

## تعیین پروفایل پارامترهای سیتولوژیک خون فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

- ❖ رضوان اله کاظمی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ محمد پوردهقانی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ ایوب یوسفی جوردهی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ محمود بهمنی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ سهراب دژندیان: مرکز تحقیقات آبی‌پروری آب‌های داخلی- گیلان، بندر انزلی، ص.پ: ۶۶
- ❖ علی حلاجیان: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ مهتاب یارمحمدی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ محمدعلی یزدانی ساداتی: مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
- ❖ بابک تیزکار: مرکز آموزش کشاورزی میرزا کوچک‌خان گیلان- رشت، روبروی شهر صنعتی رشت، ص.پ: ۴۱۶۳۵-۱۴۵۶

### چکیده

این تحقیق با ۲۴ قطعه فیل ماهی پرورشی (۸ نر و ۱۶ ماده)، که در استخرهای مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر پرورش یافته بودند، به مدت ۳ سال انجام شد. نمونه‌برداری و سنجش پارامترهای خونی در ۱۲ تکرار و در مراحل مختلف رسیدگی جنسی انجام شد. نتایج نشان داد که درصد هماتوکریت (PVC)، غلظت هموگلوبین (Hb) و تعداد کل یاخته‌های قرمز (RBC) خون فیل ماهی نر بیش از ماده بود و در هر دو جنس با افزایش رسیدگی جنسی، به ویژه در مرحله چهارم، افزایش یافتند. میانگین حجم یاخته قرمز (MCV) و میانگین هموگلوبین یاخته قرمز (MCH) خون فیل ماهی نر فاقد اختلاف معنادار با ماهی ماده بود، ولی میانگین درصد غلظت هموگلوبین یاخته قرمز (MCHC) در دو جنس با یکدیگر اختلاف معنادار داشت. تعداد کل یاخته‌های سفید (WBC) خون فیل ماهی نر به طور معناداری کمتر از ماهی ماده بود. این شاخص در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده اختلاف معناداری نداشت. در هر دو جنس نر و ماده، بیشترین میانگین درصد یاخته‌های سفید خون را به ترتیب یاخته‌های لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت تشکیل می‌دادند. در این پژوهش هیچ یاخته بازوفیلی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که دامنه پروفایل فاکتورهای خونی فیل ماهی پرورشی در محدوده سایر تاسماهیان بود و بیشتر پارامترهای خونی فاکتورهای وابسته به جنسیت (نر یا ماده) بودند و کمتر تحت تأثیر مراحل رسیدگی جنسی قرار داشتند.

واژگان کلیدی: پروفایل سیتولوژی، جنسیت، شاخص‌های خونی، فیل ماهی پرورشی، مرحله جنسی.

## ۱. مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های مهم تجاری ماهیان خاویاری دریای خزر و گونه اصلی پرورشی تاسماهیان در نقاط مختلف نیم‌کره شمالی جهان است که جمعیت آنها همانند سایر گونه‌های ماهیان خاویاری به دلایل مختلف زیستی و انسانی (آلودگی، تخریب زیستگاه طبیعی، صید بی‌رویه و غیره) به شدت در حال کاهش است (FAO, 2010). مطالعه در زمینه پارامترهای خونی ماهیان به طور عملی از دهه ۱۹۸۰ میلادی آغاز شد و اولین کارهای تخصصی در این خصوص عمدتاً روی کیپورماهیان (*Cyprinidae*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*mykiss*) صورت پذیرفت (Kazemi et al., 2010). در دو دهه گذشته پژوهش‌های متنوع و گسترده خون‌شناسی در زمینه‌های مختلف خون از جمله اثر سن و مراحل رسیدگی جنسی و جنسیت (Youneszhadeh, Bahmani, et al., 2001; Bahmani et al., 2007; Fashalemi et al., 2007; Zexia, et al., 2002) گونه (Falahatkar, et al., 2002) نوع گونه (Zexia, et al., 2002) و محیط‌های پرورشی و طبیعی (Yousefi, Pourgholam, et al., 1996; Jourdehi, 2006; Bahmani et al., 2001; Borges et al., 2004; Tavares and Moraes, 2007; Shigdar et al., 2007; Jamalzadeh et al., 2008; Kazemi et al., 2012) در گونه‌های مختلف تاسماهیان انجام گرفت. یافته‌های منتج از پژوهش‌های خون‌شناسی ماهیان می‌تواند پاسخگوی بسیاری از ابهامات در زمینه سلامت، مراحل زندگی، گله‌های مولد مناسب و مراحل مختلف رسیدگی جنسی آنها باشد (Kazemi et al., 2010). ماهیان به شدت به محیط خود وابسته‌اند و در نتیجه فیزیولوژی بدن آنها تحت تأثیر شرایط محیطی خواهد

بود. بنابراین، مقادیر طبیعی فاکتورهای خونی برای هر گروه از ماهیان در یک محیط ممکن است برای گروه دیگر غیرطبیعی باشد. تغییرات پارامترهای خونی، در واقع پاسخ یک گونه مشخص ماهی به تغییرات محیط زیست خود در آن زمان خاص است. ویژگی‌های فیزیولوژیک خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ای، فنون نمونه‌برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه‌ها (Bani and Haghi, 2011; Vayghan, 2011)، شرایط محیطی و پرورشی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، سن، مرحله تولید مثلی، جنسیت، تراکم و اکسیژن محلول (Hoseinifar et al., 2011) به آسانی تغییر می‌کنند و در مقدار داده‌های هماتولوژی تأثیر دارند. این تحقیق به منظور ایجاد بانک اطلاعاتی خون‌شناسی و نیز تعیین دامنه طبیعی پارامترهای خونی جنسیت‌های نر و ماده فیل ماهی پرورشی، در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، انجام شد.

