Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

بررسی فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی کفال‌طلایی (*Liza auratus*) دریای خزر در سنین و جنس‌های مختلف (سواحل بندر انزلی)

شعله شیردره [۱]
حسین خارا [۲*]
محدثه احمدنژاد [۳]

۱. گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
۲. گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
۳. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰
کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۶۴۱
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

ماهی کفال‌طلایی (*Liza auratus*) یکی از باارزش‌ترین ذخایر ماهیان استخوانی حوزه جنوبی دریای خزر می‌باشد. به‌طورکلی هدف از انجام این مطالعه تعیین فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی کفال‌طلایی در سنین و جنس‌های مختلف می‌باشد. جهت انجام این تحقیق در فصل صید سال ۱۳۹۴ از سواحل بندر انزلی ۲۰۰ عدد ماهی کفال‌طلایی از سنین و جنس‌های نر و ماده نمونه‌برداری شد. میانگین وزن کل و طول کل آن‌ها به ترتیب ۸۲/۶۰ ± ۲۷۰/۱۰ و ۳/۳۸ ± ۳۲/۶۷ بود. پس از صید، ماهیان در دودسته جنس نر و ماده و در ۵ رده سنی (۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) تقسیم شدند و سپس از ماهیان خون‌گیری شد. نتایج نشان داد که بین جنس نر و ماده ازنظر تمام فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0/05$). در بین سنین مختلف تنها در میزان MCV، نوتروفیل و لنفوسیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0/05$) و در سایر فاکتورها اختلاف‌ها معنی‌دار نبودند ($P>0/05$). به‌طورکلی می‌توان گفت که در ماهی کفال‌طلایی جنسیت تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی نداشته، درحالی‌که سن ماهی فقط در برخی فاکتورهای خونی اثر می‌گذارد که می‌تواند تحت تأثیر فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن و حتی محیط باشد.

واژگان کلیدی: کفال طلایی (*Liza auratus*)، جنس، سن، فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی.

مقدمه

کفال‌ماهیان جزو ماهیان بومی دریای خزر نبوده بلکه طی سال‌های ۱۳۰۹ تا ۱۳۱۳ از دریای سیاه به دریای خزر پیوند زده شدند. کفال‌طلایی (*Liza auratus*) جمعیت چشمگیرتری را در سواحل جنوبی دریای خزر دارا می‌باشد (خسروی راد، ۱۳۷۳) و از باارزش‌ترین ماهیان استخوانی حوزه جنوبی دریای خزر می‌باشد، بطوریکه بعد از ماهی سفید بیشترین سهم صید ماهیان استخوانی را به خود اختصاص داده است (دریانبرد و همکاران، ۱۳۸۸). با توجه به افزایش جمعیت بشر و نیازهای غذایی آن، آبزیان توانسته‌اند به‌عنوان یکی از اقلام غذایی سالم، باارزش غذایی بالا و ارزان نسبت به سایر اقلام غذایی از جایگاه نسبتاً خوبی برخوردار باشند (افشار مازندران، ۱۳۸۹). مصرف سرانه آبزیان از مقدار ۹/۹ کیلوگرم در دهه ۱۹۶۰ به بیش از ۱۹/۲ کیلوگرم در سال ۲۰۱۲ رسیده است که نشان‌دهنده استقبال عموم مردم جهان در مصرف آبزیان می‌باشد (Treves-Brown, 2013).

دستگاه گردش خون ماهی شبکه‌ای است که سراسر بدن ماهی را در برمی‌گیرد و همه یاخته‌های بدن را تحت پوشش اعمال و وظایف خود قرار می‌دهد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). خون به‌عنوان یک بافت سیال سایر بافت‌ها را به یکدیگر مرتبط ساخته (ستاری، ۱۳۸۱) و باعث شناخت

