



## بررسی برخی فاکتورهای هماتولوژیک در بعضی از ماهیان خانواده *Acipenseridae*

شبلم گزازانی فراهانی<sup>۱</sup>

چکیده

با توجه به اهمیت علم هماتولوژی، این مقاله به منظور تعیین فاکتورها و شاخص‌های اولیه خونی شامل Hb، RBC، WBC، Hct و درصد افتراقی گلبول‌های سفید از قبیل نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۷ در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در سد سنگر بر روی ۵ گونه از ماهیان خاویاری شامل اوزن‌برون، قره‌برون، شیپ، استرلیاد و فیل ماهی به تعداد ۲۵ عدد (از هر گونه ۵ عدد) در رده‌های سنی ۲ تا ۳ سال انجام شد. پس از انجام مراحل خونگیری از هر یک از ماهیان، نمونه‌های خونی به منظور تعیین فاکتورهای هماتولوژیک در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز آماری این داده‌ها نشان داد که فیل ماهی از لحاظ غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و درصد لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل (۱۱/۸، ۸۲/۶، ۲۳۶۷۰۰، ۶۹۶۰۰۰، ۱/۳، ۶۸/۷۴) اختلاف معناداری با سایر گونه‌ها داراست. از نظر درصد لنفوسیت‌ها نیز سه گونه استرلیاد، قره‌برون و شیپ اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان ندادند. کلمات کلیدی: فاکتورهای هماتولوژیک، خانواده *Acipenseridae*، سواحل ایرانی دریاچه خزر

مقدمه

هدف از انجام این مقاله علاوه بر قیاس شاخص‌های خونی در میان گونه‌های مشخص شده استفاده از این فاکتورها در

تشخیص، درمان و پیشگیری از انواع بیماری‌های آبزیان و شناخت عوامل تأثیرگذار بر این شاخص‌ها از قبیل شرایط نگهداری آبزی، عوامل اکسیژنی و استرس‌زای محیطی، مراحل رسیدگی جنسی، رژیم غذایی و آلودگی و صید را می‌توان نام برد.

خون بافتی همبند، شامل پلاسما، رشته‌های فیبرین و عناصر سلولی از قبیل گلبول‌های سفید، قرمز و ترمبوسیت‌هاست (۴) و حامل موادی از قبیل یون‌های غیر آلی، هورمون‌ها، ویتامین‌ها و پروتئین‌های پلاسما می‌باشد که میزان آنها از ۲ تا ۶ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متغیر است (۲).

حجم خونی ماهیان از سایر مهره‌داران کمتر است و در ماهیان استخوانی حدوداً بین ۲ تا ۴ میلی‌لیتر، در ماهیان الاسموبرانش ۶ تا ۸ میلی‌لیتر و در آزاد ماهیان ۵ تا ۷ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن می‌باشد (۲). بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص بیماری‌ها و کنترل زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان است (۳)، مشروط بر این که میزان این پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی و دامنه تغییرات آن در انواع ماهیان پرورشی از جمله ماهیان خاویاری در سنین بچه ماهی و یا بالاتر در شرایط اقلیمی و فیزیولوژیک هر منطقه مورد بررسی قرار گیرد (۳) و (۵). عوامل استرس‌زا، آلاینده‌ها، تغذیه و شرایط اکولوژیکی منجر به بروز تغییرات عمده‌ای در ساختار خون ماهیان از لحاظ میزان سطح هورمون، مقدار پروتئین، گلوکز و تعداد گلبول‌های سفید و قرمز می‌گردد (۶). از آنجا که بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روزانه زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان است،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه علوم و تحقیقات

Email: shabi.farahani@yahoo.com

مطالعه حاضر با هدف تعیین غلظت Hb، میزان RBC، WBC و Hct و در صد افتراقی گلبول‌های سفید در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۷ طی یک مرحله خونگیری در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در سد سنگر انجام پذیرفت. در ابتدای کار وزن و طول هر یک از ماهیان بر حسب گرم و سانتی‌متر توسط ترازوی دیجیتال و تخته بیومتری محاسبه و سپس داده‌های حاصل از طول و وزن هر یک از گونه‌ها میانگین‌گیری شد و انحراف معیار هر یک از داده‌ها در جداول شماره ثبت گردید.