## ۲. مواد و روش کار

عملیات اجرایی این پژوهش به مدت ۳ سال (۱۳۸۷-۱۳۹۰) در بخش‌های فیزیولوژی و بیوشیمی و تکثیر و پرورش مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر به انجام رسید. این تحقیق با ۲۴ قطعه فیل ماهی (۶<sup>+</sup> سال) پرورش‌یافته در استخرهای حاکی مؤسسه (۱۶ قطعه ماده و ۸ قطعه نر به ترتیب با میانگین وزن کل اولیه ۱۶/۴۲±۷/۲ و ۲۰/۲۶±۵/۱۰ و میانگین طول کل اولیه ۱۴۹/۷۸±۸/۷ و ۱۵۴/۵۶±۱۴/۳ سانتی‌متر) انجام شد. ماهی‌ها پس از تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی، از طریق بیوپسی، به ۳ حوضچه بتنی دوار سرپوشیده (هر حوضچه حاوی ۸ ماهی)، به قطر ۴ و ارتفاع ۱/۵ متر،

نمونه در دو حجره محاسبه شد. رقت انجام شده برای یاخته‌های قرمز خون ۱:۲۰۰ و برای یاخته‌های سفید خون ۱:۲۰ بود. یاخته‌های قرمز با لنز ۴۰ و یاخته‌های سفید با لنز ۲۰ میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 شمارش شدند.

درصد هماتوکریت خون (PVC) با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت (مدل D-78532 Tuttingen، شرکت Hettich آلمان) با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه (Houston, 1990) محاسبه شد سپس، از خط‌کش مخصوص محاسبه استفاده شد. مقدار هموگلوبین (Hb) خون نیز به روش کالریمتریک سیانو هموگلوبین و به وسیله محلول معرف در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، انگلیس) و با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد.

گسترش خونی برای شمارش افتراقی یاخته‌های سفید خون به روش دو لامی تهیه و با گیمسای ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شد. برای محاسبه درصد فراوانی هر گروه از یاخته‌ها (یاخته‌های مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و لنفوسیت)، از خون هر ماهی دو اسلاید و از هر اسلاید ۲۰۰ یاخته به روش زیگزاگ شمارش شد (Gao et al., 2007).

برای محاسبه شاخص‌های گلبول قرمز از روابط ریاضی زیر استفاده شد (Stoskopf, 1993).

میانگین حجم یاخته قرمز (Mean Corpuscular Volume) بر حسب فمتولیترا (fl) از

$$MCV = \frac{Hct \times 10}{RBC}$$

رابطه میانگین هموگلوبین (Mean Corpuscular Hemoglobin) بر

مجهز به سیستم هوادهی و برخوردار از آب رودخانه سفیدرود و چاه انتقال یافتند. شرایط زیستی (اکسیژن محلول، دما و pH آب) در دوره آزمایش برای همه ماهیان یکسان و به ترتیب  $6/14 \pm 0/35$  میلی‌گرم در لیتر،  $17/50 \pm 1/23$  درجه سانتی‌گراد و  $7/65 \pm 0/02$  بود. مقدار غذا (ساخت مؤسسه با ترکیب شیمیایی؛ ۳۸-۴۰ درصد پروتئین، ۱۳-۱۵ درصد چربی و ۱۹/۵-۲۰ مگاژول بر کیلوگرم انرژی) طی دوره آزمایش بین ۲-۳ درصد زیتوده در هر وان تعیین و هر ۶ ماه یک بار محاسبه شد و طی ۲۴ ساعت در ۲ نوبت به صورت دستی به ماهیان داده شد. در آغاز و پایان آزمایش و هر ۶ ماه یک بار، به منظور کنترل مراحل رسیدگی جنسی گنادهای ماهیان مورد بررسی، از طریق بیوپسی و لاپاراسکوپی (شرکت Stema، مدل M-CAM1700 و تلسکوپ ۳۰ درجه، ۴ میلی‌متری، به طول ۱۷/۵ سانتی‌متر، منبع نوری سرد هالوژن 250 W آلمان) جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی آنها تعیین شد. خون‌گیری و مطالعات خون‌شناسی نیز در ۱۲ تکرار پیاپی به فاصله هر ۳ ماه یک بار انجام شد (از هر مرحله جنسی و از هر جنسیت ماده و نر ۱۲ بار نمونه‌برداری شد). خون‌گیری با استفاده از سرنگ ۵cc و از طریق سیاهرگ دمی پشت باله مخرجی انجام شد. در هر مرحله مقدار ۳cc خون از هر ماهی دریافت و برای انجام دادن مطالعات بعدی به آزمایشگاه خون‌شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی مؤسسه منتقل شد.

## ۱.۲. روش‌های بررسی پارامترهای خونی

شمارش یاخته‌های قرمز (RBC) و سفید خون (WBC) با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار دو حجره‌ای بر حسب میلی‌متر مکعب خون برای هر

۲۵/۲۳±۱/۷۱، ۲۷/۶۷±۰/۵۶ و ۳۰/۴۱±۰/۷۳ درصد بود. در هر دو جنس بین مراحل دوم و سوم با مرحله چهارم رسیدگی جنسی همچنین، بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار بود ( $P<0/05$ ).

میانگین غلظت هموگلوبین خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۶/۵۴±۰/۱۳، ۶/۷۱±۰/۲۴ و ۶/۹۹±۰/۳۴ گرم در دسی لیتر و در فیل ماهی نر به ترتیب ۷/۰۲±۰/۲۳، ۷/۱۰±۰/۲۳ و ۷/۷۹±۰/۲۰ گرم در دسی لیتر بود. در هر دو جنس غلظت هموگلوبین بین همه مراحل رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنی دار ( $P>0/05$ ) بود، ولی بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار وجود داشت ( $P<0/05$ ).

میانگین تعداد کل یاخته‌های قرمز (RBC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۱۸۰۴۰/۲۳±۱۱۰۵۵۸/۱۰، ۷۲۰۷۱۰/۲۹±۲۲۹۱۰/۳۵ و ۸۲۶۲۵۰±۶۰۹۴۰/۱۱ در فیل ماهی نر به ترتیب ۸۰۰۷۷۰/۲۳±۵۶۳۹۰/۱۹، ۸۸۵۲۴۰/۱۰±۳۲۰۴۰/۱۷ و ۹۳۵۸۸۰/۳۵±۲۶۵۰۰/۹۸ عدد در میلی لیتر مکعب خون بود. در ماهی ماده تعداد RBC بین همه مراحل جنسی فاقد اختلاف معنادار بود ( $P>0/05$ ). همچنین، اختلاف تعداد این شاخص خونی بین مراحل دوم و سوم با مرحله چهارم رسیدگی جنسی ماهی نر همچنین، بین دو جنس نر و ماده معنادار بود ( $P<0/05$ ).

