

مطالعه بافتی گلبول های سفید و سنجش برخی اندیس های خونی در گربه کوسه لکه دار (*Chiloscyllium punctatum*) خلیج فارس در فصل سرد

زهرا بصیر^{۱*}، رحیم عبدی^۲

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۷

چکیده

سنجش پارامترهای خونی یکی از مهمترین راههای تشخیص بیماری و سلامت در آبزیان است و عوامل متعددی آن را دستخوش تغییرات می کند. در این تحقیق تعداد ۳۰ قطعه گربه کوسه لکه دار (*Chiloscyllium punctatum*) با خصوصیات زیست سنجی مشابه از هر دو جنس نر و ماده از خورهای شمالی خلیج فارس صید شدند. پس از صید، خون گیری و تهیه گسترش، پارامترها و فاکتورهای خون شامل WBC، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و اندیس های خونی شامل MCV, MCH, MCHC اندازه گیری شدند. بر اساس نتایج به دست آمده بین فاکتورهای اندازه گیری شده و جنس های مختلف اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P < 0.05$). در خصوص پارامترهای مربوط به گلبول های سفید لنفوسیت با بیشترین تعداد و ائوزینوفیل با کمترین مقدار و در جنس نر بوده است. همچنین مقدار گلبول های سفید در جنس نر بیشتر از جنس ماده و بیشترین اندیس خونی مربوط به MCV و در جنس نر و کمترین آن مربوط به MCHC و در جنس ماده بوده است بنابراین در دو جنس اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در تحقیق اخیر، فاکتورهای گلبول های سفید خون در مقایسه با سایر گونه های آبی که توسط دیگر محققین انجام پذیرفته است، دارای تشابهات و اختلافاتی داشت که در گزارش به آن پرداخته شده است.

واژگان کلیدی: بافت خون، گربه کوسه لکه دار، خلیج فارس

۱. مقدمه

گره کوسه لکه‌دار بدن و دم باریک، قسمت جلوی پوزه گرد و فاقد برجستگی هایی روی تنه. باله‌های پشتی بزرگ دارد و رنگ بدن در بالغین قهوه ای روشن است. باله های پشتی بزرگ و زاویه دار و قدری بزرگتر از باله های شکمی، نوک عقبی باله های پشتی آزاد و جلو آمده، فاصله بین دو باله پشتی کوتاه و کمی بزرگتر از قاعده اولین باله پشتی است. دم دراز، باریک و بدون تنگ شدگی در قاعده است که از انتهای دومین باله پشتی شروع می‌شود. سوراخ‌های اسپیراکل درشت و در پشت چشم‌ها قرار دارند، چشم‌ها کوچک و فاقد پلک سوم هستند. در بخش قدامی سوراخ بینی دارای سیبک و ۵ جفت شکاف آبششی کوچک که ۲ تا ۳ شکاف آن‌ها در بالای قاعده باله سینه ای قرار دارند (Zhou et al., 2008 ; Zabelinskii et al., 2006). این آبریان بیشتر در مناطق ساحلی و در نزدیک کف دریا سرتاسر خلیج فارس و دریای عمان زندگی می‌کنند (Hill et al., 2004). بیشتر در مناطق ساحلی و در نزدیک کف دریا زیست می‌کنند شناگران کندی هستند و از کوسه های کرانه‌ای کف‌زی شمرده می‌شوند (Allen & Joseph, 2006). آن‌ها از ماهیان کوچک و بی مهره گان تغذیه می‌کنند. و در سراسر خلیج فارس و در یای عمان زندگی می‌کند. همچنین از لحاظ تولید مثلی تنها کوسه‌ی تخم‌گذار است. خون، به صورت یک بافت سیال یکی از مهم ترین مایعات بیولوژیک بدن در کوسه ها است و تحت تأثیر حالات مختلف بدن موجود از جمله عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (Hazon et al., 2003; Ballard et al., 2005); بنابراین در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری های مختلف از ابزارهای مهم تشخیص در بسیاری از بیماری های آبریان بوده است (Kruger et al., 2006). باید به‌خاطر داشت که در رابطه با آبریان و از جمله ماهی ها و کوسه ها نیز، این مهم با تعیین

