بررسی ارتباط بین آلودگی انگلی و پارامترهای خونی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) صید شده از دریای خزر در سواحل بندر انزلی

چکیده

به منظور بررسی اثر آلودگی‌های انگلی بر روی برخی از فاکتورهای خونی ماهی سیم دریای خزر ۱۷۵ قطعه ماهی سیم در فصول صید ۱۳۸۸-۱۳۸۷ از تعاونی‌های سواحل بندر انزلی تهیه و به صورت زنده به پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی کشور منتقل شد. پس از بررسی‌های زیست سنجی و تعیین سن ماهیان، از آن‌ها خون گیری به عمل آمد. خون مورد نظر توسط سرنگ از ساقه دمی گرفته شده، سپس به ویال هایی حاوی هپارین ریخته و به آرامی تکان داده شد. پارامترهای خون شناسی با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفت. سپس ماهیان صید شده از نظر آلودگی‌های انگلی خارجی و داخلی مورد بررسی قرار گرفتند. انگل‌های موجود جداسازی و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر شناسایی شدند. طبق نتایج حاصله میانگین طول کل ۲۸/۶۷ سانتی‌متر و میانگین وزن ۲۹۸/۱۸ گرم بوده است. در این بررسی ۴ گونه انگل به نام‌های: *Diplostomum spathaceum*، *Trichodina* sp.، *Ligula intestinalis* و *Caryophyllaeus laticeps* شناسایی شدند. بر طبق نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری بین ماهیان آلوده به انگل و تعداد گلبول سفید، غلظت هموگلوبین، درصد لنفوسیت و نوتروفیل بدست آمد ($P<0.05$).

واژگان کلیدی: دریای خزر، بندر انزلی، ماهی سیم، آلودگی‌های انگلی، پارامترهای خون شناسی.

محمد رضا حیات بخش[1*]
حسین خارا[2]
محمد صیاد بورانی[3]
جواد دقیق روحی[4]
محدثه احمد نژاد[5]
مینا رهبر[6]

۱،۶. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، باشگاه پژوهشگران جوان، لاهیجان، ایران.
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران.
۳،۴،۵. پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، بندر انزلی، ایران.
*مسئول مکاتبات:
Hayatbakhsh_mohammadreza@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۳۰
کد مقاله:۱۳۹۱۲۸۹۹
این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

مقدمه

خون به عنوان یک بافت سیال یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دست‌خوش نوسان و تغییر می‌گردند؛ لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزارهای مهم در تشخیص بسیاری از بیماری‌های آبزیان و از جمله ماهیان بوده و این مهم با تعیین مقادیر طبیعی پارامترهای خون ماهی به عنوان مبنا و شاخصی برای مقایسه و قضاوت در تشخیص بیماری‌ها مورد تاکید قرار گرفته است (Rehulka, 2002; Baker *et al*., 2004; Ballarin *et al*., 2004). بطوری‌که در آن با خون گیری از ماهی و تعیین پارامترهای خونی و مقایسه با شرایط طبیعی، می‌توان تا حدی از آن به عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص بیماری استفاده کرد و در امر درمان آن کوشید (سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲). ماهی سیم یکی از مهم‌ترین و با ارزش‌ترین ماهیان اقتصادی حوزه جنوبی دریای خزر می‌باشد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۹). مقدار صید این ماهی در سال‌های صید ۱۳۱۳ ـ ۱۳۱۲ افزون بر ۱۶۳۹ تن بود و از آن پس سیر نزولی تا حد انقراض آغاز و در سال‌های ۱۳۳۵ تا ۱۳۳۸ آمار صید عملاً به صفر رسید. از سال ۱۳۶۹ به دنبال فعالیت‌های شیلات ایران جهت ترمیم ذخایر ماهی سیم از طریق تکثیر و رها سازی بچه ماهیان، ذخایر آن رو به بهبود گذاشت که آمار صید نیز نوید بخش بازسازی ذخایر آن می‌باشد (گلشاهی، ۱۳۷۶). در حال حاضر علیرغم این که نسل ماهی سیم با تکثیر و رهاسازی تجدید شده ولی متأسفانه خطرات دیگری به تخریب ذخایر این‌گونه می‌انجامد که باید با یک مدیریت صحیح و برنامه ریزی منطقی از نابودی آن جلوگیری نمود و در جهت بهره برداری مناسب اقدام شود که از جمله این عوامل، آلودگی‌های انگلی می‌باشد. شناسایی عوامل عفونی به خصوص انگل‌های بیماری‌زای ماهیان کمک زیادی به تکثیر و پرورش ماهی سیم در مراکز بازسازی ذخایر ماهیان دریای خزر می‌نماید (Woo, 1995). اکنون مطالعات مختلفی