همچنین، نتایج نشان داد که میانگین تعداد کل یاخته‌های سفید (WBC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۳۳۵۷۰/۷۹±۱۰۳۰/۵۲، ۲۹۹۸۰±۱۵۰۰ و ۳۴۷۵۰±۳۷۱۰/۷۰ در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۹۶۱۰/۳۸±۲۷۶۰/۳۶، ۲۹۶۱۰/۳۸±۲۷۶۰/۳۶ و ۲۸۳۵۰/۵۷±۱۹۵۰/۹۰

$$MCH = \frac{Hb \times 10}{RBC}$$

حسب پیکوگرم (pg) از رابطه و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) بر حسب درصد از رابطه

$$MCHC = \frac{Hb \times 100}{Hct}$$

به دست آمد.

## ۲.۲. آنالیزهای آماری

از آمار توصیفی برای بیان حداقل، حداکثر، میانگین، واریانس و خطای استاندارد مربوط به شاخص‌های خون‌شناسی استفاده شد. همچنین، به منظور مقایسه دو گروه با یکدیگر از آزمون‌های تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای آزمون تفکیکی از آزمون جداساز دانکن و برای تعیین یکنواختی واریانس از آزمون Levene و برای تعیین اختلاف بین شاخص‌های خونی جنسیت‌های نر و ماده از آزمون Independent-Sample T-test استفاده شد. با نرم‌افزارهای Excel 2007 و SPSS17 داده‌ها آنالیز شدند. همه داده‌ها به صورت Mean±SE (میانگین±خطای استاندارد) ارائه شده‌اند. نبود یک حرف مشابه روی داده‌های جدول نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین آنهاست ( $P<0/05$ ).

## ۳. نتایج

نتایج شاخص‌های خونی فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در مراحل مختلف جنسی (جدول ۱) و مقایسه شاخص‌های خونی در دو جنس نر و ماده (جدول ۲) نشان داد که میانگین درصد هماتوکریت (PVC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۲۳/۴۲±۰/۲۸، ۲۳/۴۲±۰/۲۸ و ۲۳/۶۴±۰/۵۲ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۶/۸۸±۱/۵۰

۲۹۷۰۶/۸۰±۱۸۰۰/۴۰ عدد در میلی لیتر مکعب خون بود. در هر دو جنس، اختلاف تعداد یاخته‌های سفید بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی معنادار ( $P>0/05$ ) نبود، اما بین دو جنس نر و ماده این اختلاف معنادار بود ( $P<0/05$ ).

در خصوص حجم یاخته قرمز (MCV)، نتایج نشان داد که میانگین این شاخص خونی در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۳۱۲/۳۳±۷/۰۶، ۳۳۳/۹۳±۹/۵۹ و ۳۳۲/۸۲±۲۰/۷۶ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۳۰۵/۳۳±۱۴/۵۰، ۳۱۹/۲۴±۱۰/۱۴ و ۳۲۷/۲۱±۸/۵۰ فمتولیترا بود. در هر دو جنس اختلاف میانگین حجم یاخته قرمز بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی و نیز بین ماهیان نر و ماده معنادار نبود ( $P>0/05$ ).

میانگین هموگلوبین یاخته قرمز (MCH) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۸۶/۸۹±۲/۳۳، ۹۴/۷۲±۳/۷۰ و ۸۶/۹۲±۵/۴۰ و در ماهیان نر به ترتیب ۸۳/۵۰±۱/۸۷، ۸۳/۰۶±۳/۲۲ و ۸۴/۲۵±۲/۱۵ پیکوگرم بود. اختلاف این شاخص بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی در هر دو جنس و نیز بین ماهیان نر و ماده معنادار نبود ( $P>0/05$ ).

بر اساس نتایج، درصد غلظت هموگلوبین یاخته‌های قرمز (MCHC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۲۷/۹۱±۰/۵۰، ۲۸/۴۹±۰/۹۲ و ۲۶/۲۳±۰/۹۶ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۷/۰۱±۱/۸۷، ۲۵/۵۸±۰/۶۲ و ۲۵/۷۵±۰/۶۳ درصد بود. درصد این شاخص خونی بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی نر و ماده فاقد اختلاف معنادار ( $P>0/05$ ) بود، ولی بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار ( $P<0/05$ ) وجود

داشت.

نتایج درصد افتراقی یاخته‌های سفید خون نیز نشان داد که میانگین درصد یاخته لنفوسیت خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۷۵/۵۹±۱/۱۰، ۷۶/۸۹±۱/۷۷ و ۸۲/۶۹±۱/۶۴ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۶۷/۱۵±۳/۹۹، ۷۴/۷۱±۱/۶۳ و ۷۶/۰۶±۲/۲۲ بود. اختلاف درصد یاخته‌های لنفوسیت خون بین مراحل مختلف جنسی فیل ماهی ماده معنادار ( $P>0/05$ ) نبود، اما بین مرحله دوم با مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی فیل ماهی نر، و نیز بین دو جنس نر و ماده، این اختلاف معنادار بود ( $P<0/05$ ).

میانگین درصد اتوزینوفیل خون نیز در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۸/۹۰±۰/۵۰، ۹/۶۱±۰/۷۶ و ۷±۱/۵۰ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۱۲/۶۲±۱/۹۰، ۷/۱۷±۰/۶۰ و ۷/۳۵±۱/۵۰ بود. اختلاف میانگین درصد یاخته اتوزینوفیل در بین مراحل مختلف جنسی فیل ماهی ماده، و نیز بین دو جنس نر و ماده، معنادار ( $P>0/05$ ) بود، اما در ماهی نر اختلاف بین دو مرحله جنسی سوم و چهارم معنادار ( $P>0/05$ ) نبود؛ بین دو مرحله فوق و مرحله دوم اختلاف معنادار آماری ( $P<0/05$ ) وجود داشت.