مقادیر طبیعی پارامترهای خونی به عنوان مبنا و شاخصی مهم برای مقایسه و قضاوت در تشخیص بیماری‌ها مورد تأکید قرار گرفته است (Adedeji et al., 2009 ; Aras et al., 2008). خون در آبریان از عناصری ترکیب شده که به حالت معلق در پلاسما هستند. این عناصر شامل گلبول های قرمز برای انتقال اکسیژن، گلبول های سفید برای دفاع و سیستم ایمنی و پلاکت‌ها جهت انعقاد خون می‌باشد. همچنین پلاسما حاوی انواع مختلف پروتئین‌ها و مولکول های فراوان محلول در آب است. بر اساس مطالعات مشخص شد کوسه‌های جنس *Chiloscyllium*، مانند گره کوسه لکه‌دار از جمله کوسه‌هایی هستند که از سواحل و خورهای خلیج فارس صید می‌شوند. این کوسه‌ها از اعضای خانواده گره کوسه‌های دم بلند و بومی سواحل اقیانوس آرام و هند هستند (Asadi et al., 2006). همچنین، پرورش این کوسه‌ها در آکواریوم‌ها رایج است و به علت اندازه کوچک‌غیر مهاجر بودن و داشتن خوی آرام، زمینه تحقیقات آزمایشگاهی فراوانی هستند (Akhlaghi & Tavakoli, 2009). به دلیل این خصوصیات فیزیکی، گونه گره کوسه یک مدل ایده‌آل برای مطالعات بیولوژیک و فیزیولوژیک در سطح آبریان است.

۲. مواد و روش‌ها

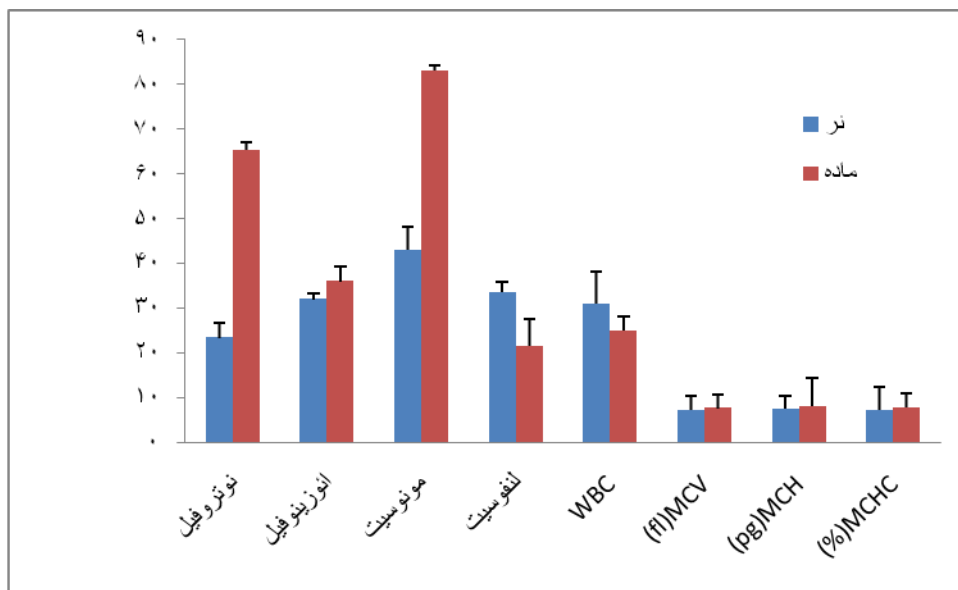
در این پژوهش تعداد ۳۰ قطعه گره کوسه لکه دار (*Chiloscyllium punctatum*) از هر دو جنس با خصوصیات زیست‌سنجی مشابه از خور درویش در قسمت شمالی خلیج فارس در فصل زمستان صید گردید. پس از صید، عملیات خون‌گیری به وسیله سرنگ ۱۰ سی سی و سرسوزن ۱۸ همراه با ماده ضد انعقاد هپارین صورت گرفت. شمارش کلی گلبول های سفید (WBC) به روش هموسی‌تومتر با استفاده از لام نئوبار انجام گرفت. اندیس‌های خونی مانند MCV, MCH, MCHC با استفاده از میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول های قرمز محاسبه گردید.