Archive of SID

www.SID.ir

بر روی اثر آلودگی‌های انگلی بر فاکتورهای خونی ماهیان صورت گرفته، به طوری که Hines و Spira در سال ۱۹۷۳ به بررسی اثرات بیماری ایک بر روی فاکتورهای خونی ماهی کپور پرداختند. Achuthan Nair و Balakrishnan Nair (۱۹۸۳) به بررسی اثر آلودگی انگلی به وسیله سخت پوست *Alitropus typus* بر روی فاکتورهای خونی یک گونه از ماهی گواف (*Chana striatus*) پرداختند. Boon و همکاران (۱۹۹۰) اثرات آلودگی به نماتود *Anguillicola crassus* بر روی فاکتورهای خونی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) را بررسی کردند. Tavares dias و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی فاکتورهای خونی هیبرید Tambacu آلوده شده به وسیله *Dolops carvalhoi* پرداختند. در ایران نیز تحقیقات بسیار اندکی در رابطه با اثر آلودگی‌های انگلی بر روی فاکتورهای خونی ماهیان مختلف صورت گرفته است، به طوری که سارنگ در سال ۱۳۸۵ به بررسی فـاکتورهای خونی سیاه ماهی آلوده به انگل*Clinostomum complanatum* پرداخت. سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۸۷ به بررسی فاکتورهای خونی کپور معمولی مبتلا به ایک پرداختند. رشیدی کارسالاری در سال ۱۳۸۶ اثر آلودگی‌های انگلی روی برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید مهاجر به رودخانه تجن را مورد بررسی قرار داد. موحد در سال ۱۳۸۸ به بررسی اثر آلودگی‌های انگلی بر روی فاکتورهای خونی ماهی سوف دریای خزر پرداخت. Jamalzadeh و همکاران در سال ۱۳۸۹ به بررسی مقایسه ای فاکتورهای خونی آزاد ماهیان دریای خزر سالم و دارای آلودگی قارچی ساپرولگنیا پرداختند؛ لذا با توجه به اهمیت این ماهی، در فصول صید ۸۸-۱۳۸۷ اثر آلودگی‌های انگلی بر روی فاکتورهای خونی ماهی سیم دریای خزر برای اولین بار در ایران بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در فصول صید ۱۳۸۸-۱۳۸۷، ۱۷۵ قطعه ماهی سیم با استفاده از تور پره از سواحل بندر انزلی به طور تصادفی صید و به صورت زنده همراه با آب دریا و هوادهی به پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی کشور منتقل گردیدند. پس از بررسی‌های زیست سنجی و تعیین سن ماهیان، توسط سرنگ ۲ سی سی از ناحیه ساقه دمی آن‌ها با زاویه ۴۵ درجه خون گیری به عمل آمد و به میزان ۱ سی سی خون اخذ و به لوله های حاوی هپارین (یک قطره به ازای هر سی سی) انتقال داده شدند. لوله های حاوی خون و ماده ضد انعقاد کاملاً تکان داده شد تا یکنواخت گردد و سپس نمونه های خون در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و پارامترهای خون شناسی تعیین گردیدند (Thrall, 2004; Feldman *et al*, 2000). جهت شمارش گلبول‌های قرمز ابتدا لوله حاوی خون را کاملاً تکان داده تا خون یکنواخت شود و سپس با استفاده از پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول‌های قرمز تا درجه ۰/۵ از خون پر نموده، سپس محلول رقیق کننده ریس را تا درجه ۱۰۱ پر کرده که در نتیجه رقت ۱/۲۰۰ به دست آمد، سپس در زیر لام نئوبار (در ۵ خانه از ۲۵ خانه مرکزی لام) شمارش شد (Simmons 1997, رشیدی کارسالاری، ۱۳۸۶ و موحد، ۱۳۸۸).

تعداد گلبول قرمز در میلی متر مکعب = X (تعداد گلبول قرمز در ۵ خانه مرکزی لام) × ۱۰۰۰۰

جهت شمارش گلبول‌های سفید با استفاده از پیپت ملانژور سفید و ماده رقیق کننده ریس به همان ترتیبی که در مورد گلبول‌های قرمز توضیح داده شده عمل می‌شود. در این مورد پیپت ملانژور سفید را تا درجه ۰/۵ از خون و تا درجه ۱۱ از محلول رقیق کننده ریس پرکرده که بدین ترتیب رقت ۱/۲۰ بدست آمد. سپس در زیر لام نئوبار (در ۴ خانه مخصوص گلبول‌های سفید) لام شمارش شد (Simmons 1997,).

تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مکعب = X (تعداد گلبول سفید در ۴ خانه مخصوص گلبول‌های سفید) × ۵۰

برای اندازه گیری هماتوکریت، لوله میکروهماتوکریت را تا $\frac{۲}{۳}$ از خون پر کرده (با قرار دادن لوله میکروهماتوکریت در ویال خون و کمی کج نگه داشتن آن خون بر اساس خاصیت مویینگی بالا می‌آید) و پس از مسدود نمودن سر لوله با خمیر هماتوکریت، لوله در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان هماتوکریت با خط کش مخصوص بر حسب درصد قرائت گردید. اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین و با اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر بر حسب گرم در دسی لیتر انجام می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

اندیس‌های گلبولی قرمز شامل متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها (MCHC) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Stolen *et al.,* 1994).

$$M.C.V\,(fl) = \frac{H.C.T \times 10}{RBC\ (million)}$$

$$M.C.H\,(pg) = \frac{Hb \times 10}{R.B.C\,(million)}$$

$$M.C.H.C = \frac{Hb \times 100}{H.C.T}$$

برای بررسی انگل‌ها ابتدا سطح بدن ماهی و باله‌ها از نظر وجود آلودگی به انگل مورد بررسی قرار گرفته و سپس بررسی سایر قسمت‌ها صورت پذیرفت. بدین منظور زیر سرپوش آبششی، بین کمان‌های آبششی، حدقه چشم (عدسی چشم) و روده به دقت بررسی و انگل‌های مشاهده شده جداسازی و شمارش گردید (Yamaguti, 1964).

انگل‌های جداسازی شده به وسیله سرم فیزیولوژی شسته و با روش بستن نمونه بین دو لام در فرمالین ۱۰ درصد به مدت دو هفته فیکس نموده و بعد در روند رنگ آمیزی با رنگ کارمن آلوم رنگ شده و تثبیت گردیدند که برای انگل تک یاخته از محلول بوئن استفاده گردید (Malek and Mobedi, 2001). در نهایت شناسایی گونه ای انگل‌ها با استفاده از کلیدهای تشخیص معتبر صورت گرفت (Poole and Dick, 1985; Bykhovsky-Pavloskaya *et al*., 1964). بعد از ثبت اطلاعات در فرم‌های مخصوص به وسیله فرمول‌های زیر میزان شیوع انگل یا فراوانی انگل، میانگین شدت آلودگی، میانگین فراوانی انگل و دامنه تعداد انگل محاسبه شدند (Bush *et al*., 1997).

درصد آلودگی = تعداد ماهیان آلوده به انگل/ تعداد کل ماهیان مورد آزمایش

میانگین فراوانی انگل= تعداد کل انگل‌های شمارش شده/ تعداد ماهیان مورد بررسی قرار گرفته

میانگین شدت آلودگی= تعداد کل انگل‌های شمارش شده/ تعداد ماهیان مورد بررسی قرار گرفته × ۱۰۰

داده های حاصله به وسیله نرم افزار SPSS 13 و آزمون واریانس یکطرفه (Anova)، t–test (برای داده های واجد توزیع نرمال)، من ویتنی (*Mann-witney test*) و کروسکال والیس (Kruskal wallis test) (برای داده های فاقد توزیع نرمال) در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

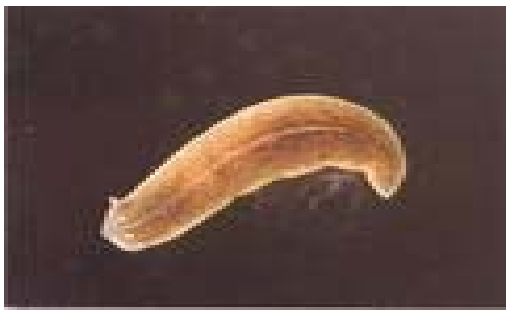
در این بررسی ۱۷۵ قطعه ماهی سیم دریای خزر با میانگین طول کل ۲/۸۴ ± ۲۸/۶۷ سانتی متر (۳۸– ۱۸ سانتی متر)، میانگین وزن ۶۲/۷۴ ± ۲۹۸/۱۸ گرم (۵۴۸–۶۰ گرم) و میانگین سن ۰/۹۶±۳/۳ سال (۵–۲ سال) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که از ۱۷۵ عدد ماهی سیم دریای خزر تعداد ۱۴ عدد از ماهیان سالم و فاقد آلودگی و ۱۶۱ عدد از ماهیان دارای آلودگی به انواع انگل‌ها بودند که در جدول ۱ آمده است، بطوری‌که ۴ گونه انگل به نام‌های *Caryophyllaeus laticeps* از سستودها، *Ligula intestinalis* از سستودها، sp. *Trichodina* از سیلیوفورا و *Diplostomum spathaceum* جداسازی گردیدند.