میانگین درصد نوتروفیل خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۱۲/۵۶±۰/۹۲، ۱۰/۴۱±۱/۴۷ و ۸/۱۳±۱/۱۸ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۱۶/۷۰±۳/۰۶، ۱۴/۷۶±۱/۵۱ و ۱۳/۰۳±۱/۸۴ بود. اختلاف میانگین درصد یاخته نوتروفیل در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده معنادار ( $P>0/05$ ) نبود، اما بین دو جنس نر و ماده این اختلاف معنادار بود ( $P<0/05$ ).

جدول ۱. مقایسه نتایج شاخص های خونی فیل ماهی نر و ماده پرورشی مورد مطالعه (میانگین  $\pm$  SE) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در یک دوره ۳ ساله

مراحل رسیدگی جنسی	موتوسیت (درصد)	نوتروفیل (درصد)	اوتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	WBC ( $\text{mm}^3 \times 10^3$ )	(%) MCHC	(pg) MCH	(fl) MCV	( $\text{mm}^3 \times 10^3$ ) RBC	(g/Hbdl)	(%) PVC	جنسیت
نر	II	۳/۵۴ $\pm$ ۰/۷۲ <sup>a</sup>	۱۶/۷۰ $\pm$ ۳/۰۶ <sup>a</sup>	۱۲/۶۲ $\pm$ ۱/۹۴ <sup>a</sup>	۶۷/۱۵ $\pm$ ۳/۹۹ <sup>a</sup>	۲۹/۶۱ $\pm$ ۲/۷۶ <sup>a</sup>	۸۳/۵۰ $\pm$ ۱/۸۷ <sup>a</sup>	۳۰۵/۳۳ $\pm$ ۱۴/۵۰ <sup>a</sup>	۸۰۰/۷۷ $\pm$ ۵۶/۳۹ <sup>a</sup>	۷/۰۲ $\pm$ ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۲۵/۲۳ $\pm$ ۱/۷۱ <sup>a</sup>	نر
	III	۳/۳۶ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۴/۷۶ $\pm$ ۱/۵۱ <sup>a</sup>	۷/۱۷ $\pm$ ۰/۶۰ <sup>b</sup>	۷۴/۷۱ $\pm$ ۱/۶۲ <sup>b</sup>	۲۸/۳۵ $\pm$ ۱/۹۵ <sup>a</sup>	۸۳/۰۶ $\pm$ ۳/۲۲ <sup>a</sup>	۳۱۹/۲۴ $\pm$ ۱۰/۱۲ <sup>a</sup>	۸۸۵/۲۴ $\pm$ ۳۲/۰۴ <sup>a</sup>	۷/۱۰ $\pm$ ۰/۲۳ <sup>a</sup>	۲۷/۶۷ $\pm$ ۰/۵۶ <sup>a</sup>	
	IV	۳/۵۶ $\pm$ ۰/۹۲ <sup>a</sup>	۱۳/۰۳ $\pm$ ۱/۸۴ <sup>a</sup>	۷/۳۵ $\pm$ ۰/۷۰ <sup>b</sup>	۷۶/۰۶ $\pm$ ۲/۲۲ <sup>b</sup>	۲۹/۷۰ $\pm$ ۱/۸۰ <sup>a</sup>	۸۴/۲۵ $\pm$ ۲/۱۵ <sup>a</sup>	۳۲۷/۲۱ $\pm$ ۸/۵۰ <sup>a</sup>	۹۳۵/۸۸ $\pm$ ۲۶/۵۰ <sup>b</sup>	۷/۷۹ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>	۳۰/۴۱ $\pm$ ۰/۷۳ <sup>b</sup>	
ماده	II	۲/۸۸ $\pm$ ۰/۲۷ <sup>a</sup>	۱۲/۵۶ $\pm$ ۰/۹۲ <sup>a</sup>	۸/۹۱ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۷۵/۵۹ $\pm$ ۱/۱۰ <sup>a</sup>	۳۳/۵۷ $\pm$ ۱/۰۳ <sup>a</sup>	۸۶/۸۹ $\pm$ ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۳۱۲/۳۳ $\pm$ ۷/۰۶ <sup>a</sup>	۷۷۰/۵۸ $\pm$ ۱۸/۰۴ <sup>a</sup>	۶/۵۴ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۲۳/۴۲ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>a</sup>	ماده
	III	۲/۷۳ $\pm$ ۰/۴۰ <sup>a</sup>	۱۰/۴۱ $\pm$ ۱/۴۷ <sup>a</sup>	۹/۶۱ $\pm$ ۰/۷۶ <sup>a</sup>	۷۶/۸۹ $\pm$ ۱/۷۷ <sup>a</sup>	۲۹/۹۸ $\pm$ ۱/۵۰ <sup>a</sup>	۹۴/۷۲ $\pm$ ۳/۷۰ <sup>a</sup>	۳۳۳/۹۳ $\pm$ ۹/۵۹ <sup>a</sup>	۷۲۰/۷۱ $\pm$ ۲۲/۹۱ <sup>a</sup>	۶/۸۱ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۲۳/۶۴ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>a</sup>	
	IV	۱/۹۴ $\pm$ ۰/۶۳ <sup>a</sup>	۸/۱۳ $\pm$ ۱/۱۸ <sup>a</sup>	۷ $\pm$ ۱/۵۰ <sup>a</sup>	۸۲/۶۹ $\pm$ ۱/۶۴ <sup>a</sup>	۳۴/۷۵ $\pm$ ۳/۷۱ <sup>a</sup>	۲۶/۲۳ $\pm$ ۰/۹۶ <sup>a</sup>	۳۳۲/۸۶ $\pm$ ۲۰/۷۶ <sup>a</sup>	۸۲۶/۲۵ $\pm$ ۶۰/۹۴ <sup>a</sup>	۶/۹۶ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>a</sup>	۲۶/۸۸ $\pm$ ۱/۵۰ <sup>b</sup>	

نمود حروف مشابه روی داده های هر شاخص خونی در مراحل مختلف جنسی بیانگر وجود اختلاف معنادار آماری بین آنهاست ( $P < 0/05$ ).

