مناطق با پوشش گیاهی بالا و مواد پوسیده گیاهی و چوبی (Warren et al., 2000) شانس ابتلا این گونه به انگل را به دلیل افزایش شانس دسترسی متاسرکر به بافت این گونه افزایش می‌دهد (Mazaheri Kohanestani, 2012). شایان ذکر است که آلودگی به این انگل در برخی دیگر از گونه‌های بومی نهر زرین‌گل مانند گاو ماهی شنی خزری (*Neogobius fluviatilis pallasi*) و همچنین سیاه ماهی (*C. c. gracilis*) رودخانه شیروود مازندران گزارش شده است (Karimian et al., 2013; Rohi Aminijan & Malek, 20003).

گونه سیاه ماهی *C. c. gracilis* از خانواده کپورماهیان Cyprinidae می‌باشد. جنس سیاه ماهی در آفریقا، آسیای صغیر، سراسر ناحیه قفقاز در محدوده آسیا، سوریه، ایران، جنوب آسیای مرکزی، شمال هند و جنوب چین پراکنش دارد. پراکنش زیرگونه *C. c. gracilis* در ایران در حوضه جنوب دریای خزر، حوضه دریاچه ارومیه، اطراف اصفهان و در جنوب شرقی خراسان می‌باشد (Berg, 1949; Abdoli, 1999). سیاه ماهی در منابع آب‌شیرین کشور ما اعم از آبگیرها، دریاچه‌ها، چشمه‌ها، قنات‌ها و رودخانه‌ها حضور گسترده‌ای دارد. عدم گسترش این

ماهیان، میزبان طیف وسیعی از انگل‌ها هستند که از نظر سیستماتیک، زیستگاه و چرخه زندگی با یکدیگر تفاوت دارند (Barber et al., 2000). انگل پوستودیپلوستوم کوتیکولا (*Posthodiplostomum cuticola*) یک ترماتود دیژن است که گونه‌های زیادی از ماهیان را به خصوص خانواده کپور ماهیان را آلوده می‌کند (Schuster et al., 2001; Popioleck & Kotusz, 2003; Dzika, 2005; Shukerova, 2005). *P. cuticola* بالغ در روده پرندگان ماهی‌خوار نظیر حواصیل معمولی (*Ardea cinerea*)، ارغوانی (*A. purpurea*) و زرد (*A. ralloides*) زندگی می‌کند (Mierzerjewska et al., 2004). تخم انگل از طریق مدفوع پرنده وارد محیط آب شده و به‌صورت لارو آزاد، میراسیدیا، تفریخ می‌شود. سپس میراسیدیا وارد میزبان واسط اول خود حلزون می‌شود که عمدتاً از خانواده Planorbiidae مانند *P. planorbis* و *P. carinatus* می‌باشد و تولید تعداد زیادی اسپروسیست^۱ می‌کند که در چرخه تکاملی خود به فورکوسرکاریا^۲ تبدیل می‌شود. سپس فورسکاریا از میزبان واسط اول خود جدا و با نفوذ به پوست، باله و ماهیچه ماهی وارد میزبان واسط دوم خود می‌شود (Anon, 2010). آلودگی به متاسرکر^۳ در بافت‌های میزبان، ایجاد کیست‌هایی تیره می‌کند که ناشی از تولید رنگدانه تیره هموملانین حاصل از تجزیه هموگلوبین خون و تجمع کروماتوفور در محل آسیب انگل می‌باشد و به همین دلیل این بیماری با نام لکه سیاه^۴ در ماهیان آب شیرین شناخته می‌شود. عوارض دیگر این بیماری شامل لاغری، تغییرات پاتولوژیک روی ماهیچه، استخوان، کبد، کلیه و خون است و حتی

1. Miracidia
2. Sporocysts
3. Furcocercaria
4. Metacercaria
5. Black spot

شاخص‌های اریتروسیت را متأثر از آلودگی انگلی نمی‌باشد. کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و فراوانی لنفوسیت ناشی از آلودگی انگلی نیز در کپور ماهیان آلوده به مونوژن‌های داکتیلوژیروس و ژیروداکتیلوس توسط Ali & Ansari (2012) تأیید شد.

از آنجا که تشخیص بیماری و انگل‌ها به‌عنوان عوامل بیماری‌زا در مراحل ابتدائی که عوارض عفونت قابل تشخیص نیست در مدیریت شیلات اهمیت فراوان دارد و پارامترهای خونی یک ابزار مهم در تشخیص و پیش‌بینی بیماری در ماهی و ردیابی استرس‌های محیطی و درونی بدن ماهی می‌باشد (Tavares Dias *et al.*, 2008)، لذا هدف این مطالعه ابتدا شناسایی و تعیین محدوده طبیعی مشخصه‌های خونی و در گام بعدی مطالعه اثر آلودگی به انگل *P. cuticola* بر روی شاخص‌های خونی سیاه ماهیان *C. c. gracilis* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در شهریورماه ۱۳۸۹ در نهر زرین‌گل علی‌آباد کتول در استان گلستان انجام گرفت. تعداد ۱۳۲ قطعه سیاه ماهی *C. c. gracilis* شامل ۹۲ ماهی ماده و ۴۰ نر با الکتروشوکر (۱۵۰ ولت و ۱۰ آمپر) از ۹ ایستگاه در طول نهر صید گردید و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی انتقال داده شد. اندازه‌گیری پارامترهای کیفی آب نهر زرین‌گل نیز به صورت همزمان با صید ماهیان و استفاده از دستگاه واترچکر^۱ و اسپکتوفتومتر^۲ انجام گرفت (جدول ۱).