جدول ۱: میانگین وزن و طول در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری (n=5)

نوع گونه	اوزون برون	قره برون	شیپ	استرلیاد	فیل ماهی
وزن (gr)	۴۲۷ ± ۱۱۱ / ۶۱	۶۰۳ ± ۱۰۷ / ۹۶	۲۱۷ ± ۵۳ / ۱۰	۳۶۹ ± ۱۷۱ / ۳۶	۲۷۳۲ ± ۴۹۶ / ۹۲
طول (cm)	۵۹ / ۳۴ ± ۳ / ۸۳	۵۷ / ۲۴ ± ۳ / ۱۷	۳۹ / ۰۶ ± ۲ / ۵۳	۴۷ / ۲ ± ۵ / ۶۰	۸۳ / ۰۸ ± ۴ / ۶۸

این روش عیناً مشابه شمارش گلبول‌های قرمز است با این تفاوت که در شمارش گلبول‌های سفید از محلول رقیق کننده گلبول‌های سفید به نام پروزکا - اسکوربک استفاده می‌گردد (۱۱).

— **هماتوکریت Hct (Packed - cell - volume) یا PVC**  
در شمارش تعداد گلبول‌های قرمز به حجم کل خون از روش Svobodova & Vykusova استفاده گردید (۱۲).

— **درصد افتراقی گلبول‌های سفید**  
پس از انجام مراحل رنگ‌آمیزی توسط گیمسا گسترش نازک و شامل یک لایه سلولی تهیه و با بزرگ نمای ۱۰۰ به کمک روغن ایمرسیون در زیر میکروسکوپ مشاهده می‌کنند و به منظور شمارش هر یک از انواع گلبول‌های سفید (در این آزمایش لنفوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل) بر روی لام به

بررسی های هماتولوژیک نیز یکی از مهم ترین فاکتورهای زیستی در آبی پروری محسوب می شود و تاریخ این مطالعات به قرن ۱۹ میلادی برمی گردد (۱۱) بدین منظور تحقیق حاضر اقدام به مقایسه‌ای اجمالی پیرامون ۴ گونه از ماهیان بومی دریای خزر شامل *Huso huso* (فیل ماهی)، *Aupenser persicus* (قره برون)، *Acipenser stellatus* (اوزون برون) و *Acipenser nudiventris* (شیپ) و یک گونه غیر بومی به نام *Acipenser ruthenus* (استرلیاد) نمود.

### مواد و روش کار

تعداد کل نمونه‌های بررسی شده در این تحقیق ۲۵ عدد بود که شیپ‌ها ۲ ساله و ۴ گونه دیگر همگی ۳ ساله بودند.

پس از بیومتری توسط سرنگهایی ۲ cc از انتهای باله مخرجی به میزان ۱ cc از ماهی خونگیری به عمل آمد. سپس خون اتخاذ شده سریعاً به درون لوله‌های هپارینه شده منتقل گردید (۱۱) و سریعاً از هر یک از نمونه‌های خون به روش Corer slipe گسترش تهیه (۱۱) و نهایتاً نمونه‌ها به منظور تعیین شاخص‌های خونی در آزمایشگاه بررسی شدند.

### — هموگلوبین Hb (Haemoglobin)

در این تحقیق در تعیین غلظت هموگلوبین از روش Cyanmethemoglobin استفاده گردید (۳) و (۱۰ و ۱۲).

### — شمارش اریتروسیت‌ها RBC (Red - blood - cell)

در شمارش اریتروسیتها از روش Hrubec & Smith استفاده شد (۱۰).

### — شمارش گلبول‌های سفید WBC (White - blood - cell)

WBC



آنالیز آماری این داده هاتوسط نرم افزار spss، آزمون one way Anova و تست Tukey انجام شد.

صورت مارپیچی حرکت کرده و با دیدن هر نوع از سلول‌ها، شاسی مربوط به همان نوع گونه را در دستگاه شمارنده فشار داده تا تعداد کل به ۱۰۰ عدد برسد. در نتیجه تعداد هر یک از سلول‌ها جداگانه قابل محاسبه خواهد بود.