جدول ۲. مقایسه نتایج شاخص های خونی فیل ماهی نر و ماده پرورشی مورد مطالعه (میانگین  $\pm$  SE) در یک دوره ۳ ساله

جنسیت	موتوسیت (درصد)	نوتروفیل (درصد)	اوتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	( $\text{mm}^3 \times 10^3$ ) WBC	(%) MCHC	(pg) MCH	(fl) MCV	( $\text{mm}^3 \times 10^3$ ) RBC	(g/dl) Hb	(%) PVC
نر	۳/۴۴ $\pm$ ۰/۳۷ <sup>a</sup>	۱۴/۷۰ $\pm$ ۱/۱۲ <sup>a</sup>	۸/۱۹ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۷۳/۶۷ $\pm$ ۱/۳۳ <sup>a</sup>	۲۸/۹۰ $\pm$ ۱/۳۰ <sup>a</sup>	۲۵/۸۸ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>a</sup>	۸۳/۴۲ $\pm$ ۲/۱۵ <sup>a</sup>	۳۱۸/۶۱ $\pm$ ۶/۷۵ <sup>a</sup>	۸۸۱/۹۴ $\pm$ ۲۲/۵۱ <sup>a</sup>	۷/۲۵ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۲۷/۸۸ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>a</sup>
ماده	۲/۸۰ $\pm$ ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۱۱/۸۷ $\pm$ ۰/۷۵ <sup>b</sup>	۸/۹۴ $\pm$ ۰/۴۳ <sup>a</sup>	۷۶/۲۶ $\pm$ ۰/۹۰ <sup>b</sup>	۳۲/۹۲ $\pm$ ۰/۸۶ <sup>b</sup>	۲۷/۹۳ $\pm$ ۰/۴۲ <sup>b</sup>	۸۸/۴۷ $\pm$ ۱/۹۱ <sup>a</sup>	۳۱۷/۸۶ $\pm$ ۵/۷۳ <sup>a</sup>	۷۷۲/۴۴ $\pm$ ۱۴/۶۷ <sup>b</sup>	۶/۶۰ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۲۳/۶۷ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>b</sup>

نمود یک حروف مشابه روی داده های هر شاخص خونی در دو جنس نر و ماده بیانگر وجود اختلاف معنادار آماری بین آنهاست ( $P < 0/05$ ).

(Collazos) *Tinca tinca*، لای ماهی، (Ajani, 2008)  
*Rutilus* (et al., 1998)، ماهی سفید دریای خزر،  
*frisii kutum* (Bani and Haghi Vayghan, 2011)،  
 ماهی استخوانی کله ماری (*Channa argus* Gul et )  
*Ictalurus punctatus* (al., 2011)، گربه ماهی کانالی  
 (Tavares-Dias and Moraes, 2007)، ماهی سیامی  
 (Pouralimotlagh et al., ) *Betta splendens*،  
 جنگنده، و رفتگر ماهی دوجو *Misgurnus*  
 (Zhou et al., 2009) *anguillicaudatus* از درصد  
 و غلظت پایین تری برخوردار بود.

تعداد RBC خون فیل ماهیان پرورشی نیز  
 نسبت به تعداد این یاخته در خون تاسماهیان یادشده  
 و تاسماهی ایرانی جوان (*Acipenser persicus*) و فیل  
 ماهی جوان پرورشی بیشتر یا نزدیک به آنها بود  
 (Bahmani et al., 2001). در حالی که، تعداد RBC  
 فیل ماهیان مورد مطالعه از تعداد کل یاخته قرمز همه  
 ماهیان استخوانی مورد اشاره بسیار کمتر بود. بر  
 اساس منابع مذکور، میانگین درصد هماتوکریت فیل  
 ماهیان مورد مطالعه، با توجه به گونه، در محدوده  
 مناسبی قرار داشت، زیرا درصد هماتوکریت  
 مهره داران بسته به گونه بسیار متغیر (۱۰-۳۵) است  
 (Baker et al., 2005) به طوری که، در ماهیان عموماً  
 در محدوده ۲۰ - ۴۵ درصد قرار دارد.

گونه های فعال تر، مانند ماهیان استخوانی عالی،  
 به علت نیاز به اکسیژن بیشتر درصد هماتوکریت و  
 غلظت هموگلوبین بیشتری نسبت به ماهیان تنبل تر،  
 مانند ماهیان خاویاری، دارند (Satheeshkumar et  
 al., 2012a)، زیرا در اغلب موارد درصد هماتوکریت  
 و غلظت هموگلوبین خون می تواند بیانگر منبع اصلی  
 اکسیژن در پاسخ به مطالبات سوخت و ساز بالاتر  
 باشد و چون ماهیان خاویاری تنبل ترند، بنابراین، به

همچنین، میانگین درصد مونوسیت خون در  
 مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده  
 به ترتیب ۲۷/۲±۲/۸۸، ۴۰/۷±۲/۷۳ و ۶۳/۶±۱/۹۴ و  
 در فیل ماهی نر به ترتیب ۷۲/۳±۳/۵۴، ۵۰/۵±۳/۳۶ و  
 ۹۲/۳±۳/۵۶ بود. اختلاف این شاخص خونی بین  
 مراحل مختلف رسیدگی جنسی در هر دو جنس، و  
 نیز بین ماهیان نر و ماده، معنادار (P>0/05) نبود. در  
 این مطالعه، خون فیل ماهیان مورد بررسی (نر و ماده  
 و در همه مراحل رسیدگی جنسی) فاقد یاخته های  
 بازوفیل بود.