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

فیزیولوژی آبزی شده و شاخص مهم هر گونه‌ای می‌باشد (Abdel-Tawwab *et al*., 2005) که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و آسیب‌شناسی، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (جمالزاده و همکاران، ۱۳۸۷). یکی از شاخص‌های مهم و قابل‌اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان سنجش پارامترهای خونی آنان می‌باشد که این پارامترها تحت تأثیر فصل (Jamalzadeh and Ghomi, 2009)، سن (Fanouraki *et al*., 2007; Jamalzadeh and Ghomi, 2009)، تغذیه، عوامل زیست‌محیطی (Fanouraki *et al*., 2007)، گونه ماهی (Ranzani-Paiva *et al*., 2003; Radu *et al*., 2009; Anthony *et al*., 2010; Patriche *et al*., 2011)، بلوغ جنسی و وضعیت سلامتی (Radu *et al*., 2009; Patriche *et al*., 2011) می‌باشد. ایمنی در ماهیان همانند سایر مهره‌داران به دو صورت اختصاصی و غیراختصاصی تظاهر می‌یابد (Whyte, 2007). ازآنجاکه ماهیان از گروه‌های اولیه تکامل هستند، بیشترین وابستگی را به ایمنی ذاتی دارند و سیستم ایمنی اختصاصی در ماهیان به‌طور ضعیفی توسعه‌یافته است (Magnadottir, 2006). کمپلمان‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای دفاعی هستند که از حدود ۳۵ پروتئین محلول در پلاسما تشکیل‌شده‌اند، که ۹ جزء اصلی آن با نام‌های C_1 تا C_9 نام‌گذاری شده‌اند. این ترکیبات نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی ایفا می‌کنند (Boshra *et al*., 2006). سیستم کمپلمان به‌وسیله سه مسیر مختلف اما همگرا، فعال می‌شوند، که شامل مسیر وابسته به ایمنوگلوبین یا مسیر کلاسیک، مسیر مستقل از ایمنوگلوبین یا مسیر فرعی و مسیر لکتین است (Montero *et al*., 1999). لیزوزیم روی اجزای پپتیدوگلیکانی دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارد. درحالی‌که برخی از باکتری‌ها مستقیماً توسط لیزوزیم لیز می‌شوند، در اکثر موارد غشای خارجی دیواره سلولی باکتری باید توسط کمپلمان پاره شده تا لیزوزیم به راه ورود دسترسی یابد. ایمونوگلوبولین مجموعه‌ای از آنتی‌بادی‌های یک دسته از پروتئین‌ها می‌باشد که نقش حفاظتی آن شامل خنثی‌سازی ویروس، از بین بردن باکتری، فعال کردن سیستم کمپلمان و بهبود فرآیند فاگوسیتوز می‌باشد. در پستانداران پنج دسته از ایمونوگلوبولین‌ها وجود دارد؛ اما در ماهیان استخوانی تنها یک نوع ایمونوگلوبولین M وجود دارد (Sakai, 1999).

تاکنون مطالعاتی روی فاکتورهای خونی کفال ماهیان و سایر ماهیان انجام‌شده است که می‌توان به بررسی شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان کفال‌طلایی آب‌های جنوب دریای خزر در استان مازندران در پی بروز نوعی بیماری نوپدید (ذریه زهرا و همکاران، ۱۳۹۲)، بررسی پارامترهای خونی و سرمی ماهی کفال‌طلایی دریای خزر (کاردل و همکاران، ۱۳۹۵)، بررسی اثر جنسیت روی برخی پارامترهای خونی *Acanthopagrus latus* در خلیج‌فارس (Karimi *et al*., 2013) و تغییر در شاخص‌های خونی و پلاسمای کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در ارتباط با تیمارهای سن، جنس و هورمونی (Karimi *et al*., 2013) اشاره کرد. به‌طورکلی می‌توان گفت ازآنجایی‌که گمان می‌رود فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی در سنین و جنس‌های مختلف متفاوت باشد هدف از انجام این مطالعه تعیین فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی کفال‌طلایی در سنین و جنس‌های مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق در فصل صید ۱۳۹۴ از پره‌های صیادی سواحل بندر انزلی، درمجموع ۲۰۰ عدد ماهی کفال‌طلایی از سنین (از هر سن ۴۰ عدد) و جنس‌های مختلف (از هر جنس ۱۰۰ عدد) تهیه شدند. قبل صید سن ماهیان مشخص نبود و در آزمایشگاه این ماهیان تعیین جنسیت و سن شدند. تعین سن ماهیان به روش فلس خوانی انجام گرفت. ماهیان در دودسته جنس نر و ماده و در ۵ رده سنی (۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) تقسیم شدند. از این تعداد ماهی کفال ۳۰ عدد ماهی جهت خون‌گیری استفاده شدند. بطوریکه ابتدا جهت خون‌گیری ماهیان در داخل ظرف ۲۰ لیتری حاوی ماده بیهوشی پودر گل میخک قرار داده شدند. سپس خون‌گیری از طریق عروق ساقه دمی انجام گرفت و ۰/۵ سی‌سی خون درون ویال

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) و ۱/۵ سی‌سی خون برای تهیه سرم در لوله‌های ویال ریخته شد. در آزمایشگاه ویرومد رشت جداسازی سرم از سلول‌های خونی توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge 200، ساخت شرکت sepatech Heraeus آلمان)، با سرعت ۳۰۰۰ دور در مدت‌زمان ۱۰ دقیقه انجام گرفت. سرم توسط میکروسمپلر جداشده و جهت اندازه‌گیری پارامترهای موردنظر استفاده گردید (Pottinger and Carrik, 2001). گلبول قرمز و سفید به کمک محلول رقیق‌کننده Rees و با ملانژور و لام نئوبار و رابطه‌های ۱ و ۲ شمارش شدند (Klontz, 1994).

رابطه ۱: ۱۰۰۰۰ × (تعداد گلبول قرمز در ۵ مربع کوچک) X = تعداد گلبول قرمز در میلی‌متر مکعب خون

رابطه ۲: ۵۰ × (تعداد گلبول سفید در ۴ مربع کوچک) X = تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مک

اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) با طول‌موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Klontz, 1994). درنهایت مقدار هموگلوبین به‌وسیله منحنی استانداردی که قبلاً تهیه‌شده بود و بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید (Blaxhall and Daisley, 1983):

رابطه ۳: Hb (g/dl) = (نمونه OD / استاندارد OD) × غلظت استاندارد

اندازه‌گیری هماتوکریت با لوله‌های میکرو هماتوکریت و توسط میکروسانتریفیوژ با دور ۷۰۰۰ rpm در مدت ۵ دقیقه انجام شد. میزان MCV، MCH وMCHC با استفاده از روابط ۴ تا ۶ محاسبه شد (Houston, 1990):

