Archive of SID

مقایسه پارامترهای خون‌شناسی کفال ماهی طلایی (*Liza aurata*) به‌عنوان نشانگرهای زیستی در دو فصل پاییز و زمستان

محمودی، ف.[۱،*]؛ علی جان پور، س.[۲]؛ جعفریان، ح.[۳]، عقیل نژاد، س. م.[۴]؛ جرجانی، ع.[۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد، ایران
[۳] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد، ایران
[۴] مرکز بهره برداری ماهیان خاویاری ، گرگان، ایران
Email: mahmoodif1990@ gmail.com

از نشانگرهای زیستی می‌توان به‌عنوان بیان‌کننده‌ی تغییرات فیزیولوژی، بیوشیمی، بافت شناختی حاصل از مواد شیمیایی و عوامل زیست‌محیطی در جانوران آبزی ذکر کرد. مکانیسم‌های محافظت‌کننده‌ای که اغلب شامل تغییرات فعالیت‌های آنزیمی می‌باشد می‌توان به‌عنوان نشانگرهای زیستی در ماهیان موردتوجه قرار گیرد. ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از مهم‌ترین شواهد مراحل فیزیولوژیک آن‌ها و منعکس‌کننده‌ی ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامتی آن‌ها می‌باشد به همین دلیل داشتن دامنه طبیعی پارامترهای خون ماهی می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی (*Biomarker*) مورداستفاده قرار گیرد. کفال طلایی جمعیت چشمگیرتری را در سواحل خزر جنوبی تشکیل داده است. مطالعات پارامترهای خون‌شناسی این ماهی در شرایط پرورشی مختلف و تغییرات فصول می‌تواند بیانگر وضعیت سلامتی و زیستی این ماهی باشد. تغییرات میزان هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی (*M.C.V*)، هموگلوبین داخل گلبولی (*M.C.H*) و غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (*M.C.H.C*) نشانگرهای زیستی مهمی است که در تحقیقات مختلف بیانگر وضعیت زیستی این ماهی بوده است. کفال ماهیان منطقه میان قلعه در فصل زمستان غلظت *RBC*، *HB*، *MCV* و *MCH* در بالاترین حد خود و *MCHC*، *WBC* و لنفوست در پایین‌ترین حد قرار دارند. نتایج این مطالعه نشان داد که شاخص‌های خونی ماهی کفال طلایی در فصل‌های مختلف در دو منطقه خلیج گرگان و میان قلعه دارای نوسان بوده، می‌توان به‌عنوان شاخص سلامت ماهی در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: نشانگرهای زیستی، فعالیت‌های زیستی، کفال ماهی طلایی، دریا خزر.

مقدمه:

جمعیت کفال ماهیان دریای خزر شامل دو گونه کفال طلایی (*Liza aurata*) و کفال پوزه‌باریک (*Liza saliens*) می‌باشد. این دو گونه در اصل جز ماهیان بومی دریای خزر نبوده‌اند، ماهی کفال طلایی در این خانواده قرار دارد و به دلیل وجود پلک چربی توسعه‌یافته، آن را در جنس *Liza* قرار داده‌اند *[12]*. کفال طلایی بین سال‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۳۴ در رهاسازی حدود ۲ میلیون بچه ماهی ۱ تا ۲ ساله این خانواده از دریای سیاه به دریای مازندران معرفی شد*[6]* و در کمتر از ۱۰ سال در تمام نواحی دریای خزر گسترش یافت، اما این‌گونه بیشتر نواحی جنوب دریای مازندران (سواحل ایرانی) را برگزیده است *[12]*. کفال طلایی جمعیت چشمگیرتری را در سواحل خزر جنوبی تشکیل داد *[2]*.

www.SID.ir

Archive of SID

در دنیای امروز دانش خون‌شناسی به‌عنوان یکی از روش‌های دست‌یابی به وضعیت فیزیولوژیک مناسب در ماهیان (استرس، دست‌کاری‌های انسانی، شرایط زیست‌محیطی و غیره) به اثبات رسیده است. بررسی کامل خون از مهم‌ترین شاخص‌های این علم می‌باشد که به مطالعه کمی یاخته‌های خونی ازجمله تعداد کل یاخته‌های قرمز و سفید، شمارش افتراقی یاخته‌های سفید (لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت) درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین می‌پردازد *[11]*. با توجه به اینکه پارامترهای خونی شرایط نامطلوب محیطی را برای ماهیان سریع‌تر از فاکتورهای دیگر نشان می‌دهد تا حد زیادی برای تعیین وضعیت سلامت و نظارت بر پاسخ‌های استرسی ماهیان برای پیش‌بینی سازگاری‌های فیزیولوژیکی آن‌ها استفاده می‌شود *[1]*.