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

مقادیر درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین سرم  
 خون فیل ماهی پرورشی در این تحقیق با درصد  
 هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون تاسماهی  
 پوزه کوتاه جوان (Beyea et al., 2005; Knowles et  
 al., 2006; Jeffrey et al., 2010)، تاسماهی آتلانتیک  
 (Baker et al., 2005)، بچه فیل ماهی (Ahmadifar  
 et al., 2011; Mohammadi Zarejabad et al.,  
 2010; Hoseinifar et al., 2011, Yousefi et al.,  
 2012; Hoseini and Ghelichpour, 2012)،  
 تاسماهی ایرانی وحشی (Kazemi et al., 2010)،  
 ماهیان استخوانی تیلایپیا، *Sarotherodon*  
*melanotheron* (Gabriel et al., 2007)، کله ماری  
 افریقایی، *Parachanna obscura* (Kori-Siakpere  
 et al., 2005) و ماهی اسکار انگشت قد،  
*Astronotus ocellatus* (Firouzbaksh et al.,  
 2011) در یک محدوده قرار داشت، اما نسبت به هر  
 ۵ گونه ماهی استخوانی دریایی مورد مطالعه در  
 سواحل جنوب شرق هند (Satheeshkumar et al.,  
 2011a; 2012)، ماهیان استخوانی *Rhamdia quelen*  
 (Borges et al., 2004)، *Clarias gariepinus*،

درصد هماتوکریت خون بچه فیل ماهی مطالعه شده دیگر محققان، بیشتر بود که بیانگر متغیر بودن درصد هماتوکریت با سن و اندازه ماهی است ( Ziegweid and Black, 2010).

پارامترهای MCV، MCH و MCHC عوامل وابسته به تعداد RBC، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون و تابع تغییرات آنها هستند. سن، مراحل رسیدگی جنسی و شرایط محیطی فاکتورهای اصلی پاسخگویی به تغییرات شاخص‌های یاخته قرمز خون در ماهیان‌اند ( Tavares-Dias and Moraes 2007). کاهش تعداد RBC و افزایش MCV می‌تواند رشد و نمو یاخته‌های قرمز خون را توجیه کند، زیرا MCV بیانگر اندازه و بازتاب وضعیت طبیعی یا غیرطبیعی تقسیمات یاخته در چرخه ساخت یاخته‌های قرمز خون است. بنابراین، افزایش MCV منتج از یاخته‌های بزرگ و بالغ قرمز در چرخه گردش خون است. همچنین، کاهش هماتوکریت سبب کاهش MCV و افزایش MCHC می‌شود که با یافته‌های ما مطابقت دارد. مقدار پارامترهای وابسته به یاخته‌های قرمز خون فیل ماهی پرورشی بسیار بیشتر از خون ماهیان استخوانی عالی بود. گمان بر این است که تفاوت ساختار فیزیولوژیک حرکت و سوخت و ساز، بین ماهیان خاویاری و ماهیان استخوانی عالی، عامل اصلی این تفاوت‌ها باشد، زیرا این پارامترها عوامل وابسته به یاخته‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین‌اند.

در این بررسی، میانگین WBC خون فیل ماهی نر به طور معناداری کمتر از تعداد یاخته‌های سفید خون فیل ماهی ماده بود، اما در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده اختلاف معناداری مشاهده نشد. این یافته با نتایج Collazos و همکاران

اکسیژن و ظرفیت حمل اکسیژن کمتری (درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین به مراتب کمتر) نسبت به ماهیان استخوانی عالی فعال نیاز دارند (Baker et al., 2005).

محققان نشان داده‌اند که یکی از عوامل افزایش دهنده درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین و تعداد RBC خون، روند رشد گناد در ماهیان، به علت افزایش استرس به ویژه در مراحل بالاتر رسیدگی جنسی است، زیرا این شرایط سبب آزاد شدن کاتکولامین‌ها، تحریک و بسیج یاخته‌های قرمز خون از طحال (که معمولاً با تأخیر صورت می‌گیرد) و در نتیجه متورم شدن یاخته‌های قرمز می‌شود (Beyea et al., 2005) و طحال یاخته‌های قرمز جدید را به داخل خون آزاد می‌کند (Wendelaar Bonga, 1997). با افزایش تعداد و حجم ترشدن یاخته‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون نیز افزایش می‌یابد. همه این تغییرات سبب افزایش ظرفیت حمل اکسیژن محلول خون در تنظیم ذخیره تقاضای منابع اکسیژن در شرایط استرس‌زا (مانند قرار گرفتن ماهی در مراحل بالاتر رسیدگی جنسی) می‌شود (Ajani, 2008; Hoseini and Ghelichpour, 2012).

برخی از مطالعات نیز نشان دادند که در شرایط استرس‌زا (مانند افزایش شوری) از تعداد RBC، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین کاسته می‌شود و این کاهش ناشی از کاهش تعداد RBC خون است (Mohammadi et al., 2010). Zarejabad، آنها این اختلاف نتیجه خود را با دیگر محققان در پارامترهای یادشده، اندازه بدن و سن ماهی (بچه‌ماهی) مورد مطالعه بیان کردند. در تحقیق حاضر نیز درصد هماتوکریت خون فیل ماهی از

لنفوسیت وابسته به گروهی از یاخته‌های سیستم ایمنی‌اند که عوامل مختلف استرس‌های طبیعی سریع‌ترین واکنش را به معرفی اجسام خارجی درون موجود زنده، به منظور تعدیل فشار، انجام می‌دهند (Mikryakov *et al.*, 2009). این یاخته‌ها، با تولید آنتی‌بادی‌های ویژه و افزایش آن در ماکروفاژها، سیستم دفاعی و ایمنی بدن ماهی را در برابر شرایط نامساعد و بد محیطی ارتقا می‌بخشند (Jalali *et al.*, 2009).

Youneszhadeh Fashalemi در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ کاهش درصد یاخته‌های لنفوسیت را در استرس حاد و مزمن اثبات شده می‌داند و بیان می‌کند که درصد یاخته لنفوسیت در ماهیان نر اوزون‌برون نسبت به ماهیان ماده بیشتر است که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد، اما Pourali Motlagh و همکاران در سال ۲۰۱۲ درصد یاخته‌های لنفوسیت را پارامتری وابسته به جنس اعلام کردند، زیرا درصد یاخته لنفوسیت در ماهیان ماده به مراتب بیشتر از نر بود که تا حدی با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت.