رابطه ۴: MCV = هماتوکریت × ۱۰ / RBC (میلیون)

رابطه ۵: MCH = هموگلوبین × ۱۰ / RBC (میلیون)

رابطه ۶: MCHC = هماتوکریت/ هموگلوبین

جهت تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید، بوسیله متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰ درصد گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) رنگ‌آمیزی و به روش زیگزاگ (Klontz, 1994) به کمک دستگاه شمارنده دستی و توسط میکروسکوپ نوری متصل به رایانه (مدل Nikon E600، ساخت ژاپن) شمارش شدند. غلظت ایمونوگلوبولین کل مطابق با روش شرح داده‌شده توسط Amar و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. به‌اختصار، نمونه سرم مطابق با روش Biuret اندازه‌گیری شد: ۰/۱ میلی‌لیتر از هر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۳۲ درصد مخلوط شد و مخلوط برای مدت ۲ ساعت برای پایین آوردن مولکول ایمونوگلوبولین انکوباسیون شد. رسوب ایمونوگلوبولین توسط سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی‌گراد برداشته شد. مقدار ایمونوگلوبولین به‌صورت میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر و مطابق فرمول زیر محاسبه گردید (Khoshbavar rostami *et al.*, 2003 –):

پروتئین کل تیمار شده با پلی‌اتیلن گلیکول – پروتئین کل در نمونه سرم = (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ایمونوگلوبولین کل

همچنین غلظت آلبومین توسط رابطه ۷ محاسبه شد (Doumas *et al.*, 1977):

رابطه ۷: آلبومین (g/dl) = (استاندارد / نمونه) × غلظت کالیبراتور

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

برای اندازه‌گیری IgM از تکنیک ایمونو دیفوژن شعاعی (single radial immunodiffussion) استفاده شد (Rogers, 1977). همچنین سطوح گلوکز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر تعیین شد. غلظت گلوکز از رابطه زیر محاسبه شد (Thrall *et al.*, 2004):

رابطه ۸: غلظ = جذب نمونه / جذب استاندارد × ۱۰۰

برای اندازه‌گیری میزان کمپلمان‌های C_3 و C_4 از کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و روش کدورت سنجی ایمنی استفاده شد. C_3 و C_4 سرم با آنتی‌بادی مخصوص کیت مخلوط شد و کمپلکس آنتی‌بادی-آنتی‌ژن تشکیل شد. میزان OD در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۳۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با مقایسه این میزان با استاندارد کیت، میزان C_3 و C_4 برحسب (µg/ml) محاسبه گردید.

تعیین میزان پروتئین کل سرم خون با استفاده از روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد که در این روش ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد با ۵۰ میکرولیتر از نمونه مخلوط و میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. سپس منحنی استاندارد برادفورد که ازسرم آلبومین گاوی (BSA) رقت‌های مختلفی برای ترسیم آن تهیه‌شده بود، مورداستفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم در سرم خون، ۱/۷۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) (معادل مقدار ۰/۳۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH برابر ۶/۲) با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم مخلوط و جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش طیف‌سنجی استفاده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد. بافر فسفات سدیم به‌عنوان بلانک استفاده شد (Ellis, 1990).

برای تجزیه‌وتحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 18 استفاده گردید. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو – ویلک (Shapiro-wilk) موردسنجش قرار گرفت. در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه میانگین هر یک از فاکتورها بین ماهیان نر و ماده از آزمون تی – استیودنت (T-Student) در سطح احتمال ۵ درصد و برای داده‌های غیرفرمال از آزمون غیر پارامتریک من – ویتنی (Mann-Whitney) استفاده شد. همچنین در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه میانگین هر یک از فاکتورها بین سنین مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح احتمال ۵ درصد و برای داده‌های غیرنرمال از آزمون غیر پارامتریک کروسکال – والیس (Kruskai-Wallis) استفاده گردید.

نتایج

میانگین کل وزن و طول کل به ترتیب ۸۲/۶۰ ± ۲۷۰/۱۰ و ۳/۳۸ ± ۳۲/۶۷ بود (جدول ۱). با توجه به آزمون من – ویتنی بین جنس نر و ماده ازنظر میزان گلبول‌های سفید، MCH، MCHC، مونوسیت، ائوزینوفیل، ایمونوگلوبولین کل و آلبومین اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. همچنین با توجه به آزمون تی – استیودنت بین جنس نر و ماده ازنظر میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، نوتروفیل، لنفوسیت، IgM، گلوکز، C_3، C_4، پروتئین کل و لیزوزیم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($P>0/05$) (جدول ۲). بین سنین مختلف ماهی کفال طلایی ازلحاظ فاکتورهای وزن و طول اختلاف معنی‌دار آماری دیده شد. بطوریکه از سنین کم به‌طرف سنین بالا روند افزایشی داشتیم ($P<0/05$) (جدول ۳). با توجه به آزمون کروسکال – والیس بین سنین مختلف ازنظر میزان گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCHC، مونوسیت، ائوزینوفیل، C_4 و پروتئین کل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. همچنین با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه بین

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

سنین مختلف ازنظر میزان گلبول‌های قرمز، ایمونوگلوبولین کل، آلبومین، ایمونوگلوبولین M، گلوکز، C_3 و لیزوزیم اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). علاوه بر این با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه بین سنین مختلف ازنظر میزان MCV، نوتروفیل و لنفوسیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۴).