به‌طورکلی محققین معتقد هستند که فاکتورهای خونی ماهیان در گونه‌های مختلف متفاوت و ارتباط زیادی با شرایط محیطی دارند، بنابراین برای هرگونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها تعریف‌شده است. نتایج مطالعات صورت گرفته بر روی گونه‌های مختلف ماهی نشان می‌دهد که فصل و درجه حرارت، گونه، میزان تحرک ماهی، میزان اکسیژن و پی اچ آب ازجمله عوامل مؤثر بر پارامترهای خون در ماهی می‌باشد *[9]*.

نتایج مطالعات صورت گرفته بر روی گونه‌های مختلف ماهی نشان می‌دهد که فصل، درجه حرارت، گونه، میزان تحرک ماهی، میزان اکسیژن و پی‌اچ آب ازجمله عوامل مؤثر بر پارامترهای خون در ماهی می‌باشد *[9]*. به‌طوری کلی محققین معتقد هستند که فاکتورهای خونی ماهیان در گونه‌های مختلف متفاوت و ارتباط زیادی با شرایط محیطی دارند، بنابراین باید برای هرگونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. اکولوژی ماهی روی فاکتورهای خونی تأثیر می‌گذارد *[3]*.

مواد و روش:

در هر بار نمونه‌برداری ۱۵ قطعه ماهی کفال طلایی از دو منطقه خلیج گرگان و دریای میان قلعه در فصول پائیز و زمستان به‌طور جداگانه نمونه‌برداری شده، ابتدا در عصاره گل میخک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شده و سپس از ساقه دمی آن‌ها با استفاده از سرنگ استریل، نمونه‌های خونی تهیه‌شده و به درون لوله‌های ضد انعقاد مخصوص ریخته شده و به آزمایشگاه هماتولوژی منتقل گردید، بلافاصله فاکتورهای خونی شامل گلبول قرمز و سفید به‌وسیله لام هموسیتومتر نئوبار، هموگلوبین به‌وسیله سیان مت هموگلوبین صورت گرفته و به‌وسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و با طول‌موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل *RA-1000* شرکت *Technicon*، ساخت آمریکا) و درصد هماتوکریت با سانتریفوژ میکرو هماتوکریت اندازه‌گیری شد *[8]*. به کمک نتایج به‌دست‌آمده شاخص‌های گلبول قرمز (*MCHC*،*MCH*،*MCV*) به‌صورت زیر محاسبه شد *[14]*.

$$MCV = (Hct \times 10)/RBC\ (fL)$$
$$MCH = (Hb \times 10)/RBC\ (pg)$$
$$MCH\ C = (MCH/MCV) \times 100\ (g/Dl)$$

شمارش تفریقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش خون و رنگ‌آمیزی با گیمسا به شمارش یک‌صد گلبول سفید وتعیین درصد هریک از گلبول‌های سفید تعیین گردید *[13]*.

نتایج و بحث:

خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد *[5]*. تفاوت پارامترهای خونی در گونه‌های مختلف می‌تواند در اثر

www.SID.ir

Archive of SID

عوامل خارجی نظیر فصل، درجه حرارت، *PH*، شرایط زیست‌محیطی، غذا استرس، عوامل بیماری‌زا، تأثیر فلزات سنگین، میزان اکسیژن، دوره‌های نوری باشد *[7]*. با افزایش سن میزان *RBC*، شاخص‌های گلبول قرمز، *Hct*، *Hb*، افزایش می‌یابد *[10]*. ارتباط با شوری و میزان هماتوکریت، در برخی از ماهیان اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد که این وضعیت را به علت عدم وابستگی تغییرات اسمزی با نیاز اکسیژنی ماهی است *[4]*.