در تاسماهیان یاخته‌های نوتروفیل با افزایش استرس زیاد می‌شوند. افزایش استرس سبب افزایش نوتروفیل و کاهش یاخته‌های لنفوسیت می‌شود. مقدار طبیعی یاخته‌های ائوزینوفیل، که عمل فاگوسیتوز باکتری‌ها را در بدن بر عهده دارند، در ماهیان بین ۲-۳ درصد است که حداکثر می‌تواند به ۱۰ درصد مجموع یاخته‌های سفید خون برسد (Stoskopf, 1993; Kazemi *et al.*, 2010) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

بر اساس نتایج این پژوهش، برخی از شاخص‌های خونی فیل ماهی پرورشی، به ویژه تعداد

در سال ۱۹۹۸ مطابقت داشت. همچنین، میانگین تعداد WBC فیل ماهی پرورشی از میانگین تعداد WBC ماهیان مورد اشاره در آغاز بحث، بالاتر بود. به نظر می‌رسد ارتباط معکوسی بین تعداد RBC و WBC وجود داشته باشد. به عبارت دیگر، تعداد بالای RBC نیاز بیشتر به تعداد WBC را کاهش می‌دهد (Satheeshkumar *et al.*, 2012b). تعداد یاخته‌های سفید و قرمز خون تاسماهی اوزون‌برون پرورشی نیز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در فصول مختلف فاقد اختلاف معنادار بود (Yousefi Jourdehi, 2007). آنها علت عمده این امر را ناشی از سیر طبیعی سوخت و ساز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و یکسان دانستن نیاز اکسیژنی طی دوره رسیدگی جنسی اعلام کردند، اما برخلاف نظر مذکور، در ماهی سفید مولد تعداد یاخته‌های سفید در زمستان (پیش از تخم‌ریزی) در بالاترین مقدار خود بود (Bani and Haghi Vayghan, 2011). علت این افزایش وابسته بودن تعداد یاخته‌های سفید خون به فعالیت‌های تولید مثلی اعلام شد، زیرا تعداد یاخته‌های سفید علاوه بر اینکه تحت تأثیر دما، گرسنگی، استرس و بیماری است، به شدت از چرخه تولید مثلی نیز تأثیر می‌پذیرد (Bani and Haghi Vayghan, 2011) که با نتایج پژوهش حاضر نیز مطابقت دارد.

در این مطالعه، بین درصد یاخته‌های مختلف سفید خون (به جز نوتروفیل) در جنس‌های نر و ماده اختلاف معناداری وجود نداشت، اما با افزایش مرحله رسیدگی جنسی درصد آنها نیز افزایش یافت. همچنین، در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، به ویژه در ماهیان نر، اختلاف درصد یاخته‌های سفید خون بارز بود. مطالعات مختلف نشان داد که یاخته‌های

یاخته‌های قرمز و سفید و درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین، پارامترهای وابسته به جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی اند که مقدار آنها از گونه‌های فعال‌تر مانند ماهیان استخوانی و نیز ماهیان خاویاری وحشی کمتر است. همچنین، پروفایل دامنه طبیعی این شاخص‌های فوق در دو جنسیت نر و ماده و نیز در مراحل مختلف جنسی متفاوت از یکدیگر است که می‌تواند به‌منزله شاخص مطالعات خون‌شناسی به کار رود، اما شاخص‌های یاخته قرمز خون و درصد افتراقی یاخته‌های سفید خون از پارامترهای غیروابسته به جنسیت و تابعی از شرایط محیطی و وضعیت فیزیولوژیکی ماهی‌اند.

### تقدیر و تشکر

از مدیریت بخش آبی‌پروری مؤسسه تحقیقات شیلات ایران و مدیریت وقت مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر برای حمایت‌های مالی و اجرایی و از همه همکاران مؤسسه تاسماهیان (به ویژه همکاران دو بخش فیزیولوژی و بیوشیمی و تکثیر و پرورش) برای همکاری‌های صمیمانه‌شان در اجرای این پژوهش، سپاسگزاری می‌شود.

## References

- [1]. Ahmdifar, A., Akrami, R., Ghelichi, A., Mohammadi Zarejabad, A., 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. 20, 447-451.
- [2]. Anderson, D., Klontz, G.W., 1965. Basic Haematology for the fish culturist. *Proceeding of Annual Northway Fish Culture Conference*. 16: 38 – 41.
- [3]. Ajani, F., 2008. Hormonal and haematological responses of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) to ammonia toxicity. *African Journal of Biotechnology*. 7(19), 3466-3471.
- [4]. Ates, B., Orum, I., Talas, Z.S., Durmaz, G., Yilmaz, I., 2008. Effects of sodium selenit on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb and Cu. *Fish Physiology and Biochemistry*. 34, 53-59.
- [5]. Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P., 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeon. *Fish Physiology and Biochemistry*. 24, 135-140.
- [6]. Bahmani, M., Kazemi, R., Hallajian, A., Mohseni, M., Pourdehghani, M., Family, Sh. and Jamalzadeh, F. 2007. Study of the artificial propagation possibility in reared Stellate sturgeon, *Acipenser stallatus*. Iranian fisheries research organization. 130 p.
- [7]. Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K., Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*. 66, 208-221.
- [8]. Bani, A., Haghi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyological Research*. 58(2), 126-133.
- [9]. Beyea, M.M., Benfey, T.J., Kieffer, J.D., 2005. Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 31, 303-313.
- [10]. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 30, 21-25.
- [11]. Collazos, M.E., Ortega, E., Barriga, C., Rodriguez, B., 1998. Seasonal variation in haematological parameters in male and female *Tinca tinca*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 183, 165-168.
- [12]. Gabriel, U.U., Ezeri, G.N.O., Opabunmi, O.O., 2004. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). *African Journal of Biotechnology*. 3(9), 463-467.
- [13]. Falahatkar, B., Pourkazemi, M. Soltani, M., 2002. A study on relationship between haematological factors and broodstock quality in Russia sturgeon, *Acipenser gueldenstaeti*. *Journal of Pajouhesh-va-Sazandegi*. 53, 26-31.
- [14]. F.A.O. 2010. Fish StatPlus statistical database.
- [15]. Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.Kh., Jani-Khalili, K., 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37(4), 833-842.
- [16]. Gabriel, U.U., Anyanwu, P.E., Akinrotimi, A.O., 2007. Comparative effects of different acclimation media on haematological characteristics of brackishwater Tilapia, *Sarotherodon*