اختلاف معنی‌داری بین طول و وزن آن‌ها وجود نداشت ($P < 0.05$). همچنین نوتروفیل‌ها در مطالعات میکروسکوپی در هر دو جنس دارای اشکال قطعه قطعه بوده‌اند. بر اساس نتایج به دست آمده، بین فاکتورهای اندازه گیری شده و جنس‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.05$). همچنین بیشترین مقدار گلبول‌های سفید مربوط به لنفوسیت و در جنس نر و کمترین مقدار آن مربوط به ائوزینوفیل و در جنس نر بود. حجم هماتوکیت و مقدار گلبول‌های سفید در جنس نر بیشتر از جنس ماده و بیشترین اندیس خونی مربوط به MCV و در جنس نر و کمترین آن مربوط به MCHC و در جنس ماده بود (نمودار شماره ۱).

همچنین برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید از رنگ آمیزی گیمسا و گرفتن درصد حاصل از شمارش ۱۰۰ گلبول سفید انجام پذیرفت (Sreenivasa et al., 2001; Benetick et al., 2008). برای مطالعه و تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل، از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج

در این تحقیق بر اساس نتایج زیست‌سنجی کوسه‌های جنس نر و ماده، هر کدام ۱۵ عدد، به ترتیب دارای میانگین طول $3/6 \pm 87/27$ و $4/22 \pm 86/27$ سانتیمتر و میانگین وزنی $124/22 \pm 1625/27$ و $114/28 \pm 1601/36$ گرم بودند که



نمودار شماره ۱. نمودار مربوط به میانگین و خطای استاندارد برخی پارامترهای خون شناسی گربه کوسه لکه‌دار جنس‌های مختلف

مطالعه بسیار ضروری است. در بین گونه‌های مختلف ماهی اندازه گلبول‌های قرمز بسیار متفاوت بوده و ماهیان الاسموبرانش مانند کوسه‌ها، دارای گلبول‌های قرمز بزرگ تری می‌باشند (Capae et al., 2008; Das et al., 2006). تعیین مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی خون اطلاعات مهم و حیاتی در جهت تشخیص و مدیریت نمونه‌های آلوده و سالم فراهم

۴. بحث و نتیجه‌گیری

به دلیل اطلاعات ناکافی در رابطه با پارامترهای خونی گونه‌هایی همانند گربه کوسه لکه‌دار خلیج فارس از یک طرف و اطلاعات محدود در رابطه با عوامل مؤثر بر این پارامترها، از جمله فاکتورهای محیطی و عوامل فیزیولوژیک به عنوان پایه و معیاری برای مقایسه با شرایط سلامت و بیماری در گونه مورد