جدول ۱: شاخص‌های زیستی ماهی کفال طلایی (*Liza auratus*) در جنس نر و ماده.

جنسیت / شاخص‌ها	نر (تعداد= ۱۰۰)	ماده (تعداد= ۱۰۰)
وزن (گرم)	۲۷۰±۸۹/۱۳[a]	۲۷۰/۴۰±۶۷/۸۷[a]
طول کل (سانتی‌متر)	۳۲/۷۳±۳/۶۶[a]	۳۲/۴۶±۲/۶۷[a]
طول چنگالی (سانتی‌متر)	۲۹/۹۱±۳/۲۷[a]	۳۰/۰۲±۲/۳۴[a]
طول استاندارد (سانتی‌متر)	۲۶/۵۴±۲/۹۳[a]	۲۶/۹۲±۲/۲۲[a]

حروف لاتین مشترک، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار آماری است ($P> ۰/۰۵$).

جدول ۲: شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی کفال‌طلایی (*Liza auratus*) در جنس نر و ماده

جنسیت / شاخص‌ها	نر (تعداد= ۱۰۰)	ماده (تعداد= ۱۰۰)
گلبول سفید (mm^3)	۴۷۱۸/۵±۱۲۲۱/۳[a]	۴۴۶۱/۵±۱۰۵۵/۸[a]
گلبول قرمز (mm^3)	۲۰۳۶۶۶۶/۷±۲۷۲۴۸۱/۵[a]	۲۰۷۸۴۶۱/۵±۳۵۸۶۷/۶[a]
هموگلوبین (g/dl)	۷/۵۱±۰/۹۶[a]	۷/۷۲±۱/۳۲[a]
هماتوکریت (٪)	۴۴/ ۳۰±۵/۸۶[a]	۴۵/۴۶±۷/۷۴[a]
MCV (fl)	۲۱۷/۲۲±۵/۱۵[a]	۲۱۸/۷۷±۴/۴۰[a]
MCH (pg)	۳۶/۷۰±۰/۷۲[a]	۳۶/۹۲±۰/۹۵[a]
MCHC (٪)	۱۶/۷۸±۰/۵۱[a]	۱۶/۶۹±۰/۴۸[a]
نوتروفیل (٪)	۲۲/۸۱±۳/۷۳[a]	۲۱/۳۱±۳/۱۷[a]
لنفوسیت (٪)	۷۲/۹۶±۴/۰۹[a]	۷۴/۱۵±۳/۹۸[a]
مونوسیت (٪)	۳/۸۱± ۰/۸۸[a]	۳/۷۷±۱/۰۱[a]
ائوزینوفیل (٪)	۰/۶۷± ۰/۸۳[a]	۰/۷۷±۰/۸۳[a]
ایمونوگلوبولین کل (mg/ml)	۲۰/۵۴±۳/۹۳[a]	۲۱±۴/۱[a]
آلبومین (mg/l)	۱/۱۷± ۰/۴۵[a]	۱/۱۰±۰/۴۳[a]
IgM (mg/dl)	۲۳±۱۰/۱۴[a]	۲۶/۳۸±۸/۷۸[a]
گلوکز (mg/dl)	۹۳/۱۰±۳۴/۳۸[a]	۷۶/۱۳±۳۴/۴۳[a]
C_3 (mg/l)	۶۵/۸۰±۱۰/۸۱[a]	۶۷/۱۳±۸/۹۰[a]
C_4 (mg/l)	۳۳/۱۰±۷/۸۸[a]	۳۶/۳۸±۷/۵۶[a]
پروتئین کل (g/dl)	۳/۹۳± ۰/۶۸[a]	۳/۸۵±۰/۸۱[a]
لیزوزیم (u/mg/min)	۲۷±۹/۸۵[a]	۲۷/۶۳±۸/۶۲[a]

حروف لاتین مشترک، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار آماری است ($P> ۰/۰۵$).

جدول ۳. شاخص‌های زیستی ماهی کفال‌طلایی (*Liza auratus*) در سنین مختلف.

www.SID.ir

Archive of SID

گروه سنی / شاخص‌ها	۳ سال (تعداد= ۴۰)	۴ سال (تعداد= ۴۰)	۵ سال (تعداد= ۴۰)	۶ سال (تعداد= ۴۰)	۷ سال (تعداد= ۴۰)
وزن (گرم)	۱۹۸±۳/۰۹^{a}	۲۶۳/۷۵±۲/۵۳^{b}	۳۲۱/۲۰±۲/۳۴^{c}	۳۷۱±۱/۳۷^{d}	۴۸۲±۲/۳۲^{e}
طول کل (سانتی‌متر)	۲۹/۸۷±۲/۲۸^{a}	۳۲/۵۰±۱/۶۲^{a}	۳۶/۸۴±۲/۴۹^{b}	۳۸/۸±۱/۶۳^{d}	۳۹/۵±۱/۷۱^{e}
طول چنگالی (سانتی‌متر)	۲۷/۲۳±۱/۹۳^{a}	۲۹/۹۶±۱/۳۲^{b}	۳۳/۶۸±۲/۰۱^{c}	۳۴/۶±۱/۶۵^{d}	۳۶/۸±۲/۴۱^{e}
طول استاندارد (سانتی‌متر)	۲۴/۱۹±۱/۷۹^{a}	۲۶/۶۴±۱/۰۳^{b}	۳۰/۰۶±۱/۸۱^{c}	۳۲/۱±۲/۴۳^{d}	۳۴/۸±۲/۳۳^{e}

* حروف لاتین غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری است (p<۰/۰۵).