تعیین جنسیت ماهیان، با کالبدگشایی و مشاهده بالینی غدد جنسی صورت به‌صورت چشمی و در

ماهی در قاره‌های اروپا و امریکا سبب شده تا از دسترس بیشتر محققان دور مانده و جنبه‌های زیستی آن تا حدودی به صورت مبهم باقی بماند (Samaee *et al.*, 2006; Turkmen *et al.*, 2002).

ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از مهم‌ترین شواهد شرایط فیزیولوژیک آن‌ها و منعکس‌کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامت آن‌ها می‌باشد (Luskova, 1995). این ویژگی‌ها، الگوی ویژه‌ای برای هر گونه دارد و با تغییرات محیطی و شرایط فیزیولوژیک ماهی دستخوش تغییر می‌گردند (Fausch *et al.*, 1999). بنابراین تعیین محدوده طبیعی این پارامترها و ارائه تابلوی تغییرات این پارامترها تحت تأثیر عوامل بیولوژیک و فیزیولوژیک در گونه‌های مختلف ماهی به منظور حفاظت زیست‌محیطی از ذخایر ارزشمند ژنتیکی گونه‌ها ضروری به نظر می‌نماید (Khadjeh *et al.*, 2010). مطالعات متعددی در زمینه بررسی اثر آلودگی انگلی بر روی پارامترهای خون‌شناسی ماهیان صورت گرفته است. Jamalzadeh *et al.* (2008) آلودگی‌های انگلی به *Tetraonchus monenteron*، *Rhipidocotyle*، *Eustrongylides exises* و *Corynosoma Strumosum allense* را سبب تغییر مقادیر طبیعی برخی از پارامترهای خونی اردک‌ماهی تالاب انزلی *Esox lucius* گزارش نمودند. آلودگی به قارچ ساپروولگنیا نیز منجر به تغییر شمار کلی گلبول‌های سفید و فراوانی ائوزینوفیل‌ها در آزادماهی دریای خزر آلوده *Salmo trutta caspius* گزارش شده است (Jamalzadeh *et al.*, 2009). مطالعه Soberon *et al.* (2014) بر روی آلودگی انگلی به مونوژن *Anacanthorus spathulatus* را در ماهیان پرورشی *Colossoma macropomum* نشان داد آلودگی به انگل منجر به افزایش مقدار گلوکز سرم خون می‌شود درحالی‌که تغییرات مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، شمار کلی گلبول‌های سفید، قرمز و

1. Water checker u-10 (Wagtech Ltd, United Kingdom)

2. Spectrophotometer Libra S12 (Biochrom Ltd, United Kingdom)

میخک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار گرفت. خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ استریل ۵ سی‌سی با سرسوزن شماره شماره ۱ آغشته به هپارین و در ماهیان کوچک‌تر به روش قطع ساقه دمی انجام گرفت (Stolen et al., 1997). بلافاصله نمونه‌های خون به‌منظور تعیین مشخصه‌های خون‌شناسی بررسی شدند.

صورت نیاز با مشاهده زیر لوپ و تعیین سن به روش خوانش حلقه‌های سالبانه بر روی فلس صورت گرفت. طول کل با کولیس دیجیتال با دقت ۱ میلی‌متر و وزن کل بدن با ترازوی با دقت ۰/۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. قبل از خون‌گیری، به‌منظور کاهش استرس، ماهیان به مدت ۱۰ دقیقه در ظرف حاوی عصاره گل

جدول ۱. پارامترهای کیفی آب در محل نمونه‌برداری نهر زرین‌گل - استان گلستان

پارامتر کیفی آب	میانگین ± انحراف معیار	پارامتر کیفی آب	میانگین ± انحراف معیار
دما (°C)	۲۳±۰/۲۸	pH	۸/۳۳±۰/۰۵
اکسیژن محلول (mg/L)	۸/۹±۰/۰۱	فسفات (mg/L)	۰/۲۹±۰/۰۱۴
شوری (g/L)	۰/۰۶±۰	سولفات (mg/L)	۷۶/۵±۲/۱۲
هدایت الکتریک (μmhos/cm)	۱/۶۷±۰/۰۳	نترات (mg/L)	۰/۰۱۱±۰/۰۰۱
کدورت (FTU)	۸۶±۱/۴۱	نیتريت (mg/L)	۲/۶۴±۰/۵

$$MCV (fl) = \frac{HCT \times 10}{RBC}$$

$$MCH (Pg) = \frac{Hb \times 10}{RBC}$$

$$MCHC (\%) = \frac{Hb \times 100}{HCT}$$

به‌منظور بررسی اثر شدت آلودگی به انگل *P. cuticola* بر پارامترهای خون‌شناسی ماهیان از نظر تعداد نقاط انگلی در سه سطح کیفی کم، متوسط و زیاد گروه‌بندی شدند به‌طوری‌که در سطح کم ماهیان دارای ۱-۱۵ نقطه آلودگی، در سطح متوسط ماهیان دارای ۱۵-۳۰ نقطه و در سطح زیاد ماهیان با تعداد نقاط آلودگی بیش از ۳۰ نقطه قرار دارند.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری t، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد ($\alpha=0/05$) در محیط نرم‌افزار SPSS 17 استفاده گردید.

نتایج

دامنه طولی و وزنی سیاه ماهیان به‌ترتیب ۵/۷-۱۶/۴ سانتی‌متر و ۲/۶۹-۳۵/۸۴ گرم بود. سیاه ماهیان

به‌منظور اندازه‌گیری هماتوکریت، از لوله‌های میکروهماتوکریت هپارینه و میکروسانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) و خط‌کش مخصوص استفاده و سنجش شد. اندازه‌گیری میزان هموگلوبین نمونه‌ها با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین، با استفاده از محلول درابکین و قرائت میزان جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام گرفت.

شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون نمونه‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و محلول رقیق‌کننده دایس^۱ صورت گرفت. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی گسترش با استفاده از رنگ گیمسا، به صورت خوانش تصادفی ۱۰۰ گلبول سفید و محاسبه درصد فراوانی نسبی انواع خوانش شده گلبول سفید انجام گرفت.

ندیس‌های خونی MCV، MCH، MCHC با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (RBC در مخرج کسر بر حسب میلیون آورده شود):

1. Dacies

را بازوفیل‌ها (۲/۱۵ درصد) داشتند. متوسط مقدار هماتوکریت و هموگلوبین بترتیب ۴۱/۵ درصد و ۹/۹۸ گرم بر دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد. مطابق این جدول، پارامترهای خونی اختلاف معنی‌داری در دو جنس نشان ندادند ($P > 0.05$)، لذا در مرحله بررسی تأثیر آلودگی انگلی بر پارامترهای خون، تأثیر جنسیت مدنظر قرار نگرفت.

در گام بعدی جهت بررسی تأثیر انگل بر پارامترهای خونی ماهیان آلوده و غیرآلوده به انگل، پارامترهای خون‌شناسی ماهیان مذکور به تفکیک سن مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت (جدول ۳).

مقایسه پارامترهای خونی ماهیان غیرآلوده در سنین مختلف نشان داد میزان هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش سن افزایش معنی‌داری دارد. این روند افزایشی، اگرچه به صورت غیرمعنی‌دار ($P > 0.05$)، در تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شده در هر میلی‌متر مکعب خون نیز قابل مشاهده است، بطوریکه با افزایش سن از ۱ سالگی به ۳ سالگی متوسط تعداد آن از ۲/۰۳ به ۲/۷۲ میلیون عدد افزایش می‌یابد. بیشترین فراوانی انواع گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، نوتروفیل و بازوفیل در سن ۲ سالگی و بیشترین شاخص خونی MCV و MCH در سن سه سالگی محاسبه شد ($P < 0.05$).

همچنین در دامنه سنی $3^+ - 1^+$ سال قرار داشتند. از بین ماهیان مورد بررسی تعداد ۹۲ سیاه‌ماهی، نر، تعداد ۳۸ عدد دارای جنسیت ماده و ۲ قطعه سیاه‌ماهی نیز جنسیت نامشخص داشتند. همچنین بررسی وضعیت بافت‌های بدن از قبیل سطح پوست، باله، سرپوش آبششی و چشم‌ها از نظر وجود یا عدم وجود لکه‌های سیاه ناشی از حمله متاسرکر انگل نشان داد که از تعداد ۹۸ ماهی آلوده یا دارای لکه انگلی و ۳۲ قطعه غیرآلوده یا فاقد انگل بودند.

به منظور تعیین محدوده طبیعی پارامترهای خون‌شناسی سیاه‌ماهی، ابتدا مقادیر پارامترهای آن در دو جنس نر و ماده مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲). متوسط طولی و وزنی ماهیان ماده غیرآلوده به ترتیب $11/15 \pm 1/92$ سانتی‌متر و $14/03 \pm 7/61$ گرم و متوسط طولی وزنی ماهیان نر غیرآلوده به ترتیب $10/52 \pm 2/36$ سانتی‌متر و بر اساس $12/4 \pm 8/9$ گرم بود. بر اساس آزمون t دو طرفه، بین طول و وزن ماهیان غیرآلوده در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P = 0/139$ و $P = 0/191$). متوسط تعداد گلبول‌های قرمز $2/25$ میلیون عدد در میلی‌متر مکعب و گلبول‌های سفید $7/7$ هزار عدد در میلی‌متر مکعب بود که از این مقدار بیشترین درصد فراوانی را لنفوسیت‌ها (۷۹/۱۹ درصد) و کمترین مقدار

جدول ۲. پارامترهای خونی دو جنس نر و ماده سیاه ماهیان غیرآلوده

پارامتر/جنسیت	ماده (n=10)	نر (n=20)	P value	کل
هماتوکریت (%)	41/26 ± 6/38	41/23 ± 5/15	0/703 ^{n.s}	41/5 ± 5/6
هموگلوبین (g/dL)	10/07 ± 0/25	9/96 ± 0/22	0/840 ^{n.s}	9/98 ± 0/22
گلبول قرمز (میلیون/mm ³)	2/58 ± 0/75	2/2 ± 0/58	0/895 ^{n.s}	2/25 ± 0/63
گلبول سفید (هزار/mm ³)	6/8 ± 4/27	8/06 ± 2/49	0/131 ^{n.s}	7/7 ± 2/7
لنفوسیت (%)	79/45 ± 3/29	79 ± 42/72	0/704 ^{n.s}	79/19 ± 2/93
مونوسیت (%)	4/81 ± 1/72	5/73 ± 1/62	0/179 ^{n.s}	5/34 ± 1/7
نوتروفیل (%)	13/90 ± 2/77	12/86 ± 2/38	0/314 ^{n.s}	13/31 ± 2/56
بازوفیل (%)	1/82 ± 1/25	2/4 ± 1/06	0/211 ^{n.s}	2/15 ± 1/56
MCV (fl)	166/44 ± 70/47	193/63 ± 46/93	0/388 ^{n.s}	186/8 ± 52/5
MCH (Pg)	41/07 ± 15/56	47/97 ± 12/57	0/383 ^{n.s}	46/25 ± 13/19
MCHC (%)	25/05 ± 1/94	24/76 ± 2/16	0/816 ^{n.s}	24/72 ± 2/04

n.s: نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی بین دو جنس می‌باشد ($\alpha = 0/05$).