می‌کنند (Flynn *et al.*, 2006). محققین گزارش کردند که گلبول قرمز ماهیان دارای هسته بوده، معمولاً بیضی شکل است و فقط در تعداد نسبتاً محدودی از گونه‌ها مانند لامپری‌ها (Chen *et al.*, 2004) به صورت تقریباً کروی دیده می‌شود که در مطالعه اخیر در مطالعات میکروسکوپی خون گربه کوسه لکه دار نیز گزارش گردید. برخی از محققین گزارش کردند که معمولاً ارتباط معکوسی بین اندازه و تعداد گلبول‌های قرمز وجود دارد؛ به طوری که در کوسه‌ها (Good, 2005) و سپر ماهیان کمتر از نیم میلیون گلبول قرمز در هر میلی متر مکعب موجود است (Mazon *et al.*, 2004). انواع سلول‌های خونی محیطی ماهی را اریتروسیت‌ها، ترومبوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، هتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها و سلول‌های نابالغ تشکیل می‌دهند و فعالیتی مشابه با فعالیت سلول‌های پستانداران برای آن‌ها ذکر شده است (Morris, 2010). باید توجه داشت که در مطالعه پارامترهای خون شناسی ماهی مجموعه‌ای از فاکتورهای محیطی و بیولوژیک حائز اهمیت هستند. برخی از محققین اثر جنس، وزن و طول بدن را در میزان هموگلوبین و هماتوکریت را در ماهی شانک مطالعه و بیان کردند که میزان Hb و PCV و اریتروسیت‌ها در جنس نر بالاتر از ماده می‌باشد و با افزایش طول و وزن ماهی این فاکتورها افزایش می‌یابند (Rodriguez-Cabello *et al.*, 2007) که در تحقیق حاضر بین دو جنس این اختلاف مشاهده نگردید. همچنین Musick و همکاران در سال 2004 اثر جنس و گونه را در چند گونه ماهی بررسی کردند و دریافتند که میزان Hb و PCV و گلبول‌های قرمز و برخی از گلبول‌های سفید از جمله نوتروفیل و مونوسیت در جنس نر بالاتر از جنس ماده بوده که با نتایج به دست آمده در این گونه نیز همخوانی دارد. همچنین در تحقیقی بر روی گونه مشابه گزارش کردند که معمولاً در ماهیان الاسموبرانش میزان هماتوکریت کمتر از ۲۵٪ است که با تحقیق اخیر مطابقت داشته اما در بیشتر ماهیان

استخوانی این مقدار بین ۱۰٪ تا ۳۰٪ قرار دارد (Schaaf-Da Silva *et al.*, 2008). البته در بعضی از گونه‌های دریایی مانند کفال خاکستری نیز این مقدار اندکی بیشتر نسبت به سایر گونه‌های آبی قرار دارد. همچنین مشخص گردید که در بسیاری از آبیان به طور کلی در آغاز فصل مهاجرت تولید مثلی مقادیر بالایی از درصد هموگلوبین در خون خود دارند، که به تدریج در زمان سیکل تولید مثلی از مقدار آن کاسته می‌شود (Nakaya *et al.*, 2013). بر اساس مطالعات انجام گرفته مشخص شد که فصل، درجه حرارت، گونه و میزان تحرک آبی بر مقدار پارامترهای خونی آن بسیار موثر است. همچنین این محققین تاثیر استرس و دستکاری بر شمارش فاکتورهای خونی از جمله لوکوسیت‌ها را بسیار موثر دانسته‌اند. هموگلوبین خون می‌تواند تحت تاثیر تفاوت‌های گونه‌ای نیز قرارگیرد. Rehulka و همکاران در سال ۲۰۰۵ مقدار هموگلوبین را در فصل زمستان نسبت به فصل بهار کمتر گزارش کردند (Rehulka *et al.*, 2005). Takabe و همکاران در سال 2012 گزارش کردند که پارامترهای خونی در دو فصل سرد و گرم در بیشتر گونه‌های مورد مطالعه در آبیان متفاوت بوده، شمارش گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها، لنفوسیت و مونوسیت در جنس ماده به ویژه در فصل تولید مثلی بیشتر از جنس نر گزارش گردید (Takabe *et al.*, 2012). Schaaf و همکاران در مطالعه بر روی گونه‌های کفزی که دارای تحرک کمتری هستند نسبت به گونه‌های عمق‌زی و وسط‌زی دارای پارامترهای خونی و اندیس‌های خونی کمتری بوده‌اند (Schaaf-Da Silva *et al.*, 2008). همچنین محققین گزارش کردند که افزایش دما و افزایش شوری باعث تغییر در اندیس‌ها و پارامترهای خونی مانند درصد نوتروفیل و لنفوسیت گشته اما بین جنس‌های نر و ماده اختلاف مورد نظر معنی‌دار نبوده است. بر اساس نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر مشخص گردید که لنفوسیت‌ها بیشترین درصد گلبول‌های سفید را تشکیل داده که با نتایج