جدول ۴: شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی کفال‌طلایی(*Liza auratus*) در سنین مختلف.

گروه سنی / شاخص‌ها	۳ سال (تعداد= ۴۰)	۴ سال (تعداد= ۴۰)	۵ سال (تعداد= ۴۰)	۶ سال (تعداد= ۴۰)	۷ سال (تعداد= ۴۰)
گلبول سفید (mm^3)	۵۶۷۱/۴±۱۵۷۸/۷^{a}	۴۶۳۰/۸±۱۰۶۶/۴^{a}	۴۵۷۷/۸±۱۱۰۹/۹^{a}	۴۰۷۵±۴۳۶/۷^{a}	۳۹۰۰±۷۹۳/۷^{a}
گلبول قرمز (mm^3)	۲۱۶۰۰۰۰±۱۷۶۴۴۶/۴^{a}	۲۱۴۱۵۳۸/۵±۳۳۴۰۶۲^{a}	۱۹۸۳۳۳۳/۳±۳۶۸۱۷۱/۲^{a}	۱۹۷۷۵۰۰±۲۱۱۹۸۰/۵^{a}	۱۷۹۳۳۳۳/۳±۲۱۳۶۱۹/۶^{a}
هموگلوبین (g/dl)	۷/۹۴ ± ۰/۶۲^{a}	۷/۸۲±۱/۲۳^{a}	۷/۳۴ ± ۱/۳۴^{a}	۷/۴۴± ۰/۸۱^{a}	۶/۷۳± ۰/۸۱^{a}
هماتوکریت (٪)	۴۶/۲۹±۳/۴۵a	۴۶/۲۳±۷/۵۷a	۴۳/۵۶±۸/۰۶a	۴۳/۸۸±۴/۷۰a	۳۹/۶۷±۴/۹۳a
MCV (fl)	۲۱۳/۸۶±۴/۴۹^{a}	۲۱۵/۵۴±۳/۸۹^{a}	۲۱۹/۴۴±۴/۸۳^{ab}	۲۲۱/۶۳±۳/۸۵^{b}	۲۲۰/۶۷±۲/۰۸^{ab}
MCH (pg)	۳۶/۷۱±۰/۴۹^{a}	۳۶/۳۸±۰/۵۱^{a}	۳۶/۷۸±۰/۹۷^{a}	۳۷/۲۵±۱/۰۴ ^{a}	۳۷/۳۳±۰/۵۸^{a}
MCHC (٪)	۱۷±۰/۵۸^{a}	۱۶/۷۷±۰/۴۴^{a}	۱۶/۵۶±۰/۵۳^{a}	۱۶/۷۵±۰/۴۶^{a}	۱۶/۶۷ ± ۰/۵۸^{a}
نوتروفیل (٪)	۲۵±۳/۷۴^{b}	۲۲/۴۶±۳/۲۸^{ab}	۲۲±۲/۶۵^{ab}	۲۱/۶۳±۴/۲۷^{ab}	۱۸/۳۳±۱/۱۶^{a}
لنفوسیت (٪)	۷۰/۱۴±۳/۹۸^{a}	۷۳/۰۸±۳/۹۰^{ab}	۷۳/۴۴±۴/۰۹^{ab}	۷۵/۱۳±۳/۳۶^{ab}	۷۷±۲^{b}
مونوسیت (٪)	۴/۲۹ ± ۰/۹۵^{a}	۳/۷۷±۱/۰۱^{a}	۳/۵۶ ۱±/۰۱^{a}	۳/۷۵±۰/۷۱^{a}	۳/۶۷±۰/۵۸^{a}
ائوزینوفیل (٪)	۰/۵۸±۰/۷۹^{a}	۰/۶۹±۰/۸۶^{a}	۱±۰/۸۷^{a}	۰/۳۸±۰/۷۴^{a}	۱±۱^{a}
ایمونوگلوبولین کل (mg/ml)	۱۸/۴۰±۱/۸۵^{a}	۲۱/۳۵±۶/۱۳^{a}	۲۱/۵۵±۲/۱۴^{a}	۱۹/۳۰±۲/۶۲^{a}	۲۳/۱۳±۵/۳۵^{a}
آلبومین (mg/l)	۰/۹۷ ± ۰/۲۳^{a}	۱/۲۴± ۰/۶۱^{a}	۱/۱۲ ± ۰/۲۷^{a}	۰/۸۹ ± ۰/۰۵^{a}	۱/۵۴ ± ۰/۶۶^{a}
IgM (mg/dl)	۲۷/۳۳±۲/۳۱^{a}	۲۹/۷۵±۱۳/۵۵^{a}	۲۰±۶/۰۶^{a}	۱۸/۵۰±۲/۸۹^{a}	۲۸/۶۷±۱۴/۲۹^{a}
گلوکز (mg/dl)	۹۲/۳۳±۲۱/۴۶^{a}	۹۷±۱۹/۶۵^{a}	۹۳/۷۵±۴۳/۲۸^{a}	۸۸/۵۰±۴۹/۴۹^{a}	۴۸/۶۷±۸/۰۲^{a}
C_3 (mg/l)	۳۴±۵/۱۹^{a}	۳۵/۷۵±۱۰/۲۱^{a}	۳۵/۲۵±۷/۸۱^{a}	۳۱/۷۵±۵/۶۲^{a}	۳۶/۳۳±۱۲/۵۰^{a}
C_4 (mg/l)	۶۱/۳۳±۳/۲۲^{a}	۷۱±۱۱/۶۹^{a}	۶۹±۷/۱۲^{a}	۵۹/۷۵±۶/۸۹^{a}	۷۰/۶۷±۱۵/۳۱^{a}
پروتئین کل (g/dl)	۳/۵۰ ± ۰/۵۲^{a}	۴/۰۳ ± ۰/۹۰^{a}	۴/۰۸ ± ۰/۲۶^{a}	۳/۴۸ ± ۰/۴۰^{a}	۴/۴۳±۱/۱۹^{a}
لیزوزیم (u/mg/min)	۲۳±۶/۵۶^{a}	۳۱/۲۵±۱۳/۷۷^{a}	۲۶/۲۵±۶/۶۰^{a}	۲۴/۵۰±۴/۲۰^{a}	۳۱/۳۳±۱۳/۳۲^{a}