مقایسه پارامترهای خونی در ماهیان آلوده و غیرآلوده بیمار (با گروه سنی یکسان) نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان آلوده بیشتر از ماهیان مشابه بدون آلودگی انگلی بود ($P < 0.05$). تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده نیز در همه گروه‌های سنی در ماهیان آلوده افزایش نشان داد اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نشان داد فراوانی نسبی نوتروفیل در گروه آلوده به‌صورت معنی‌داری افزایش و در مقابل فراوانی لنفوسیت‌های آن با کاهش همراه بود ($P < 0.05$). همچنین شمار تعداد مونوسیت و بازوفیل‌ها نیز در گروه ماهیان آلوده نسبت به غیرآلوده بیشتر بود ($P > 0.05$). از میان شاخص‌های گلبول قرمز، شاخص MCV در ماهیان غیرآلوده بیشتر از

ماهیان آلوده محاسبه شد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهیان آلوده به انگل دیپلوستوم در شدت‌های مختلف آلودگی نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش شدت آلودگی انگلی افزایش معنی‌دار داشت به‌طوری‌که متوسط تعداد آن از $2/73$ میلیون در شدت آلودگی کم به $3/08$ میلیون در میلی‌متر مکعب در ماهیان به شدت آلوده افزایش یافت ($P < 0.05$). شمارش تعداد گلبول‌های سفید نیز با افزایش همراه بود ($P < 0.05$). فراوانی نسبی انواع گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل و بازوفیل نیز با افزایش شدت آلودگی افزایش نشان داد. افزایش شدت آلودگی منجر به کاهش شاخص خونی MCV می‌شود (جدول ۴).

جدول ۳. پارامترهای خونی در ماهیان آلوده و غیرآلوده به انگل دیپلوستوم در سنین مختلف سیاه ماهی

پارامتر/سن	سالم ^{۱+}	بیمار ^{۱+}	P	سالم ^{۲+}	بیمار ^{۲+}	P	سالم ^{۳+}	بیمار ^{۳+}	P
هماتوکریت (%)	32/33±4/51 ^a	32/41±4/9	0/986	41/04±4/77 ^{ab}	42/5±7/1	0/36	46±1/41 ^b	41/7±7/8	0/461
هموگلوبین (g/dL)	8/66±1/61 ^a	8/52±2/6	0/931	9/94±1/29 ^{ab}	10/44±2/7	0/32	11/25±1/76 ^b	12/06±0/79	0/312
گلبول قرمز (میلیون/mm ³)	2/03±0/54	2/8±0/15	0/0*	2/28±0/54	2/61±0/64	0/34	2/72±0/25	2/49±0/15	0/282
گلبول سفید (هزار/mm ³)	8/23±2/62	9/05±1/84	0/572	7/82±3/01	11/11±2/93	0/191	8/62±0/4	8/85±1/7	0/87
لنفوسیت (%)	80/82±1/17	77/17±1/76	0/00*	77/2±2/53	76/4±2/63	0/497	78/81±2/69	76/67±2/82	0/253
مونوسیت (%)	4/67±0/82 ^{ab}	6/33±2/06	0/096	5/8±1/03 ^b	5/8±0/63	1/000	4/4±1/14 ^a	5±1/33	0/446
نوتروفیل (%)	12/5±1/3 ^a	14±1/55	0/049*	14/9±2/13 ^b	15/5±1/96	0/520	14/14±1/85 ^b	15/6±4/39	0/631
بازوفیل (%)	1/83±0/75	2/5±1/52	0/358	2/1±0/99	2/3±1/33	0/709	1/8±0/9	2/8±1/64	0/290
MCV (fl)	198/22±52/9 ^{ab}	180/6±64/2	0/561	169/1±33/74 ^a	152/9±46/4	0/552	269/68±0/45 ^b	179/19±1/4	0/00*
MCH (Pg)	50/77±12/77 ^{ab}	45/14±13/79	0/407	39/24±6/33 ^a	44/15±16/23	0/58	64/59±0/57 ^b	49/48±11/28	0/169
MCHC (%)	25/79±1/48	25/66±6/03	0/957	23/24±1/03 ^a	29/27±8/31	0/188	23/9±0/13 ^{ab}	27/82±6/63	0/487

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی بین ماهیان آلوده و غیرآلوده می‌باشد. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی در سنین متفاوت می‌باشد ($\alpha=0.05$).

جدول ۴. پارامترهای خونی در سیاه ماهیان سالم و آلوده به انگل دیپلوستوم در شدت‌های مختلف