- rearet channel cat fish . J fish Biol 49: 108-114.
- Capae, C., Reynaud, C., Vergne, Y., Quignard, J. 2008. Biological observations on the small spotted catshark *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the Languedocian coast (southern France, northern Mediterranean). Pan-Am J Aquat Sci 3: 282-289.
- Chen., C.Y., Gregory., A., Wooster., P.R. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. Aquaculture 239: 421-443.
- Das, P.C, Aypn, S., Jena, J.K. 2006. Haematological changes in the three Indian major carps, labeo, *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala* exposed to acidic and alkaline water pH. Aquaculture 256: 80-87.
- Flynn, S.R, Matsuoka, M., Reith, M., Martin, D.J, Benfey, T.J. 2006. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuere. Aquaculture 253 (1-4): 721-727.
- Good, J.P. 2005. The rectal gland and euryhalinity in elasmobranch fish. PhD Thesis, University of St Andrews, St Andrews, Scotland. pp: 130.
- Hazon, N., Wells, A., Pillans, R.D. Good, J.P., Gary, W., Franklin, C.E. 2003. Urea based osmoregulation and endocrine control in elasmobranch fish with special reference to euryhalinity. Comp Biochem Physiol Part B: Biochem Mol Biol 136: 685-700.
- Hill, R.W., Wyse, G.A., Anderson, M. 2004: Animal physiology. Sinauer Associates. Sunderland: pp 685-719.
- Kruger, J.C., Smit, J.L., Van, J.H., Ferreira, J.T. 2006. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). J Fish Biol 24: 263-272.
- Mazon, A.F., Nolan, D.T, Fernandes, M.N., Wendelaar, Bonga, S.E. 2004. A short-term in vitro gill culture system to study the effects of toxic (copper) and non-toxic (cortisol) stressors on the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Toxicol In Vitro 18: 691-701.
- Morris, A.L. 2010. The relationship between water chemistry and goiter development in two species of Bamboo sharks, *Chiloscyllium spp.* University of Florida. pp: 25.
- حاصل از Adedeji و همکاران در سال 2009 بر روی گربه ماهی آفریقایی مطابقت داشت. همچنین نوتروفیل دارای اشکال قطعه قطعه بوده (Allen & Joseph, 2006). که مطابق گزارشات Hill و همکاران در سال 2004 بر روی لاک پشت دریایی همخوانی دارد. در مجموع پارامترهای خونی در گونه مورد مطالعه تفاوت ها و تشابهات قابل توجهی با سایر گونه های عالی تر داشته و با توجه به اهمیت این فاکتورها در مدیریت گونه ها و از آنجایی که نتایج به دست آمده در این تحقیق تنها منبع ارائه شده در این زمینه در مورد سرم خون گربه کوسه لکه دار خلیج فارس است. امید است این تحقیق زمینه خوبی برای تحقیقات آتی و همچنین مدیریت این گونه و سایر گونه های موجود فراهم سازد.

منابع

- Allen, J.P., Joseph, J.C. 2006. Age/size effects on juvenile green sturgeon, *Acipenser medirostris*, oxygen consumption, growth, and osmoregulation in saline environments. Environ Biol Fish 14: 123-142.
- Adedeji, O.B., Adeyemo, O.K., Agbede, S.A. 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*) Afr J Biotechnol 8: 3940-3946.
- Akhlaghi, M., Tavakoli, H. 2009. Study of Lysozyme, Immunoglobulin, Blood Cell and Hematocrit Changes Following Experimental Infection with a Pathogenic *Aeromonas hydrophila* in Rainbow Trout. J Vet Res 64(2): 157-162.
- Aras, M., Bayir, A., Sirkecioglu, A.N., Polat, H., Bayir, M. 2008. Seasonal variations in serum lipids, lipoproteins and some haematological parameters of chub (*Leuciscus cephalus*). Ital J Anim Sci 7: 439-448.
- Asadi, F., Halajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P., Jadidizadeh, F. 2006. Serum biochemical parameters of *Huso huso*. Comp Clin Path 15 (4): 245- 248.
- Ballard, W., Mellinger, J., Lechenault, H. 2005. A series of normal stages for development of *Scyliorhinus canicula* the lesser spotted dogfish (Chondrichthyes: Scyliorhinidae). J Exp Zool 267: 318-336.
- Benetick, j., Bleau, M.H, Waterstar, P.R. 2001. Biochemical reference range for commercially