جدول ۱: انگل‌های ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) دریای خزر (سواحل بندر انزلی) (۱۳۸۷-۸۸)

ردیف	گونه انگلی	جایگاه	درصد آلودگی (میزان شیوع)	میانگین شدت آلودگی± انحراف استاندارد	دامنه تعداد انگل	میانگین فراوانی± انحراف استاندارد
۱	*Caryophyllaeus laticeps*	روده	۲۲	۳/۹۶±۰/۴۱	۱ – ۶	۰/۴۵ ±۰/۲۰
۲	*Ligula intestinalis*	محوطه شکمی	۷۳	۲/۴۵ ±۰/۲۳	۱ – ۶	۱/۸۴ ±۰/۲۴
۳	*Trichodina* sp.	پوست	۲۵	۲/۵۹±۰/۳۴	۱ – ۶	۰/۶۶±۰/۲۰
٤	*Diplostomum spathaceum*	چشم	۲۲	۲/۰۶ ±۰/۳۵	۱ – ۶	۰/۴۷ ±۰/۱۶

Archive of SID

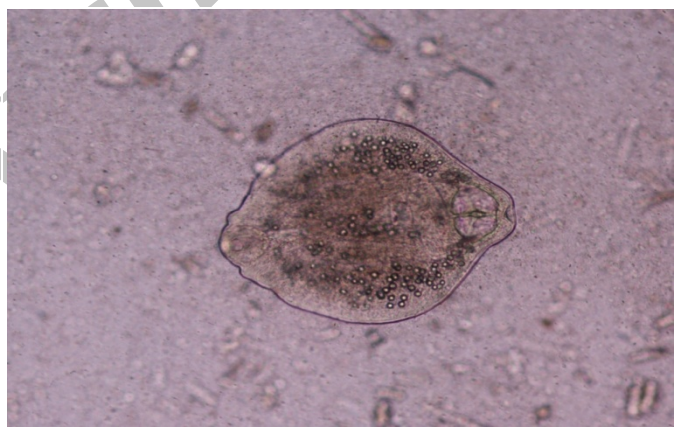
www.SID.ir



شکل ۱: انگل *Caryophyllaeus laticeps* جدا شده از روده ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) (۸۸-۱۳۸۷) با بزرگنمایی ۱۰×

شکل ۲: انگل *Ligula intestinalis* جدا شده از محوطه شکمی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) (۸۸-۱۳۸۷) با بزرگنمایی ۱۰×

شکل ۳: انگل *Trichodina* sp. جدا شده از پوست ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) (۸۸-۱۳۸۷) با بزرگنمایی ۱۰×



شکل ٤: انگل *Diplostomum spathaceum* جدا شده از چشم ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) (۸۸-۱۳۸۷) با بزرگنمایی ۱۰×

نتایج بررسی مقایسه ای پارامترهای خون شناسی در ماهی سیم سالم و آلوده، به تفکیک در جدول ۲ آمده است که نشان می‌دهد میزان گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، هموگلوبین داخل گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها و درصد نوتروفیل در ماهیان آلوده بالاتر از ماهیان سالم بوده، ولی میزان هماتوکریت، متوسط حجم گلبولی و درصد لنفوسیت و مونوسیت در ماهیان سالم بالاتر از ماهیان آلـوده می‌باشد.

www.SID.ir

جدول ۲: مقایسه پارامترهای خون شناسی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) سالم و آلوده دریای خزر (۸۸-۱۳۸۷)

	میانگین فاکتورهای خونی ماهیان آلوده به انگل ± انحراف معیار حداقل حداکثر	میانگین فاکتورهای خونی ماهیان سالم ± انحراف معیار حداقل حداکثر
تعداد گلبول‌های قرمز (در میلی متر مکعب)	۲۹۱۶۴۹ ± ۲۴۴۴۷۰۶ ۲۰۰۰۰۰۰ ۳۵۰۰۰۰۰	۲۹۶۷۵۰ ± ۲۴۳۹۵۷۱ ۲۱۰۰۰۰۰ ۲۹۷۵۰۰۰
تعداد گلبول‌های سفید (در میلی متر مکعب)	۲۱۹۴ ± ۱۷۳۰۹ ۹۵۰۰ ۲۵۱۰۰	۲۴۱۶ ± ۱۳۰۵۰ ۹۰۰۰ ۱۷۰۰۰
هماتوکریت (درصد)	۳/۳۱ ± ۲۸/۴۴ ۲۱ ۳۶	۵/۱ ± ۳۱/۴۳ ۲۳ ۳۷
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۱/۰۱ ± ۷/۷۷ ۵/۲ ۱۰	۱/۳۶ ± ۷/۱۸ ۴/۹ ۹/۶
حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)	۱۲/۸ ± ۱۱۷/۴ ۱۰۰/۴ ۱۵۳/۴	۱۶/۶ ± ۱۲۸/۲ ۱۰۵/۹ ۱۶۰/۱
مقدار هموگلوبین داخل گلبولی (پیکو گرم)	۵/۴ ± ۳۲/۱۸ ۲۰/۸ ۴۵/۲	۵/۱ ± ۲۹/۴۷ ۲۱/۴ ۴۰/۴
متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها (گرم)	۴/۷۲ ± ۲۷/۵۹ ۱۸/۷ ۴۲/۲	۴/۶۶ ± ۲۲/۷۴ ۱۳/۶ ۳۱/۴
لنفوسیت (درصد)	۶/۳۲ ± ۷۵/۷۱ ۶۴ ۹۷	۴/۷ ± ۸۶/۵ ۷۵ ۹۲
نوتروفیل (درصد)	۶/۰ ± ۲۳/۵ ۰ ۳۶	۳/۸۴ ± ۱۱/۴۳ ۸ ۲۰
مونوسیت (درصد)	۰/۹۵ ± ۱/۱۲ ۰ ۳	۱/۳ ± ۱/۲۱ ۰ ۵