پارامتر/ شدت	سالم (n=30)	آلودگی کم (n=67)	آلودگی متوسط (n=25)	آلودگی شدید (n=10)
هماتوکریت (%)	41/5±5/6	38/86±7/67	43/8±7/64	40/9±6/91
هموگلوبین (g/dL)	9/98±0/22	10/73±2/66	10/1±3/15	11/75±2/86
گلبول قرمز (میلیون/mm ³)	2/25±0/63	2/73±0/07 ^{ab}	2/83±0/68 ^{ab}	3/08±0/62 ^b
گلبول سفید (هزار/mm ³)	7/7±2/7 ^a	10/25±3/57 ^b	10/08±2/34 ^b	10/08±3/52 ^b
لنفوسیت (%)	79/19±2/93 ^c	79/14±1/79 ^c	77/44±1/76 ^b	73/5±3/5 ^a
مونوسیت (%)	5/34±1/7 ^{ab}	4/41±0/89 ^a	4/89±0/9 ^{ab}	5/58±0/67 ^b
نوتروفیل (%)	13/31±2/56	14/44±1/19 ^{ab}	15/44±0/86 ^{ab}	17/16±2/59 ^b
بازوفیل (%)	2/15±1/56 ^a	2/05±0/98 ^a	2/22±1/17 ^a	3/75±1/13 ^b
MCV (fl)	186/8±52/5 ^b	167/8±50/2 ^{ab}	141/7±27/6 ^{ab}	128/1±38/7 ^a
MCH (Pg)	46/25±13/19	44/99±14/67	33/03±10/84	37/14±12/17
MCHC (%)	24/72±2/04	27/65±7/06	26/44±10/18	29/06±3/11

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی در سنین متفاوت می‌باشد ($\alpha=0.05$).

بحث و نتیجه گیری

پارامترهای خون شناسی ابزار بسیار مهمی در شناسایی و تشخیص سریع بیماری شناخته می‌شود که نسبت به دیگر صفات اندازه‌گیری شده شاخص بهتری در ردیابی استرس‌های محیطی و درونی بدن ماهی است. با این وجود، تغییرات تعداد سلول‌های خون در ماهیان آلوده به انگل بسیار مشکل است زیرا عملکرد دقیق هر یک از آن‌ها به طور کامل شناسایی نشده است (Tavares Dias *et al.*, 2008).

تعیین مشخصه‌های طبیعی خون در دو جنس نر و ماده نشان داد پارامترهای خونی در دو جنس تفاوت معنی‌داری نداشتند. مطالعات پیشین نشان داده است که در برخی از گونه‌ها پارامترهای خونی متأثر از جنسیت (Orun & Erdemli, 2003, 2002; Danabas *et al.*, 2010) و در برخی گونه‌ها مقادیر پارامترها در دو جنس تفاوت معنی‌داری ندارند (Darvish Bastami *et al.*, 2008; Gabriel *et al.*, 2004; Al Hassan *et al.*, 1993). Yousefzadeh & Khara (2015) تفاوت در میزان پارامترهای خون شناسی در دو جنس را بیشتر به نیاز اکسیژن‌خواهی آن‌ها که مربوط به فعالیت‌های تولیدمثلی می‌باشد مرتبط دانست. در مطالعه حاضر میزان هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در جنس ماده بیشتر از نر بود، اگرچه این تفاوت در سطح $\alpha=0/05$ معنی‌دار نبود. با توجه به این که غالب گروه سنی سیاه ماهیان در مطالعه حاضر در گروه سنی 2^+ قرار داشتند (Mazaheri Kohanestani *et al.*, 2014b) به نظر می‌رسد اثرات ناشی تغییر شرایط فیزیولوژیک ماهیان ماده بالغ در ارتباط فعالیت‌های تولیدمثلی منجر به تغییرات یاد شده در مشخصه خونی شده است. Yousefzadeh & Khara (2015) مشخصه‌های خونی دو جنس *C. c. gracilis* را بدون تفاوت ناشی از جنسیت گزارش نمودند. نتایج مشابهی نیز از عدم تفاوت پارامترهای خونی در دو جنس نر و ماده *C. c. gracilis* توسط

Yousefzadeh *et al.* (2012) مشاهده شد. نویسندگان این امر را ناشی از عدم وابستگی این پارامترها به جنسیت و عدم اثرگذاری تفاوت غدد جنسی و سوماتیک جنس نر و ماده بر میزان پارامترهای خونی عنوان نمودند.

نتایج بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهی در سنین مختلف نشان داد با افزایش سن، میزان هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان افزایش معنی‌داری که مطابق با نتایج Hrubec *et al.* (2001) همسو است. میزان اکسیژن مصرفی در ماهیان وابسته به ویژگی‌های فیزیولوژیک نظیر بلوغ و رسیدگی جنسی، سن و اندازه ماهی و همچنین تحت تأثیر پارامترهای محیطی از قبیل دما و تغذیه می‌باشد. با توجه به این که سیاه ماهی در سن ۲ سالگی بالغ می‌شود، افزایش میزان هموگلوبین در کنار افزایش غیرمعنی‌دار گلبول‌های قرمز شاید بتوان ناشی از شرایط فیزیولوژیک ماهی در این سن دانست که در پاسخ به نیاز به جذب بیشتر اکسیژن می‌باشد. با افزایش سن میزان هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز، حجم گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین در سلول‌های قرمز خون نیز افزایش می‌یابد که راندمان تبادلات گازی را افزایش تا نیاز بدن ماهی را مرتفع سازد. نتایج بدست آمده همسو با نتایج Orun & Erdemli (2003) می‌باشد. افزایش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها در کنار انواع دیگر گلبول‌های سفید (بازوفیل) سطح مقاومت بدن را در مقابل استرس‌های محیطی افزایش می‌دهد (Tavares Dias *et al.*, 2008) گواهی بر شرایط حساس فیزیولوژیک ماهی در دوره تخم‌ریزی و بلوغ است. مطالعه روی پارامترهای خونی *Cyprinus carpio* نشان داد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش اندازه ماهی افزایش می‌یابد. این بدین معنا است که همگام با افزایش وزن، حجم خون بعنوان یک سازگاری جهت تولید تعداد بیشتر گلبول‌های قرمز خونی افزایش می‌یابد (Yeganeh, 2012). Ranzani Paiva (1995) در مطالعه روی