جدول ۱- معیارهای خونی ماهی کفال طلایی در فصل‌های مختلف در دریای خزر و خلیج گرگان (*SD*±میانگین)
در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی‌دار بودن است. ($p<۰/۰۵$)

تیمارهای آزمایشی	پارامترهای خونی			
	کفال دریا پاییز	کفال خلیج پاییز	کفال دریا زمستان	کفال خلیج زمستان
RBC(10^3mm^3)	۱/۳۲±۰/۰۰ ^{b}	۱/۱۲±۰/۰۰ ^{c}	۱/۵۰±۰/۱۶ ^{a}	۱/۱۳±۰/۰۰ ^{c}
WBC(10^3mm^3)	۱۰۰۶۶/۶۶±۲۶۲/۴۶ ^{d}	۱۲۱۳۳/۳۳±۱۲۴/۷۲ ^{a}	۱۰۳۴۵/۰۰±۲/۴۴ ^{c}	۱۰۷۳۳/۳۳±۲۰۵/۴۸ ^{b}
HB (g.dl)	۸/۳۳±۰/۱۲ ^{b}	۷/۳۶±۰/۲۶ ^{c}	۹/۵۳±۰/۶۶ ^{a}	۷/۹۳±۰/۱۲ ^{b}
HTC(%)	۲۴/۶۳±۰/۱۲ ^{a}	۲۲/۳۰±۰/۱۶ ^{c}	۲۳/۵۷±۰/۴۱ ^{b}	۲۳/۵۶±۰/۴۱ ^{b}
MCV(μm^3)	۱۸۵/۹۶±۰/۶۷ ^{c}	۱۹۹/۱۱±۰/۶۴ ^{b}	۲۲۶/۸۳±۰/۵۲ ^{a}	۲۰۷/۳۸±۳/۱۸ ^{b}
MCH(pg)	۶۲/۹۱±۰/۸۴ ^{b}	۶۵/۷۷±۱/۵۲ ^{b}	۷۵/۴۳±۰/۳۲ ^{a}	۶۹/۸۱±۰/۹۶ ^{b}
MCHC(g.dl)	۳۳/۸۲±۰/۳۳ ^{a}	۳۳/۰۳±۰/۶۸ ^{a}	۲۱/۵۸±۱/۹۶ ^{b}	۳۳/۶۷±۰/۷۳ ^{a}
Lynphocytes(%)	۴/۶۷±۰/۴۷ ^{c}	۶/۳۳±۰/۴۷ ^{a}	۴/۶۶±۰/۴۷ ^{c}	۵/۳۳±۰/۴۷ ^{b}

گلبول قرمز: کفال ماهیان، در تعداد گلبول‌های قرمز در فصل پاییز و زمستان در دریا تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$). ولی در نمونه‌های خلیج در دو فصل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). بیشترین تعداد گلبول قرمز در کفال دریا (*10^3mm^3*) ۱/۵۰±۰/۱۶) در فصل زمستان و کمترین میزان نیز کفال خلیج (*10^3mm^3* ۱/۱۲±۰/۰۰) در فصل زمستان مشاهده گردید (جدول ۱).

گلبول سفید: تغییرات فصلی بر مقادیر گلبول سفید خون در دو فصل در دریا و خلیج تأثیر گذاشته و تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). بیشترین تعداد گلبول سفید در منطقه خلیج و فصل پاییز (۱۲۱۳۳/۳۳±۱۲۴/۷۲) و کمترین مقدار آن در کفال دریا و فصل پاییز (۱۰۰۶۶/۶۶±۲۶۲/۴۶) مشاهده شد.

هماتوکریت: نتایج حاصل از آنالیز شاخص هماتوکریت نشان در فصل زمستان در دو منطقه باهم تفاوت معنی‌داری ندارند ($p>۰/۰۵$)، درحالی‌که میزان این شاخص در فصل زمستان با کفال ماهیان دریا و خلیج در فصل پاییز تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$). همچنین درصد این شاخص در فصل پاییز در کفال ماهیان دریا و خلیج گرگان باهم تفاوت معنی‌داری دارند. بیشترین درصد هماتوکریت (۲۴/۶۳±۰/۱۲ درصد) فصل پاییز در منطقه دریا و کمترین میزان آن (۲۲/۳۰±۰/۱۶ درصد) در فصل پاییز در منطقه خلیج به دست آمد.