- mellanotheron* (Rupell, 1852). Journal of Fisheries International 2(3), 195-199.
- [17]. - Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H., Li, Y., 2007. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: a comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology. 147, 1001-1008.
- [18]. Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E.M., Moraes, F.R., Martins, M.L., 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture. 271, 39-46.
- [19]. Gul, Y., Gao, Z.X., Qian, X.Q., Wang, W.M., 2011. Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). Journal of Applied Ichthyology. 27, 122-128.
- [20]. Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). Fish Physiology and Biochemistry. 38(2), 493-498.
- [21]. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., Darvish Bastami, K., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry. 37, 91-96.
- [22]. Houston, C.B., 1990. Blood & Circulation. In: Shreck, C.B., Moyle, P.B., (Ed.), Methods for fish biology. American fisheries society, USA. pp. 273-322.
- [23]. Katharios, P., Iliopoulou-Georgudaki, J., Kapata-Zoumbos K. and Spiropoulos S. 2002. Toxicity of intraperitoneally injected ivermectin in sea bream, Fish Physiology and Biochemistry. 25, 99-108.
- [24]. Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M. and Nasri Tajan, M. 2010. Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology. Bazorgan Press, Rasht, Iran, 194 p.
- [25]. Kazemi, R., Pourdehghani, M., Dezhandian, S., Hallajian, A., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., Yazdani, M.A., Mohseni, M., Mohammadi Pareshkoh H. and yeganeh, H. 2012. Study on the propagation possibility in reared Great Sturgeon, *Huso huso* by GnRH synthetic hormone for production of fingerling. Iranian fisheries research organization. 80 p.
- [26]. Kebus. S.J., Collins, M.S., Amondson, C.H., Kayes, T.B., Malison, J.A., 1992. Effects of rearing density on stress response and growth of rainbow trout. Journal of Aquatic Animal Health 4, 1-6.
- [27]. Knowles, S., Hrubec, T.C., Smith, S.A., Bakal, R.C., 2006. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). American Society for Veterinary Clinical Pathology. 35, 434-440.
- [28]. Kori-Siakpere, O., Ake, J.E.G., Idoge, E., 2005. Haematological characteristics of the African snakehead, *Parachanna obscura*. African Journal of Biotechnology. 4(6), 527-530.
- [29]. Jamalzadeh, H.R., Oryan, Sh., Ghomi, M.R., 2008. Hematological characteristic and correlations of diploid and triploid Caspian salmon *Salmo trutta caspicus* in juvenile stage. Journal of Cell and Animal Biology. 2 (12), 195-198.
- [30]. Mohammadi Zarejabad, A., Jalali, M.A., Sudagar, M., Pouralimotlagh, S., 2010a. Hematology of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile exposed to brackish water environment. Fish Physiology and Biochemistry. 36, 655-659.
- [31]. Padash-Barmchi, Z., Safahieh, A., Bahmani, M., Savari, A., Kazemi, R., 2010. Immune responses and behavior alterations of Persian sturgeon fingerlings *Acipenser persicus* exposed to sublethal concentrations of diazinon. Journal of Toxicological & Environmental Chemistry. 92 (1),

- 159-167.
- [32]. Pouralimotlagh, S., Mohammadi Zarejabad, A., Ghorbani Nasrabadi, R., Ahmadifar, E., Molaee, M., 2012. Haematology, morphology and blood cells characteristics of male and female Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Comparativ Clinical Pathology*. 21(1), 15 – 21.
- [33]. Pourgholam, R., Saeidi, A., Lotfinezhad, H. 1996. Differential cont of leukocyte cells in Russia sturgeon, Persian sturgeon and Beluga on physiological natural condition. *Abzian monthly magazine*. 6(12), 48-49.
- [34]. Rough, K.M., Nowak, F.B., Reuter, R.E., 2005. Haematology and leukocyte morphology of wild caught *Thunnus maccoyii*. *Journal of Fish Biology*. 66, 1649-1659.
- [35]. Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D., Basheer Khan, A., Jevanantham, K., 2012a. Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comparative Clinical Pathology*. 21(3), 275-281.
- [36]. Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthil kumar, D., Jagadeesan, L., 2012b. Haematology and biochemical parameters of different feeding behavior of teleost fishes from Vellar estuary, India. *Comparative Clinical Pathology*. 21(6), 1187-1191.
- [37]. Shigdar, S., Cook, D., Jones, P., Harford, A., Ward, C., 2007. Blood cells of Murray cod *Maccullochella peelii peelii*. *Journal of Fish Biology*. 70, 973-980.
- [38]. Stoskopfe, M.A., 1993. *Fish Medicine*. Sounders Company. USA. 882 p.
- [39]. Tavares-Dias, M., Mpraes, F.R., 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*. 71, 383-388.
- [40]. Youneszadeh Fashalemi, M., 2007. Investigation relationship between stress indices and sexual maturity development in farmed Stellate sturgeon breeders. M.Sc Thesis. Ocean and Marine science faculty. Khorramshahr Marin technology and science University, Iran, 146 p.
- [41]. Yousefi, M., Abtahi, B., Abdian Kenari, A., 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clinical Pathology*. 21(5), 1043-1048.
- [42]. Yousefi Jourdehi, A., 2006. Evaluation of some haemotological and osmotic indices relation with sexual maturity development in *Acipenser stellatus* during different seasons. M.Sc. Thesis. Natural Resources Faculty. Islamic Azad University, Iran, Lahijan branch. 158 p.
- [43]. Zexia, G., Weimin, W.Yi Y., Abbas, Kh., Dapeng, Li., Guiwei, Z., Diana, J.S., 2007. Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 33, 213-222.
- [44]. Zhou, X.Li.M., Abbas, Kh., Wang, W., 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology Biochemistry*. 35, 435-441.