عنوان یکی از بافت هدف انتخاب می‌نماید، به نظر می‌رسد افزایش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از پرخونی به علت آسیب بافت آبشش توسط انگل باشد که با نتایج Lebelo *et al.* (2001) نیز همسو می‌باشد. گلبول‌های سفید به خصوص گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها توانایی تخریب عوامل بیماری‌زا را دارند. نوتروفیل‌ها نیز به علت توانایی فاگوسیتوز عوامل خارجی، اولین لوکوسیت‌هایی هستند که به محل آسیب دیده مهاجرت می‌نمایند. افزایش تعداد گلبول‌های سفید و نوتروفیل نشان دهنده مقابله بدن به حضور انگل می‌باشد. مطالعات زیادی افزایش تعداد انواع گلبول‌های سفید را در ماهیان بیمار همزمان با افزایش شدت آلودگی تأیید نموده‌اند (Jamalzadeh *et al.*, 2009; Movahed, 2009; Jamalzadeh *et al.*, 2014).

بررسی تأثیر شدت آلودگی به انگل *P. cuticola* بر روی مشخصه‌های خونی سیاه ماهی نشان داد با افزایش شدت آلودگی شمار گلبول‌های قرمز خون، فراوانی نوتروفیل و بازوفیل افزایش و درصد فراوانی نفوسیت‌ها با کاهش همراه بود. این در حالی است که شمار کلی تعداد گلبول‌های سفید در ابتدای آلودگی نسبت به ماهیان سالم افزایش داشت اما بین ماهیان آلوده با شدت‌های مختلف آلودگی تغییرات زیادی نشان نداد. Witeska *et al.* (2010) پارامترهای خونی کپور ماهیان *Cyprinus carpio* آلوده به قارچ ایکتیوفتریوزس را مورد مطالعه قرار دادند. بر اساس مطالعه مذکور آلودگی به قارچ ایکتیوفتریوزس باعث تغییرات پارامترهای خونی در سطوح مختلف شدت آلودگی انگلی می‌شود بطوری که در سطح کم شاهد افزایش شمار کلی گلبول‌های سفید بدون تغییر در فراوانی انواع لکوسیت‌ها و در سطح شدید آلودگی همراه با لیمفوپنیا و افزایش جمعیت نوتروفیل و مونوسیت بود. مطالعه پارامترهای خون‌شناسی کپور معمولی آلوده به انگل ایک نشان داد که تعداد لوکوسیت‌ها در اوایل بیماری تغییرات شدید و قابل توجهی داشته اما در طول دوره عفونت تعداد تغییرات

پارامترهای خونی *Mugil platanus* متوسط پارامترهای هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC را در ماهیان با طول بیشتر، بالاتر گزارش نمود. Yousefzadeh *et al.* (2012) فراوانی نفوسیت در ماهیان مسن‌تر *C. c. gracilis* را به علت متوقف شدن توسعه بافت هماتوپرکنتر لنفوئیدی که در تولید نفوسیت‌ها نقش دارد کمتر گزارش نمود. همچنین شمار کل گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های اریتروسیته در مقایسه با ماهیان جوان‌تر بیشتر مشاهده نمود.

بررسی اثر آلودگی به انگل *P. cuticola* بر پارامترهای خونی سیاه ماهیان، افزایش گلبول قرمز و نوتروفیل را در ماهیان بیمار نشان داد. این روند به صورت غیرمعنی‌دار در گلبول‌های سفید، فراوانی مونوسیت و بازوفیل هم قابل مشاهده بود. Shah *et al.* (2009) افزایش تعداد گلبول‌های سفید از مقدار ۱۵/۸ هزار به ۳۹/۳ هزار عدد در میلی‌مترمکعب در *Cyprinus spp* و افزایش شمار گلبول‌های سفید از مقدار ۱۵/۶ هزار به ۲۷/۶ هزار عدد در میلی‌متر مکعب در *Schizothorax spp* آلوده به چند نوع انگل از نوع سستود، ترماتود و اکانتوسفال گزارش نمود. همچنین فراوانی ائوزینوفیل‌ها نیز در ماهیان آلوده به انگل بیشتر بود. آلودگی به انگل *Lernaea cyprinacea* در *Schizodon intermedius* نیز منجر به کاهش معنی‌دار فراوانی نفوسیت‌ها (نفوسیت‌پنیا) و افزایش معنی‌دار نوتروفیل‌ها در ماهیان بیمار شد (Silva Souza *et al.*, 2000).

انگل‌ها مانند بسیاری از عوامل استرس‌زا، منجر به آزاد شدن مواد تحریک کننده تولید گلبول‌های قرمز نظیر کته‌کول آمین‌ها^۱ تحت تأثیر تغییرات هماتوکریت در خون می‌شوند (Wells & Weber, 1990). با توجه به انگل *P. cuticola* بافت آبشش را نیز به

1. Catecholamine

و آنتی‌بادی‌های مؤثر در دفاع سلول‌ها در مقابل عامل عفونت هستند. پاسخ پاتولوژیک بدن به‌صورت افزایش شمار تعداد گلبول‌های سفید و یا انواع آن می‌باشد (Sabri et al., 2009).