نتایج آنالیز آماری t-test نشان داد که بین فاکتورهای خونی گلبول سفید، هموگلوبین، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها، لنفوسیت و نوتروفیل در بین ماهیان آلوده و سالم، اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (P<0.05)، درحالی‌که بر اساس همین آزمون برای فاکتور مقدار هموگلوبین داخل گلبولی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد (P>0.05).

با توجه به آزمون من- ویتنی، بین ماهیان آلوده و سالم از لحاظ فاکتورهای خونی هماتوکریت و حجم متوسط گلبولی اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (P<0.05)، درحالی‌که بر اساس همین آزمون برای فاکتورهای گلبول قرمز و مونوسیت اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد (P>0.05).

نتایج وجود ارتباط یا عدم ارتباط بین فاکتورهای خونی ماهیان سالم و آلوده سیم دریای خزر بر اساس آلودگی به انگل‌های مختلف به تفکیک در جدول ۳ آمده است که بیانگر این مطلب بوده که انگل‌های *Trichodina* sp.، *Diplostomum spathaceum*، *Ligula intestinalis* و *Caryophyllaeus laticeps* با برخی از فاکتورهای خونی در ماهی سیم دریای خزر اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (P<0.05). یعنی انگل‌های ذکر شده بر روی برخی از پارامترهای خونی ماهی سیم دریای خزر تأثیر داشته و باعث تغییر در میزان آن‌ها می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: نتایج مقایسه اثر آلودگی‌های انگلی روی فاکتورهای خونی در ماهیان سیم (*Abramis brama orientalis*) آلوده و غیر آلوده (بر اساس آزمون t-test) (۸۸-۱۳۸۷)

نوع انگل		گلبول‌های سفید (عدد در میلی متر مکعب)	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)	متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها (گرم)	لنفوسیت (درصد)	نوتروفیل (درصد)
Trichodina sp.	سالم	۱۶۷۲۷ ± ۲۴۵۱	۲۸/۵۸ ± ۳/۷۳	۷/۶۹ ± ۱/۱	۱۱۸/۶ ± ۱۳/۸	۲۷/۲ ± ۴/۹	۷۷/۵۶±۶/۵	۲۱/۳۸±۶/۵
	آلوده	۱۷۶۶۷ ± ۲۵۰۳	۲۸/۹۸ ± ۳/۰۳	۷/۸۳ ± ۰/۹	۱۱۷/۳ ± ۱۲/۵	۲۷/۳ ± ۴/۷	۷۳/۷۱±۷/۱۶	۲۵/۸۹±۶/۴
Diplostomum spathaceum	سالم	۱۶۶۲۲ ± ۲۵۳۰	۲۸/۴۴ ± ۳/۶۱	۷/۸۳ ± ۰/۹	۱۱۸/۰۳±۱۳/۱۷	۲۷/۳ ± ۴/۹	۷۷/۵ ± ۶/۹	۲۱/۷ ± ۶/۸
	آلوده	۱۸۱۴۰ ± ۱۹۶۶	۲۹/۵ ± ۳/۲۷	۷/۸۳ ± ۰/۹	۱۱۸/۹ ± ۱۴/۵۳	۲۶/۸ ± ۴/۷	۷۳/۳ ± ۵/۴	۲۵/۳۵±۵/۶۶
Ligula intestinalis	سالم	۱۴۷۸۷ ± ۲۶۶۳	۲۹ ± ۴/۲۷	۷/۴۵ ± ۱/۱۲	۱۲۰/۵ ± ۱۵/۲	۲۵/۹ ± ۵/۳	۸۲/۲ ± ۵/۶	۱۶/۲۶±۵/۵۵
	آلوده	۱۷۷۷۰ ± ۱۸۷۸	۲۸/۵۶ ± ۳/۲۷	۷/۸۲ ± ۱/۰۱	۱۱۷/۴ ± ۱۲/۷	۲۷/۷ ± ۴/۷	۷۴/۵ ± ۶/۱	۲۴/۸۴±۵/۶۶
Caryophyllaeus laticeps	سالم	۱۷۲۶۲ ± ۲۴۵۹	۲۸/۸۵ ± ۳/۵۵	۷/۷۵ ± ۱/۰۶	۱۱۸/۵ ± ۱۳/۵	۲۷/۱±۴/۸	۷۵/۸۸±۷/۰۲	۲۳/۳۳±۶/۸
	آلوده	۱۵۵۵۰ ± ۲۱۶۹	۲۷/۸۷ ± ۳/۵۵	۷/۵۹ ± ۱/۰۴	۱۱۶/۸۸±۱۳/۵۴	۲۷/۶ ± ۵/۲	۷۹/۹± ۴/۸	۱۸/۷±۴/۵۲