* حروف لاتین غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری است (P< ۰/۰۵). *حروف لاتین مشترک، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار آماری است (P>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

این بررسی باهدف مطالعه فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی کفال‌طلایی در سنین و جنس‌های مختلف انجام شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری بین جنس نر و ماده ماهی کفال‌طلایی ازنظر فاکتورهای خونی، بیوشیمیایی و ایمنی مشاهده نشد (جدول ۲) و تنها در مقایسه بین سنین مختلف، میزان MCV، نوتروفیل و لنفوسیت دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود و بیشتر فاکتورها اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند (جدول ۴). بررسی اثر سن، جنس و هورمون‌تراپی روی برخی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) نشان داد که بین مولدین نر و ماده قبل از تزریق هورمون هیپوفیز و پس از تکثیر مصنوعی ازنظر پارامترهای گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین، درصد فراوانی نوتروفیل و درصد فراوانی مونوسیت اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد (Ejraei *et al*., 2015) که در این مطالعه نیز همانند مطالعه حاضر در بیشتر فاکتورهای موردبررسی اختلاف معنی‌داری بین جنس نر و ماده مشاهده نگردید (جدول ۲). در بررسی سطوح گلوکز در لای‌ماهی (*Tinca tinca*) هیچ‌گونه اختلافی مرتبط با جنس یافت نشد (Svoboda *et al*., 2001). مطالعه روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان داد که ماهیان نر دارای مقادیر بالاتر RBC، Ht، Hb، MCV، MCH، لنفوسیت، نوتروفیل و کلسترول در مقایسه با ماهیان ماده بودند (Baghizadeh and Khara, 2015). تغییرات وابسته به جنسیت در پارامترهای هماتولوژیک *Capoeta trutta* نشان داد که برخی از پارامترهای هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد اریتروسیت ها و لنفوسیت‌ها در ماهیان نر به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان ماده می‌باشد (Orun and Erdeml, 2002). تغییرات شاخص‌های هماتولوژیک در جنس نر و ماده ممکن است به دلیل تقاضای اکسیژن (Parma and Croux, 1994) و تغییرات شاخص‌های پلاسما ممکن است به دلیل چرخه‌های فیزیولوژیکی طبیعی، محرک‌ها یا هردوی آن‌ها باشد (Hrubec *et al*., 2001). بررسی سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) نشان داد که جنسیت بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی خون تأثیری ندارد. همچنین تغییرات سن بر پارامترهای خونی سیاه ماهی تأثیری ندارد (یوسف زاده و همکاران، ۱۳۹۱) که نتایج این تحقیق مشابه مطالعه حاضر می‌باشد (جدول ۴). مطالعه روی ماهی کفال‌طلایی نشان داد که طول و وزن در دامنه بررسی‌شده، تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای خونی و سرمی ندارد (کاردل و همکاران، ۱۳۹۵). مطالعه روی ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*, 1785) تالاب انزلی بیانگر این مطلب بود که بین فاکتورهای خونی ماهی سیم با سنین مختلف ارتباطی وجود نداشته و فقط بین فاکتورهای خونی گلبول سفید و نوتروفیل ماهی سیم تالاب انزلی با جنسیت متفاوت ارتباط وجود دارد (جمالزاد فلاح و همکاران، ۱۳۹۱). در مطالعه روی ماهی سفید نر هیچ تفاوت معنی‌داری در پارامترهای سرمی کلسترول، تری گلیسرید، گلوکز و پروتئین تام بین ماهیان دو و سه‌ساله مشاهده نشد (Firouzbakhsh *et al*., 2013). بررسی ماهیان کپور در سنین زیر یک سال (۹ ماهه)، یک‌ساله و دوساله نشان داد که تفاوت معنی‌دار در ماهی دو ســاله با سایر سنین از نظر پارامترهای WBC،RBC، Hb و گلوکز وجود دارد، علاوه بر این، پارامترهای سرمی شامل کلسترول و پروتئین با افزایش سن افزایش یافت. در واقع می‌توان بیان کرد که تمام فاکتورهای خونی کپور معمولی در سنین مختلف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (Baghizadeh and Khara, 2015). همچنین در بررسی برخی پارامترهای خونی ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) و کپور علفخوار (خواجه و پیغان، ۱۳۸۶) و بررسی اثر سن روی برخی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون ماهی‌کپور علفخوار (Ejraei *et al*., 2015) وجود اختلاف معنی‌دار در سنین مختلف نیز گزارش شد. Anthony و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که سطوح RBC و Hb با افزایش طول و سن ماهی افزایش می‌یابد. همچنین سایر مطالعات نیز نشان می‌دهد که سطوح پروتئین و کلسترول با سن و اندازه افزایش می‌یابد (Jawad *et al*., 2004; Coz-Rakovac *et al*., 2005).