جدول ۲: میانگین داده‌ها در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری (n=5)

فاکتور خونی	اوزون برون	قره برون	شیپ	استرلیاد	فیل ماهی
Hb(gr/dl)	۶/۳±۰/۶۹	۴/۶۲±۰/۳۸	۶/۰۸±۰/۸۱	۵/۳۸±۱/۹۶	۳/۷۴±۱/۴۱
RBC Million/cum	۴۹۴۰۰±۳۷۴۹۴۰	۳۶۶۰۰۰	±۳۷۲۰۹۳/۱	±۳۱۶۹۹۰/۲ ۵۸۸۴۰۰	۶۹۶۰۰±۱۶۰۰۹۳/۷
WBC /cumm	±۲۵۹۷۱/۵۶ ۳۲۸۸۰	۴۰۰۰۰±۱۲۸۶۴/۶	±۵۰۳۸/۱۵۴ ۵۳۰۶۰	±۳۳۱۲۰/۹۹ ۴۲۵۰۰	۲۳۶۷۰۰±۳۳۹۹۹۷/۲
Hct (%)	۲۶/۲±۲/۳۸	۲۳/۶±۱/۶۷	۲۷/۶±۲/۹۶	۲۳±۶/۷۴	۱۶/۸±۵/۶۳

دادند و اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان دادند. در ارتباط با تعداد گلبول‌های سفید، فیل ماهی اختلاف معناداری را با سایر گونه‌ها نشان داد. از لحاظ درصد هماتوریک، اوزون برون و شیپ اختلاف معناداری را با فیل ماهی نشان دادند. شیپ بیشتری و فیل ماهی کمترین مقدار هماتوکریت را دارا بودند.

از لحاظ غلظت هموگلوبین، اوزون برون و شیپ اختلاف معناداری را با فیل ماهی نشان دادند. اوزون برون بالاترین و فیل ماهی پایین‌ترین میزان غلظت Hb را دارا بودند. در این بررسی فیل ماهی و شیپ به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد گلبول‌های قرمز را در بین سایر گونه‌ها به خود اختصاص

جدول ۳: میانگین درصد‌های افتراقی در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری (n=5)

نوع گونه	اوزون برون	قره برون	شیپ	استرلیاد	فیل ماهی
نوتروفیل (%)	۴/۶±۳/۲۰	۷/۸±۴/۰۸	۶/۸±۳/۷۶	۷/۲±۳/۴۹	۵/۶±۱/۹۴
لنفوسیت (%)	۹۴±۳/۰۸	۸۹/۶±۴/۷۷	۹۲/۲±۴/۲۰	۴/۵۴±۹۰/۸	۸۲/۶±۷/۰۹
ائوزینوفیل (%)	۲/۳±۰/۸۹	۲/۶±۰/۸۹	۱/۲±۵/۰۵	۲±۱/۲۲	۱۱/۸±۸/۱۶

لنفوسیت‌ها را دارا بودند و فیل ماهی نیز اختلاف معناداری را با اوزون برون، شیپ و استرلیاد نشان داد اما قره برون اختلاف معناداری با سایر گونه‌ها نداشت. فیل ماهی و شیپ بیشترین

در این تحقیق قره برون و اوزون برون به ترتیب بیشترین و کمترین درصد نوتروفیل‌ها را در بین سایر گونه‌ها داشتند ولی استرلیاد، شیپ و قره برون اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان ندادند. اوزون برون و استرلیاد، بیشترین و کمترین درصد

و کمترین درصد ائوزینوفیل‌ها را داشتند و اختلاف معناداری بین فیل ماهی و سایر گونه‌ها مشاهده شد.

### بحث و نتیجه گیری

اوزون‌برون و شیپ از لحاظ غلظت Hb، اختلاف معناداری را با فیل ماهی نشان دادند و اوزون‌برون بالاترین و فیل ماهی پایین مقدار هموگلوبین را داشتند. با توجه به اهمیت هموگلوبین در تبادلات اکسیژنی بنابر احتمال می‌توان بیان کرد که اوزون‌برون و شیپ نیازهای اکسیژنی بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها داشتند و این افزایش استرس و دمای محیط تأثیر مخرب بیشتری بر میزان هموگلوبین این گونه‌ها خواهد داشت (۶) و (۹). تغییرات غلظت هموگلوبین می‌تواند بر بازده قلب و وزن ماهیان تأثیرگذار باشد. از طرفی شرایط تغذیه‌ای (۶) و (۸) و نیازهای فیزیولوژیک نیز بر غلظت Hb مؤثر است (۷).