نتایج آزمون t-test نشان داد که انگل‌های *Trichodina sp.*، *Diplostomum spathaceum* و *Caryophyllaeus laticeps* با فاکتورهای خونی گلبول سفید، لنفوسیت و نوتروفیل در بین ماهیان سالم و آلوده به انگل، اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (P<0.05). درحالی‌که نتایج آزمون t-test نشان داد که انگل‌های فوق با فاکتورهای خونی هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها در بین ماهیان سالم و آلوده به انگل، اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد (P>0.05). نتایج آزمون t-test نشان داد که انگل *Ligula intestinalis* با فاکتورهای خونی گلبول سفید، هموگلوبین و لنفوسیت در بین ماهیان سالم و آلوده به انگل، اختلاف معنی دار آماری وجود دارد (P<0.05). درحالی‌که با فاکتورهای خونی هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها و نوتروفیل در بین ماهیان سالم و آلوده به انگل، اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد (P>0.05).

بحث و نتیجه گیری

بر طبق نتایج بدست آمده، در ماهیان آلوده مقدار گلبول‌های سفید و نوتوفیل ها افزایش و لنفوسیت ها کاهش یافت و این نتیجه مشابه نتایج صورت گرفته توسط Hines و Spira (۱۹۷۳) در بررسی اثرات بیماری ایک بر روی فاکتورهای خونی ماهی کپور بود. به طوری که در ماهیان آلوده تغییرات شدید و قابل ملاحظه ای در گلبول‌های سفید رخ داد، همزمان با کاهش شدید لنفوسیت ها درصد نوتروفیل ها افزایش یافت. همچنین در بررسی موحد (۱۳۸۸) بر روی فاکتورهای خونی ماهی سوف دریای خزر آلوده به انگل‌های مختلف افزایش معنی دار نوتروفیل‌ها مشاهده گردید.

در این بررسی در ماهیان آلوده، میزان گلبول قرمز، هموگلوبین، متوسط هموگلوبین گلبولی و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها افزایش و میزان هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی و مونوسیت کاهش یافته است. Achuthan Nair و Balakrishnan در سال ۱۹۸۳ با بررسی اثر آلودگی یک گونه از ماهی گواف (*Chana Striatus*) به وسیله سخت پوست *Alitropus Typus* دریافتند که میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان آلوده کاهش یافته و بر عکس میزان متوسط حجم گلبولی (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها (MCHC) و درصد مونوسیت و نوتروفیل افزایش یافته است. Boon و همکاران (۱۹۹۰) اثرات مقادیر مختلف آلودگی به نماتود *Anguillicola crassus* بر روی فاکتورهای خونی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) بررسی و دریافتند که آلودگی به این انگل می‌تواند میزان هماتوکریت و پروتئین پلاسما را کاهش دهد. در بررسی Tavares dias و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی فاکتورهای خونی هیبرید Tambacu آلوده شده به وسیله یک گونه سخت پوست، زالوی *Dolops carvalhoi* صورت گرفت. نتایج کاهش میزان هماتوکریت و منیزیم و افزایش میزان MCHC، گلوکز پلاسما و پروتئین و سدیم را در خون ماهیان آلوده نشان داد. در بررسی حاضر نیز بر روی فاکتور های هماتوکریت و MCHC مشابه نتیجه فوق بدست آمد. در این مطالعه فاکتورهای خونی گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، متوسط حجم گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها، لنفوسیت و نوتروفیل اختلاف معنی دار آماری بین ماهیان سالم و آلوده به انگل مشاهده گردید (P<0.05). ولی اختلاف معنی دار آماری را از نظر گلبول قرمز، متوسط هموگلوبین داخل گلبولی و مونوسیت در ماهیان سالم و آلوده مشاهده نگردید (P>0.05).