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که برخی از پارامترهای خون ماهی کفال‌طلایی در جنس و سنین مختلف فرق می‌کند که می‌تواند تحت تاثیر فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن و حتی محیط باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

سپاسگزاری

بدینوسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه تمامی کسانی که در به ثمر نشستن این تحقیق تلاش نموده‌اند ابراز می‌دارند.

منابع

افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۹. راهنمای علمی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران، انتشارات نوربخش، ۲۱۶ ص.

جمالزاده، ح. ر.، کیوان، ا.، عریان، ش. و قمی مرزدشتی، م. ر.، ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، مجله علمی شیلات ایران، ۱۷ (۳): صفحات ۵۴-۷۴.

جمالزاده فلاح، ف.، خارا، ح.، یگانه‌کاری، ع. و حیات‌بخش، م. ر.، ۱۳۹۱. رابطه بین سن و جنسیت با پارامترهای خونی در ماهی سیم تالاب انزلی، کنفرانس ملی آبزیان و اکوسیستم‌های آبی، صفحه ۱۳.

خواجه، غ. و پیغان، م.، ۱۳۸۶. بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش‌یافته در استخرهای خاکی، مجله تحقیقات دامپزشکی، ۳: صفحات ۱۹۷-۲۰۳.

خسروی‌راد، ح.، ۱۳۷۳. بررسی مقدماتی کشت توأم ماهی کفال و کپور ماهیان چینی در آب شیرین، شرکت سهامی شیلات ایران، اداره کل شیلات استان مازندران، ۶۹ ص.

دریانبرد، غ.، شعبانی، ع.، کیمرام، ف. و گرگین، س.، ۱۳۸۸. تولیدمثل و بلوغ جنسی کفال‌طلایی (*Liza aurata* Risso, 1810) در آب‌های ایرانی دریای خزر، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد شانزدهم: صفحات ۷۷-۸۸.

ذریه زهرا، س. ج.، قیاسی، م. و بینائی، م.، ۱۳۹۲. بررسی برخی شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان کفال‌طلایی (*Liza auratus*) آب‌های جنوب دریای خزر استان مازندران در پی بروز نوعی بیماری نوپدید، نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۷ (۴): صفحه ۲۵-۳۳.

ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱)، تشریح و فیزیولوژی، انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، ۶۵۹ ص.

کاردل، ف.، امیدظهیر، ش.، میرزا پور، ف. و آخوندیان، م.، ۱۳۹۵. بررسی پارامترهای خونی و سرمی ماهی کفال‌طلایی دریای خزر (*Liza aurata*). تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک (پژوهش و سازندگی)، ۲۹ (۲): صفحات ۸۸-۹۶.

کاظمی، ر.، پور دهقانی، م.، یوسفی جوردهی، ا.، یار محمدی، م. و نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان، انتشارات بازرگان رشت، ۱۹۴ ص.

یوسف‌زاده، ف.، نظامی، ش. ع. و خارا، ح.، ۱۳۹۱. مطالعه پارامترهای خون‌شناسی سیاه ماهی رودخانه تالار قائم‌شهر، مازندران، مجله آبزیان و شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، ۳ (۱۱): صفحات ۷۵ – ۶۷.

Abdel-Tawwab, M., Mousa, M. A. A., Sharaf, S. M. and Ahmad, M. H., 2005. Effect of Crowding Stress on Some Physiological Functions of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fed Different Dietary Protein Levels. International Journal of Zoological Research. 1(1): 41-47.

Amar E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N. and Watanabe, T., 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science. 66: 1068-1075.

Anthony, O., kechukwu, I. and Obinnaya, C., 2010. Haematological profile of the African lungfish, *Protopterus annectens* (Owen) of Anambra River, Nigeria. Journal American Science. 6: 123-130.

Baghizadeh, E. and Khara, H., 2015. Variability in hematology and plasma indices of common carp *Cyprinus carpio*, associated with age, sex and hormonal treatment. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 14(1): 99-111.