سپاسگزاری

از آقای مهندس مسعود مولائی کارشناس آزمایشگاه محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت همکاری‌های آزمایشگاهی و گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که همکاری‌های لازم را در تأمین امکانات آزمایشگاهی این تحقیق داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

- Abdoli, A.; (1999). Inland Fishes of Iran, 2nd ed: Tehran, Natural museum and wild environment of Iran. 377p.
- AL-Hassan, L.A.J.; Ahmed, H.K.; Majeed, S.A.; (1993). Some hematological parameters in relation to the biology of the fish *Acanthopagrus latus*. J Environ Sci: Health Part A; 28: 599-1611.
- Ali, H.; Ansari, K.K.; (2012). Comparison of Haematological and Biochemical indices in healthy and Monogenean infected Common Carp, *Cyprinus carpio*, Ann Biol Res; 3(4): 1843-1846.
- Anon, B. S.; (2010). National Fisheries Technical Team Fish Health, Aging and Species. 1st ed.: Huntingdon, Environment Agency Bromholme Lane, Brampton; 2010:1-2.
- Barber, I.; Hoare, D.; Krause, J.; (2000). Effects of parasites on fish behavior: a review and evolutionary perspectives, Rev Fish Biol Fisher; 10:131-165.
- Berg, L.S.; (1949). Freshwater fishes of Iran and adjacent countries, Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk SSSR; 8: 783-858.
- Danabas, D.; Cıkıcoglu Yildirim, N.; Kucukgul Gulec, A.; (2010). An Investigation on some hematological and biochemical parameters in *Capoeta trutta* from Munzur River, J Anim Vet Adv; 9(20): 2578-2582.
- Darvish Bastami, K.; Hajimoradloo, A.; Mohammadi Zaragabadi, S.V.; Salehi Mir, M.; Shakiba, M.; (2008). Measurement of some hematological characteristics of the wild carp, Comp Clin Path; 18(3): 321-323.
- Dzika, E.; (2005). Changes in the parasitic fauna of Rudd *Scardinius erythrophthalmus* (L.) from Lake Warniak, Poland, Helminthologia; 42: 219-222.
- Fausch, K.D.; Lyons, J.R.; Karr, J.R.; Angermeier, P.L.; (1990). Fish communities as indicators of environment degradation, Am Fish Soc Symp; 8:123-144.
- Gabriel, U.; Ezeri, G.N.O.; Opabunmi, O.O.; (2004). Influence of sex, source, health status and acclimation on the hematology of *Clarias gariepinus*, Afr J Biotechnol; 3(9): 463-467.
- Gholizadeh, M.; Ghorbani, R.; Salman Mahini, A.R.; Hajimoradloo, A.; Rahmani, H.; Mollaei, M.; Nematı, M.; (2009). Food habits of *Capoeta capoeta gracilis* in Zaringol Stream, Golestan Province, J Agric Sci Natur Resour; 16(2): 70-76. (in Persian)

- Hines, R.S.; Spira, D.T.; (1973). Ichthyophthiriasis in the mirror carp, Leucocyte response, J fish Biol; 26: 527-234.
- Hrubec, T.C.; Smith, S.A.; Robertson, J.L.; (2001). Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*), Vet Clin Path; 30: 8-15.
- Jamalzadeh, F.; Khara, K.; Daghygh Rohi, J.; Sayad Borani, M.; (2014). Effects of parasitic infections on some hematological parameters of pike (*Esox lucius* linnaeus, 1785) in the Anzali wetland, J Anim Res; 27(1): 22-36. (in Persian)
- Jamalzadeh, H.R.; Keyvan, A.; Ghomi, M.R.; Gherardi, F.; (2009). Comparison of blood indices in healthy and fungal infected Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*), Afr J Biotechnol; 8(2): 319-322.
- Khadjeh, G.H.; Mesbah, M.; Nikmehr, S.; Sabzevarizadeh, M.; (2010). Effect of sex on the hematological parameters of reared Shirboat fish (*Barbus grypus*), J Vet Res; 65(3): 217-224. (in Persian)
- Lebelo, S.L.; Saunders, D.K.; Crawford, T.G.; (2001). Observations on Blood Viscosity in Striped Bass, *Morone saxatilis* Associated with Fish Hatchery Conditions, Trans Kans Acad Sci; 104: 183-194.
- Luskova, V.; (1995). Determination of normal values in fish, Acta Univ Carol Biol; 39:191-200.
- Mazaheri Kohanestani, Z.; (2012). Seasonal dispersion of infected fishes with parasite, *Posthodiplostomum*, in relation to environmental factors in Zaringol stream, Golestan Province [dissertation]- Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources; 106-108.
- Mazaheri Kohanestani, Z.; Ghorbani, R.; Hajimoradloo, A.; Yelghi, S.; Hosseini, S.; (2014b). Effect of parasite infection with *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) on fish growth rate in Zaringol Stream in Golestan Province, Iran J Fish Sci; 22(3): 128-134. (in Persian)
- Mazaheri Kohanestani, Z.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R.; Hosseini, S.; Yelghi, S.; (2014a). Relationships of the host and pathogen: Emphasizing the *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) of fish species in the Zaringol Stream, Golestan Province, J Appl Ichthyol Res; 1(4): 65-80. (in Persian).
- Mierzerjewska, K.; Wlasow, T.; Kapusta, A.S.K.; (2004). Fish digeneans from the seven islands ornithological reserve at Oswin lake Poland. Part I. *Posthodiplostomum cuticola* von Nordmann, 1832, Acta Ichthyol; 34: 73-84.
- Movahed, R.; (2009). Effect of parasite infection on some hematological parameters of *Sander lucioperca*, Caspian Sea, J Biol Sci; 7(2): 61-72. (in Persian)
- Ondrackova, M.; Reichard, M.; Jurajda, P.; Gelnar, M.; (2004). Seasonal dynamics of *Posthodiplostomum cuticola* (Digenea, Diplostomatidae) metacercariae and parasite-enhanced growth of juvenile host fish, Parasitol Res; 93: 131-136.
- Orun, I.; Erdemil, U.; (2002). A study on blood parameters of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). J Biol Sci; 2(8): 508-511.
- Orun, I.; Erdemil, U.; (2003). A study on blood parameter of *Capoeta capoeta umbra* (Heckel, 1834). Captured from Karakaya Dam Lake, Fen ve muhendislik bilimleri dergisi; 15(2): 17-25.
- Popioleck, M.; Kotusz, J.; Endoparasitic helminths of fishes of the genus *Cobitis* from Poland, Folia Biol; 51: 173-178.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; (1995). Características hematológicas de tainha *Mugil platanus* Guñther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananeia-SP (Lat.