حجم متوسط گلبولی: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده مقدار حجم متوسط گلبولی در طی فصل‌های پاییز و زمستان در دریا ازنظر آماری باهم تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$). بیشترین مقدار *MCV* ۲۲۶/۸۳±۰/۵۲ *$\mu m3$* و در فصل زمستان و کمترین مقادیر این دو شاخص به ترتیب ۱۸۵/۹۶±۰/۶۷ *$\mu m3$* در فصل پاییز کفال ماهیان دریا می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

متوسط هموگلوبین گلبولی: میزان متوسط هموگلوبین گلبولی در کفال ماهیان دریا در فصل زمستان با فصل پاییز در هر خلیج در هر دو فصل و همچنین با کفال ماهیان دریا در فصل پاییز تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که سایر گروه‌های موردبررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان آن (pg ۰/۳۲±۷۵/۴۳) در دریا فصل زمستان به دست آمد.

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی: نتایج حاصل از شاخص *MCHC*، در ماهی کفال دریا در فصل زمستان با نمونه‌های خلیج در دو فصل و نمونه‌های دریا در فصل پاییز تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری کلی:

نتایج این مطالعه نشان داد که شاخص‌های خونی ماهی کفال طلایی در فصل‌های مختلف در دو منطقه خلیج گرگان و میان قلعه دارای نوسان بوده، می‌توان به‌عنوان شاخص سلامت ماهی در نظر گرفته شود. در بررسی تأثیرگذار فصل بر پارامترهای هماتولوژی کفال ماهی طلایی بایستی تمامی عوامل محیطی به‌صورت مجموعه در نظر گرفته شود. در مطالعات خون‌شناسی ماهیان برخلاف شرایط آزمایشگاهی، تعیین اثر یک پارامتر محیطی میسر نبوده و باید همه عوامل محیطی را مدنظر قرار دهیم.

منابع:

۱. پاداش برمچی، ز. ۱۳۸۷. بررسی اثرات تحت کشنده دیازینون بر برخی پارامترهای هماتولوژیک تاس ماهی ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و فنوت دریایی خرمشهر.

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

۳. سعیدی، ع.، کامکار،م.، پورغلام، ر.، حبیبی، ف.، لطفی نژاد،ح .و یوسفیان، م.، ۱۳۷۸ . مقایسه تعداد گلبول های سفید خون و شمارش افتراقی آن ها در ماهیان قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی،شماره ۴۴ ، صفحات ۱۳۱ تا ۱۳۳.

۴. عنایت غلامپور ط ، ایمانپور م.ر.، حسینی س.ع .و شعبانپور ب .1390 .تأثیر سطوح مختلف (Rutilus) شوری بر شاخصهای رشد، میزان بازماندگی، غذا گیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید .مجله زیست‌شناسی ایران جلد 24، شماره 4-548 539

5. *Ballarian, L., Dalloro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A., and Barbaro, A. 2004. Hematological parameters in Umbrina cirrosa (Teleostei, Sciaenidae): A comparison between diploid and triploid specimens. Comp. Biochem. Physiol. A., 138: 45-51.*
6. *Belyaeva, V. N., Kazancheev, E.N and Raspopov, V. M. 1989. Caspian Sea fauna commercial resources. House Nauka, Trans. in Engl. By: J. Holcik, Moscow. 33p.*
7. *Bielinska, I. 1987. Dielectric, haematological and biochemical studies of detergent toxicity in fish blood. Physics in Medicine and Biology, 32 (5): 623-35.*
8. *Dorafshan, S., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M., Mojazi Amiri, B., and Soltan Karimi, S. 2008. Effect of triploidy on the Caspian salmon (Salmo trutta Caspian) hematology. Fish physiol Biochem. 34: 195-200.*
9. *Houston, A. H. and De Wilde, M. A. 1969. Haematology and blood volume of thermally acclimated brook trout, Salvelinus fontinalis (Mitchill). Comp. Biochem. Physiol. 28: 877-885.*
10. *Hrubec, T.C., Smith, S.A., and Robertson. J.L. 2001. Age related chandes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (Morone chrysops x Moron saxatilis).Vet. Clin. Pathol. 38:8-15.*

www.SID.ir