Blaxhall, P. C. and Daisley, K. W., 1983. Roution haematological methods for use with fish blood. Fish Biology. 5: 771-781.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

Boshra, H. L. J. and Sunyer, J. O., 2006. Recent advances on the complement system of teleost fish. Fish and Shellfish Immunology. 20: 239-262.

Bradford, M. M., 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248–254

Coz-Rakovac, R., Strunjak-perovic, I., Hacmanjek, M., Topic, P. N., Lipez, Z. and Sostaric, B., 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrox*) in the North Adriatic Sea. Veterinary Research Communication. 29: 677-687.

Doumas, B. T., Watson, W. A. and Biggs, H. G., 1977. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. Clinica Chimica Acta, 258: 21-30.

Ejraei, F., Khara, H. and Ghiasi, M., 2015. Evaluation of hematological and plasma indices in Grass Carp Ctenopharyngdon idella with reference to age, sex and hormonal treatment. Archives of Polish Fisheries. 23: 163-170.

Ellis, A. E., 1990. Lysozyme assay. In: Techniques in fish immunology ed. Stolen J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Robertson, B.S., Fair Haven, NJ. USA SOS Publication, pp. 101-103.

Fanouraki, E., Divanach, P. and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture Research. 265: 294–304.

Firouzbakhsh, F., Abedi, Z., Rahmani, H. and Khalesi, M. A., 2013. Comparative study of some blood factors in male and female Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) broodstock from the southern basin of the Caspian Sea. Turkish journal of veterinary and animal sciences. 37: 320-325.

Houston, A.H., 1990. Blood and circulation. In: Methods in fish biology ed. Schreck, C.B. and Moyle, P.B., American Fisheries Society. Bethesda. Maryland, 335 p.

Hrubec, T. C., Smith, S. A. and Robertson, J. L., 2001. Age related in haematology and chemistry values of hybrid striped bass chrysops *Morone saxatilis*. Veterinary Clinical Pathology. 30: 8-15.

Jamalzadeh, H. R. and Ghomi, M. R., 2009. Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 42: 81-87.

Jawad, L. A., Al–Mukhtar, M. A. and Ahmed, H. K., 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). Animal Biodiversity and Conservation. 27: 478–483.

Karimi, S. H., Kochinian, P. and Salati, A. P., 2013. The effect of sexuality on some haematological parameters of the yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* in Persian Gulf. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. 65-68.

Khoshbavar-Rostami, H. A., Soltani, M. and Hassan H. M. D., 2006. Immune response of great sturgeon (Huso huso) subjected to long-term Exposure to sublethal concentration of the organophosphate, Diazinon. Aquaculture 256, 88 - 94.

Klontz, G. W., 1994. Fish Hematology. In: Techniques in Fish Immunology ed. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaattari, S.L. and Smith, S.A., SOS Publishing. pp. 121–132.

Magnadottir, B., 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology. 20: 137–151.

Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J. V. and Tort, L., 1999. Effect of vitamine E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthed seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. Aquaculter. 171: 269–278.

Orun, I. and Erdeml, A. U., 2002. A study on blood parameters of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). Journal of Biological Science. 8: 508-511.

Parma, D. E. and Croux, M. J., 1994. Some haematological parameters in *Prochilodus lineatus*. Review Hydrobiology Tropical. 2: 113-19.

www.SID.ir

Archive of SID

Patriche, T., Patriche, N., Bocioc, E. and Coada, M. T., 2011. Serum biochemical parameters of farmed carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation – International Journal of the Bioflux Society. 4: 137-140.

Pottinger, T. G. and Carrick, T. R., 2001. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout. Aquaculture Research. 175: 351–363.

Radu, D., Oprea, L., Bucur, C., Costache, M. and Oprea, D., 2009. Characteristics of haematological parameters for carp culture and Koi (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758) reared in an intensive system. Journal of Animal Science and Biotechnology. 66: 1-2.

Ranzani-Paiva, M. J. T. E. L., Rodrigues, M. L., Veiga, A. C. and Eiras, B. E. S., 2003. Differential leukocyte counts in "dourado" *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 from the Mogi-Guaçu River, Pirassununga, SP. Brazilian Journal of Biology. 63: 517-525.

Rogers, R. S., 1977. Recurrent Aphthous Stomatitis: Clinical Characteristics and Evidence for an Immunopathogenesis. Journal of Investigative Dermatology. 69(6): 499-509.

Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture Research. 172: 63–92.

Svoboda, M., Kouril, J., Hamakova, J., Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z. and Vykusova, B., 2001. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre- and post spawning period. Acta Veterinary Brno. 70: 259-268.

Thrall, M. A., Baker, D. C., Campbell, T. W., Denicola, D., Fettman, M. J., Lassen, E. D., Rebar, A.H. and Weiser, G., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wikins, USA, 501 p.

Treves-Brown, K. M., 2013. Applied fish pharmacology. Springer Science and Business Media, 309 p.

Whyte, S. K., 2007. The innate immune response of finfish: A review of current knowledge. Fish and Shellfish Immunology. 23: 1127–1151.

Zapata, A. G., Torroba, M. and Varas, A., 1997. Vitaminize E. Immunity in fish larvae. Development Biology Standard. 90: 23-32.

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 13:45 +0430 on Wednesday August 5th 2020

www.SID.ir