فیل ماهی و شیپ بیشترین و کمترین تعداد گلبولهای قرمز را داشتند و اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان دادند. مؤثرترین عوامل بر تعداد اریترویست‌ها شامل تغییرات فصلی و حرارتی (۳) و دسترسی به اکسیژن و فتوپریود (۶) می‌باشد. فیل ماهی اختلاف معناداری با سایر گونه‌ها در تعداد گلبول‌های سفید نشان داد. از آن‌جا که گلبول‌های سفید موجب ایمنی آبی در مقابل عوامل بیماری‌زای باکتریایی و ویروسی می‌شوند می‌توان احتمال داد که فیل ماهی به جهت اندازه، نوع گونه و شرایط نگهداری (در مخازن بزرگ) در برابر عوامل پاتوژن، پایداری بیشتری از خود نشان می‌دهد.

اوزون‌برون و شیپ در مقدار هماتوکریت اختلاف معناداری را با فیل ماهی نشان دادند. از آن‌جا که تعداد گلبول‌های قرمز در واحد حجم خون بیانگر مقدار هماتوکریت است شاید بتوان این گونه بیان کرد که نیازهای اکسیژنی اوزون‌برون و شیپ به نسبت وزن آنها از سایر گونه‌ها بیشتر است.

بررسی پارامترهای خونی در ماهیان انگشت قد اوزون‌برون و قره‌برون در فصل تابستان نشان داد که میزان Hb و Hct اوزون‌برون در این آزمایشات به ترتیب  $28/88 \pm 0/64$  و

$6/66 \pm 0/14$  gr/dl بود که نتایج مشابه با تحقیق حاضر را نشان داد. در قره‌برون نیز هر دو مقدار Hb و Hct،  $30/00 \pm 0/7$  بود که بیشتر از نتایج این مطالعه بود. میزان RBC و وزن برون در این بررسی  $0/861 \pm 0/03$  و  $185/1 \pm 4140/00$  بود که کمتر از نتایج این مطالعه بود. اما میزان WBC اوزون‌برون در این آزمایشات  $185/1 \pm 4140/00$  بود که کمتر از نتایج این مطالعه بود. RBC قره‌برون نیز معادل  $0/882 \pm 0/02$  بود که بالاتر از مقادیر این مطالعه بود اما WBC قره‌برون  $4284/28 \pm 172/18$  بود که نتایج مشابه با بررسی حاضر را نشان داد (۴).

بررسی پارامترهای هماتولوژیک در بچه ماهی قره‌برون در درجه حرارت  $15^{\circ}\text{C} - 10$  در سن ۲ سالگی نشان داد که RBC این آزمایشات معادل  $631740$  عدد در هر میلی‌لیتر مکعب است که بالاتر از نتایج مطالعه حاضر را داراست اما میزان Hb و Hct مطالعات فوق  $22$  و  $5/3$  gr/dl بود که تقریباً مشابه با تحقیق حاضر می‌باشد (۳).

در مطالعه حاضر استرلیاد، شیپ و قره‌برون اختلاف معناداری را از نظر درصد نوتروفیل‌ها با یکدیگر نشان ندادند. نوتروفیل‌ها با خاصیت فاگوسیتوزکنندگی خود سبب ایمنی در بیماری‌های باکتریایی می‌شوند. عوامل گوناگونی از قبیل پاتوژن‌ها، استرس و نوع گونه می‌تواند بر تعداد نوتروفیل‌ها تأثیرگذار باشد (۱۱). اما با افزایش سن، تعداد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها رو به کاهش می‌گذارد و این حاکی از سیر طبیعی محیط زندگی و عدم حضور استرس و بیماری در ماهیان است (۱).

در این مطالعه فیل ماهی از نظر درصد لنفوسیت‌ها اختلاف معناداری را با اوزون‌برون، شیپ و استرلیاد نشان داد اما قره‌برون اختلاف معناداری با سایر گونه‌ها نشان نداد. لنفوسیت‌ها معمولاً در مقابله با بیماری‌های ویروسی کاربرد دارند. سطوح لنفوسیتی در آبزیان همانند پستانداران می‌تواند متأثر از استرس و هورمون‌ها باشد (۹).