Archive of SID

www.SID.ir

در تحقیقی که توسط Jamalzadeh و همکاران (۲۰۰۹) بر روی بررسی مقایسه ای فاکتورهای خونی آزاد ماهیان دریای خزر سالم و دارای آلودگی قارچی ساپرولگنیا انجام گرفت اختلاف معنی دار آماری را از نظر تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، میـــزان هموگلوبین و هماتوکریت و همچنین درصد نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت و ائوزینوفیل در ماهیان سالم و آلوده نشان داد ($P<0.001$) ولی اختلاف معنی دار آماری را از نظر میزان متوسط حجم گلبولی (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌ها (MCHC) در ماهیان سالم و آلوده مشاهده نگردید ($P>0.05$). سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۸۷ به بررسی فاکتورهای خونی کپور معمولی مبتلا به ایک پرداخته و دریافتند میزان هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و درصد لنفوسیت ها و مونوسیت ها اختلاف معنی داری را نشان داد ($P<0.05$). همچنین طی روند بیماری به طور معنی دار کاهش می‌یابند و برخلاف آن افزایش معنی دار لنفوسیت ها مشاهده گردید. در تحقیق حاضر بین برخی از فاکتورهای خونی ماهیان سیم سالم و آلوده دریای خزر اختلاف معنی دار آماری مشـاهده گردید ($P<0.05$). تعداد فاکتورهای خونی ممکن است در اثر بیماری و یا عوامل فیزیولوژیکی تغییر کند. ماهیانی که دارای بیماری‌های انگلی و عفونی می‌شوند و یا در معرض استرس قرار می‌گیرند، ممکن است میزان کمتری لنفوسیت داشته باشند. نوتروفیل ها ممکن است در خـــون افزایش یابند که در اثر یک پاسخ غیر اختصاصی به انواع محرک‌های استرس زا روی می‌دهد (Campbell, 1988) که با نتایج فوق‌الذکر هم خوانی دارد. بررسی فـاکتورهای خونی ماهیان به دلیل آگاهی یافتن از مقدار توانایی و ظرفیت فیزیولوژیکی آن‌ها اهمیت دارد. میزان هموگلوبین به عنوان شاخص و معیاری برای درک میزان ظرفیت حمل اکسیژنی در ماهیان استخوانی می‌باشد، همچنین این فاکتورها برای دانستن میزان محدودیت گونه های ماهیان استخوانی در حمل اکسیژنی اهمیت دارند (Affonso, 2001). قاعدتاً ماهیان بیمار به علـــت فـعالیت‌های فیزیولوژیکی محدودتر توانایی کمتری در حمل اکسیژن داشته که باعث کاهش میزان هموگلوبین در آن‌ها خواهد گشت کـــه با نتایج فوق‌الذکر هم خوانی دارد. در برخی از بیماری‌های عفونی (باکتریایی، ویروسی و کمتر در انگلی) برخی از پارامترهای خون شناسی دستخوش تغییرات کمی و کیفی می‌شوند و غالباً بعضی از آن‌ها مثل تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین به شدت کاسته می‌گردد. اما در بیماری‌های انگلی به دلیل این که انگل‌ها در خون نیستند، این تغییرات کمتر اتفاق می‌افتد، مگر در بیماری‌های انگلی خون خوار مثلاً در زالوها مشاهده می‌شود (جلالی جعفری، ۱۳۷۷).

به طور کلی تفاوت شرایط تغذیه ای، محیطی، گونه ماهی، سن، جنس، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه گیری از جمله فاکتورهایی است که می‌تواند عامل تفاوت نتایج بدست آمده باشد، اما با توجه به محدودیت منابع و مطالعات نسبتاً اندک صورت گرفته بر روی پارامترهای خون شناسی آبزیان به نظر می‌رسد باید مطالعات بیشتری در ارتباط با پارامترهای خونی آبزیان و چگونگی تغییرات آن در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت گیرد تا به موازات تنوع پارامترهای مورد بررسی بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های آن بود.

سپاسگزاری

از جناب آقای فرشاد ماهی صفت و تمامی بزرگوارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، کمال تشکر و سپاس را داریم.

منابع

جلالی جعفری، ب.، ۱۳۷۷. انگل‌ها و بیماری‌های انگلی ماهیان آب شیرین ایران. انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج، ۵۶۴ ص.

رشیدی کارسالاری، ز.، ۱۳۸٦. بررسی تأثیر آلودگی انگلی بر برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید (*Rutilus frissii kutum*) در رودخانه تجن. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۳۸ ص.

سارنگ، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تغییرات خونی سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) آلوده به انگل *Clinostomum complanatum* در رودخانه شیرود. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۱۵ ص.

سلیمانی، ن.، حاجی مرادلو، ع.، قربانی، ر. و خوش باور رستمی، ح.، ۱۳۸۷. بررسی فاکتورهای خونی کپور معمولی مبتلا به ایک. چکیده مقالات اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۴ ص.