- Sreenivasa, A., Venkata, M., Radharkishnaiah, K. 2008. Impact of copper on the oxidative metabolism of the fry of common carp at different pH. *J Environ Biol* 29: 721-724.
- Takabe, S., Teranishi, K., Takaki, S., Kusakabe, M., Hirose, S., Kaneko, T. 2012. Morphological and functional characterization of a novel Na⁺/K⁺-ATPase-immunoreactive, follicle-like structure on the gill septum of Japanese banded houndshark, *Triakis scyllium*. *Cell Tissue Res* 348: 141-153.
- Zabelinskii, S.A., Chebotareva, M.A., Shukolyukova, E.N., Emelyanova, L.V., Savina, M.V., Belostotskaya, G.B. 2006. Comparative Study of Lipids and Fatty Acids in Blood Plasma of River Lamprey *Lampetra fluviatilis* and Brown *Rana temporaria* at the periods of elimination of exogenous feeding. *J Evol Biochem Physiol* 42: 376-382.
- Zhou, X., Li, M., Abbas, K., Wang, W. 2008. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiol Biochem* 35: 435-441.
- Musick, J.A., Harbin, M.M., Compagno, L.J. 2004. Historical zoogeography of Selachii. *CRC. Mar Biol Ser*: P: 33.
- Nakaya, K., Inoue, S., Hsuan, C.H. 2013. A review of the genus *Cephaloscyllium* (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) from Taiwanese waters. *Aqua International J Ichthyol* 3752 (1): 101-129.
- Rehulka, J., Minarik, B., Adamec, V., Rehulkova, E.R. 2005. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacul Res* 36: 22-32.
- Rodriguez-Cabello, C., Sanchez, F., Olaso, I. 2007. Distribution patterns and sexual segregations of *Scyliorhinus canicula* (L.) in the Cantabrian Sea. *J Fish Biol* 70: 1568-1586.
- Schaaf-Da Silva, J.A., Ebert, D.A. 2008. A revision of the western North Pacific swellsharks, genus *Cephaloscyllium* Gill (Chondrichthys: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae), including descriptions of two new species. *Zootaxa* 18: 1-8.

Histological study of WBC and hematological indices of spotted catshark *Chiloscyllium punctatum* in Persian Gulf during the cold season

Zahra Basir^{1*}, Rahim Abdi²

1. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ahvaz university of Shahid Chamran
2. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology

Abstract

Measurement of blood parameters is a diagnostic method to determine disease or health in aquatic organisms that can change by numerous factors. In this study 30 spotted catsharks *Chiloscyllium punctatum*, with similar characteristics of both sexes were caught from the northern estuary, of Persian Gulf. Blood samples were collected and parameters such as WBC, lymphocytes, monocytes, eosinophils, neutrophils and blood indices including MCV, MCH, MCHC were measured. Results indicated no significant difference between the measured parameters and both sexes ($p>0.05$). The highest count of lymphocytes and the lowest count of eosinophils were seen in males. White blood cells were higher in male than in female. The highest MCV was seen in male and the lowest MCHC was seen in female with no significant difference in both sexes. Differences in WBC and blood parameters in cat spotted shark with other marine organisms are discussed.

Keywords: Cytology, blood, spotted catshark, Persian Gulf

*Corresponding author, E-mail: z.basir@scu.ac.ir