برون و اوزون‌برون در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی شماره ۵۰. ۱۶۱۸.

- 5) Alyakrinskyay I.O and S.N.Dolgova. 1984. Hematological features of Young Sturgeons. Journal Ichthyology. Vol 24, NO 3.pp.135-139.
- 6) Bullis, R.A. 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fishes. In: fish medicine. Stoskopf, pp. 232-239.
- 7) Clementi, M.E.; cataldi, E.; capo, C. ; peteruzzelli, R. and Giardina, B. , 1997. Purification and characterization of the hemoglobin components from Adriatic sturgeon, *Acipenser naccarii*. Abstract book, 3<sup>rd</sup> Int symp. Of sturgeon Italy, E2.p.
- 8) Domezain, A. ; Garcia 0 Gallego, M.; Domezain, J. and Sanz, A. 1997. Evolution during growth of the biometry and the blood constants of the sturgeon, *Acipenser naccarii*. Abstract book, 3<sup>rd</sup> Int. Symp. Of sturgeons Italy, A3-p.
- 9) Ellis, A.E. 1989. The immunology of teleosts. In: Fish pathology. 135-152.
- 10) Hrubec, I.C and Smith, S.A. 1990. Hematology of fish. In: Veterinary hematology. Feldman, B.F. 1120-1125.
- 11) Stoskopf, M.K. 1993. Clinical pathology. In: fish medicine. 113-130.
- 12) Svobodova, Z. and Vykusova, B. 1991. Diagnostics prevention and Therapy of fish disease and intoxications. Manual for international training course on fresh water fish disease and intoxication. 156-157.

از لحاظ درصد ائوزینوفیل‌ها، فیل ماهی اختلاف معناداری را با سایر گونه‌ها نشان داد. مطالعات *Jakowska* نشان داد که تعداد ائوزینوفیل‌ها در هنگام عفونت‌های باکتریایی بالا می‌رود (۱). مطالعه برخی عوامل بیوشیمیایی و خونی در تاس ماهیان پرورشی قره‌برون و فیل ماهی در رده‌های سنی ۲ تا ۳ سال نشان داد که در قره‌برون RBC و تعداد ائوزینوفیل‌ها به ترتیب  $3/361 \pm 19$  و  $2/8 \pm 710$  ( $\times 10^6 / \text{mm}^3$ ) بود که تقریباً مشابه با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد، اما تعداد نوتروفیل‌ها و غلظت Hb به ترتیب  $1/7 \pm 17/8$  و  $1/8 \pm 49/3$  بود که بیشتر از مقادیر تحقیق حاضر می‌باشد و تعداد لنفوسیت‌ها  $1/7 \pm 78/3$  بود که کمتر از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر است. در فیل ماهی نیز تعداد ائوزینوفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و مقدار RBC به ترتیب  $1/2 \pm 8/6$ ،  $2/7 \pm 63/4$  و  $2/9 \pm 49/9$  بود که کمتر از مقادیر بررسی حاضر است و نهایتاً درصد نوتروفیل‌ها و غلظت Hb به ترتیب  $2/9 \pm 26$  و  $2/9 \pm 49/9$  بود که بیشتر از نتایج پروژه حاضر است (۱).

#### منابع:

- ۱- بهمنی، م؛ کاظمی، ر. ۱۳۸۲. مطالعه برخی عوامل بیوشیمیایی و خونی در تاس ماهیان پرورشی قره‌برون (*Acipenser Persicus*) و فیل ماهی (*Huso huso*) مجله شیلات ایران. ۳۳-۳۴.
- ۲- ستاری، م. ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر و انتشارات دانشگاه گیلان. ۲۰۰ - ۱۹۹.
- ۳- سعیدی، ع؛ پورغلام، ر؛ نصرآباد، ع و کامکار، م. ۱۳۸۲. مقایسه برخی پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال (تعداد اریتروسیت‌ها، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، اندیس‌های خونی شامل M.C.V و C.H.C. و گلوکز یا قند خون) در بچه ماهی قره‌برون در شرایط دریا. مجله علمی شیلات ایران. ۲۰ - ۱۹.
- ۴- شاهسونی، د؛ وثوقی، غ و خضرائی‌نیا، پ. ۱۳۷۹. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری و انگشت قد قره-