سعیدی، ع.، پور غلام، ر.، رضایی نصرآباد، ع. و کامکار، م.، ۱۳۸۲. مقایسه برخی پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال (تعداد اریتروسیت ها، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، اندیس‌های خونی شامل M.C.V، M.C.H و M.C.H.C و گلوکز یا قند خون) در بچه ماهی قره برون در درجه حرارت‌های مختلف و مولدین قره برون در شرایط دریا. ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، صفحات ۱۰۶-۹۹.

گلشاهی، ع.، ۱۳۷٦. تعیین همخونی مولدین ماهی سیم در کارگاه های تکثیر و پرورش. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

Archive of SID

www.SID.ir

موحد، ر.، ۱۳۸۸. اثر آلودگی انگلی بر برخی از فاکتورهای خونی ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۵۷ ص.

وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین. دانشگاه تهران. ش۲۱۳۲، چاپ چهارم، ۳۱۷ ص.

Achuthan Nair, G. and Balakrishnan Nair, N., 1983. Effect of infestation With the Isopod, *Alitropus Typu*s M. Edwards (Crustacea; Flabellifera; Aegidae) on the Hematological Parameters of the Host fish. *Channa sriatus*(Bloch); Aquaculture, 30 (1983) 11-19.

Affonso, E.G., 2001. Effect stress on Teleostei, Trondheim Norway Aquaculture Conference, august 2008.

Baker, D., Campbell, T., Denikola, D., Fettman, M., Rebar, A. and Weiser, G., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry, hematology of fish. Chapter 19, pp 277-287.

Ballarin, L., Dalloro, M., Bertotto, D., Libertini Francescon, A. and Barbaro, A., 2004. hematological parameters in Umbrina Cirrosa (Teleostei, Sciaenidae):A comparision between diploid and triploid specimens. Comp.Biochem .physiol .C.138:45-51.

Boon, J. H., Cannaerts, V.H.M., Augustijn, H., Machiels, M. A. M., Decharleroy, D. and Ollevier, F., 1990. The Effect of Different infection levels with infective Larvae *Angullicola Crassus*. Aquaculture, 87: 243-253.

Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. and Shostak, A. W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology, 83, 575 – 583.

Bykhovsky – Pavloskaya, I.F., Gussev, A. V., Dubinia, M. N., Izyumova, N. A., Smirnova, T. S., Sokolovskaya, I. L., Shulman, S. S. and Epshtein, V. M., 1964. Key to the parasite of Freshwater Fishes of the U.S.S.R Izdatelstrov, Akademii Nauk S.S.S.R Moskva – Leningrad. 1962. Program for acientific Translation, Jerusalem. 919 pp.

Campbell, T.W., 1988. Tropical fish Medicine fish Cytology and hematology.vet. Clin. North Am. 18(2). 347-364.

Feldman, B. F., Zinki, J.G. and Jain, N. C., 2000. Schalms Veterinary Hematology 5thed. Lippincott Williams and Wikins, USA ,pp: 241,227-288,402.

Hines, R. S. and Spira, D. T, 1973. Ichthyophtiriasis in the mirror carp. Leococyte response. Journal of fish Biology. 26.527.234.

Jamalzadeh, H. R., Keyvan, A., Ghomi, M. R. and Gherardi, F., 2009. Comparision of blood indices in healthy and fungal infected Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*); African journal of biotechnology Vol.8 (2) pp.319-322,19 january 2009.

Malek, M. and Mobedi, I., 2001. Occurrence of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Clinostomatidae) in (Osteichthys: Cyprinidae) from Shiroud River, Iran. Iranian J. Publ. Health, Vol. 30, Nos. 3-4, PP.95- 98.

Poole, B.C. and Dick, T.A., 1985. Parasite recruitment by stocked walleye, Stizostedion vitreumm (Mitchill), fry in small boreal Lake in central Canada. J. Wildlife Dis. 21(4), 371–376.

Rehulka, J., 2002. Aeromonas causes server skin lesions in Rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) clinical pathology, Hematology and Biochemistry Acta.Vet. BRNO, 71:351-360

Simmons, A., 1997. Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann, pp: 507.

Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Zelikoff, J.T., Kaattari, S.L. and Smith, S.A., 1994. Techniques in Fish Immunology-3, SOS Publication, U S A, pp: 121-130.

Tavares dias, M., Ruas de moraes, F., Makoto onaka, E. and Bonadio rezende, P.C., 2007. veterinarski Arhive 77 (4), 355-363.

Thrall, M.A., 2004. Veterinary Hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wilkins. USA, pp; 241,277-288,402.

Yamaguti, S., 1964. Systema helminthum, The Digenetic Termatodes of vertebrate - Part H, Inter science Publisher-New York, LTD -London, Vol.1, 800 P.

Woo, P.T.K., 1995. Fish diseases and disorders. 1 st. Edn., vol.1. protozoan and metazoan infections.CAB International, UK. P:808.

Archive of SID

www.SID.ir