- 25_000S–Long. 47_550W), Bol Inst de Pesca; 1: 1-22.
- Rohi Aminijan, A.; Malek, M.; (2003). Ecological study on helminths parasites of *Capoeta capoeta gracilis* in Shiroud River (Mazandaran Province), Iran J Fish Sci; 13(2): 73-82. (in Persian)
- Rolbiecki, L.; (2004). Distribution of *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) (Digenea; Diplostomidae) metacercariae in Cyprinids of the Vistula lagoon, Poland, Arch Pol Fish; 12: 93-98.
- Sabri, D.M.; El-Dansoury, M.E.H.; Eissa, I.A.E.M.; Khouraba, H.M.; (2009). Impact of Henneguyosis infestation on hematological parameters of catfish (*Clarias garipienus*), Int J Agri Biol; 11(2): 228-230.
- Samaee, S.M.; Mojazi Amiri, B.; Hosseini Mazinani, S.M.; (2006). Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers, Folia Zool; 55(3): 323-335.
- Schuster, R.; Wanjek, K.; Schein, E.; (2001). Investigations on the occurrence of muscle metacercariae in the roach (*Rutilus rutilus*) from Berlin waters, Arch Lebensm Hyg; 52: 102-104.
- Shah, A.W.; Parveen, M.; Mir, S.H.; Sarwar, S.G.; Yousuf, A.R.; (2009). Impact of helminths parasitism on fish hematology of Anchar Lake, Kashmir, Pak J Nutr; 8(1): 42-45.
- Silva Souza, A.T.; Almedia, S.C.; Machado, P.M.; (2000). Effect of the infestation by *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda, Lernaeidae) on the leucocytes of *Schizodon intermedius* Garavello & Britski, 1990 (Osteichthyes, Anostomidae), Rev Brasil Biol; 60(2): 217-220.
- Shukerova, S.; (2005). Helminths fauna of the Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), from the Srebarna biosphere reserve, Trakia J Sci; 3: 33-40.
- Soberon, L.; Mathews, P.; Malherios, A.; (2014). Hematological parameters of *Colossoma macropomum* naturally parasitized by *Anacanthorus spathulatus* (Monogenea: Dactylogiridae) in fish farm in the Peruvian Amazon, Int Aquat Res; 6: 251-255.
- Soleimani, N.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R.; Khoshbavar Rostami, H.; (2008). Study on hematological parameters of infected carp with *Ichthyophthrius Multifilis*. Proceeding of the 1th national conference on fishery science and aquatic animals of Iran; 2008; May 8-9, Lahijan, Iran. Lahijan: Azad University–Lahijan branch; 134-138.
- Stolen, J.S.; Flether, T.C.; Rowley, A.F.; Zelikoff, J.T.; Kattari, S.L.; Smith, S.A.; (1997). Techniques in fish Immunology-no 3, 2nd ed: Fairhaven USA, SOS Publication. 222p.
- Tavares Dias, M.; Moraes, F.R.; Martins, M.L.; (2008). Hematological assessment in four Brazilian teleost fish with parasitic infection, collected in Fee-fishing from Franca, Brazila. Instituto de pesca, Sao Paulo; 34(2): 189-196.
- Turkmen, M.; Erdogan, O.; Yildirim, A.; Akyurt, I.; (2002). Reproduction tactics, age and growth of *Capoeta capoeta umbla* Heckle, 1843 from the Askale Region of the Karasu River, Turk Fish Res; 54: 317-324.
- Warren, G.L.; Holt, D.A.; Cichra, C.; Van Genecten, D.; (2000). Fish and Aquatic Invertebrate Communities of the Wekiva and Little Wekiva Rivers: A Baseline Evaluation in the Context of Florida Minimum Flows and Levels Statues, 1^d ed: Florida, St Johns River Water Management District Special Publication SJ2000-SP4. 271p.
- Wells, R.M.G.; Weber, J.; (1990). The spleen in hypoxic and exercised rainbow trout, J Exp Biol; 150: 461-466.
- Williams, H.; Jones, A.; (1994). Parasitic worms of Fish, 1^d ed: London, Taylor and Francis. 593p.
- Witeska, M.; Kondera, E.; Lugowska, K.;

- (2010). The effects of ichthyophthiriasis on some haematological parameters in common carp, Turk J Vet Anim Sci; 34(3): 267-271.
- Yeganeh, S.; (2012). Seasonal changes of blood serum biochemistry in relation to sexual maturation of female common carp (*Cyprinus carpio*), Comp Clin Path; 21(5): 1059-1063.
- Yousefzadeh, F.; Khara, H.; (2015). Changes in blood chemistry and hematological indices of *Capoeta capoeta gracilis* in relation to age, sex, and geographic location, Comp Clin Path; 24: 791-795.
- Yousefzadeh, F.; Nezami, S.; Khara, H.; (2012). Study on hematological parameters of *Capoeta capoeta gracilis* in Talar River, Mazandaran province, Aquatic Science and Fishery; 11: 67-75. (in Persian)

Archive of SID