مجله شیلات
سال اول، پیش‌شماره اول، خرداد ۸۶

تغییرات گلبول‌های سفید خون سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) آلوده به انگل *Clinostomum complanatum* در رودخانه شیرود

افسانه سارنگ[۱]، حبیب وهاب زاده رودسری[۱]، علی اصغر سعیدی[۲] و ابراهیم ناصری[۳]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گروه شیلات، [۲]پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، بخش بهداشت و بیماریهای ماهی، [۳]آموزشکده کشاورزی ساری

چکیده

Clinostomum complanatum انگل مشترک بین انسان و ماهی (*Zoonose*) است که به صورت موضعی در بافت‌های مختلف بدن طیف وسیعی از ماهیان استخوانی آب شیرین از جمله سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) به‌عنوان میزبان استقرار می‌یابد. این ماهی بومی آب‌های شیرین داخلی است و در رودخانه شیرود واقع در غرب استان مازندران نیز وجود دارد. در این تحقیق واکنش سیستم ایمنی سیاه ماهیان آلوده به انگل *Clinostomum complanatum* بصورت تغییرات درصد فراوانی گلبول‌های سفید در طول رودخانه شیرود در دو ایستگاه شماره یک واقع در ورودی رودخانه به دریای‌خزر و شماره دو در بالادست آن، در دو فصل زمستان ۱۳۸٤ و بهار ۱۳۸۵ با بررسی ۱۲۰ عدد ماهی صیدشده توسط تور پرتابی انجام شد. نمونه‌ها پس از بیومتری، از طریق قطع ساقه‌دمی خونگیری شدند و آلودگی به انگل ذکرشده در بافت‌ها واندام‌ها مورد بررسی قرار گرفت. شمارش گلبول‌های سفید در لام هموسیتومتر و همچنین شمارش افتراقی این گلبولها در ماهیان آلوده به انگل مذکور و ماهیان غیرآلوده به تفکیک فصل و ایستگاه انجام شد. آنالیز آماری شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نشان داد ماهیان آلوده به انگل و غیرآلوده ایستگاه اول از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت اختلاف معنی‌دار آماری داشتند ($P<۰/۰۵$) و همچنین در بین ماهیان آلوده و غیرآلوده ایستگاه دوم از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P<۰/۰۵$). بررسی‌های انگلی نشان داد که در ماهیان ماده ایستگاه دوم در فصل بهار آلودگی به انگل مذکور بیشتر بود. همچنین بیشترین آلودگی به متاسرکر انگل *Clinostomum complanatum* در آبشش‌ها، زیر سرپوش آبششی، حلق، عضلات، زیرپوست، داخل عضله در اطراف باله‌ها، زیر حدقه چشم، دهان و محوطه بطنی دیده شد. متاسرکر انگل در داخل کیست به رنگهای زرد و خاکستری و سیاه مشاهده گردید. شدت آلودگی و متوسط گلبول‌های سفید در ماهیان ماده ایستگاه دوم (بالا دست رودخانه) بیشتر از ایستگاه اول و در فصل بهار بیشتر از فصل زمستان بود که علت آن می‌تواند شوری بالاتر آب در ایستگاه اول و کاهش حلزون های میزبان واسط اولیه و حضور کمتر جنس نر طی تکامل غدد جنسی باشد.

واژه‌های کلیدی: دریای‌خزر، رودخانه شیرود، گلبول سفید، *Capoeta capoeta gracilis*، *Clinostomum complanatum*

مقدمه

گلبولهای سفید ماهیان در عمل بیگانه‌خواری و پاسخ‌های ایمنی بدن نسبت به عوامل انگلی، باکتریایی، ویروسی و کمک به ترمیم بافت‌های ضایعه‌دیده نقش مهمی را ایفا می‌کنند. اندازه‌گیری گلبول‌های سفید در تعیین وضعیت عمومی ماهی کاربرد فراوانی می‌تواند

داشته باشد. در این رابطه می‌توان به بررسی و مقایسه سلول‌های خونی سفید و شمارش افتراقی آنها در ماهیان قره‌برون و دراکول (۵) و تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی ازون‌برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (٦) اشاره نمود. در این بین انگل *کلینوستوموم کمپلاناتوم* یک ترماتود دیژن است که باعث ایجاد کیست‌های زردرنگ (پیله زرد) در بافت‌های بدن ماهیان شده و آنها را از نظر مصرف انسانی نامناسب و ناخوشایند می‌سازد به‌طوری‌که اگر انسان به طور تصادفی ماهی آلوده خام یا نیم‌پخته را مصرف کند، باعث ایجاد عفونت‌های حلقی- دهانی در انسان می‌شود (۱۱، ۱۵ و ۲۰). موارد آلودگی این انگل از ژاپن و کره گزارش شده است (۱۱، ۱۳ و ١٤).

همچنین آلودگی سیاه ماهی رودخانه شیرود و سردآب رود به متاسرکر انگل در پوست، عضلات و حفره چشم این ماهی گزارش شده است (۷ و ۹). سیاه ماهی از جمله ماهیان اصلی بومی رودخانه شیرود در غرب استان مازندران است که در فصل بهار توسط صیادان محلی به عنوان ماهی کولی صید شده و به فروش می‌رسد. در این تحقیق تغییرات گلبولهای سفید خون این ماهی در شرایط آلودگی به انگل کلینوستوموم کمپلاناتوم در رودخانه شیرود بررسی شد.

مواد و روشها

در دو فصل زمستان ١٣٨٤ و بهار ۱۳۸۵ و در دو ایستگاه ورودی رودخانه شیرود به دریای خزر (ایستگاه اول) و بالادست آن (ایستگاه‌دوم) که در اواسط هر فصل از هر ایستگاه ۳۰ عدد سیاه‌ماهی، در مجموع ٦٠ عدد و در کل دو فصل ۱۲۰ عدد سیاه‌ماهی نمونه‌برداری شد و سپس از آنها خونگیری به عمل آمد. برای این منظور ماهی‌ها ابتدا بیومتری شدند و سپس از طریق قطع ساقه دمی خونگیری انجام گرفت. آنگاه خون به ویالی که در آن یک قطره هپارین وجود داشت ریخته شد و برای شمارش گلبول های سفید از پیپت ملانژور سفید و ماده رقیق‌کننده ریس با رقت $\frac{1}{20}$ و لام هموسیتومتر استفاده شد. پیپت ملانژور سفید را تا درجه ۰/۵ از خون و تا درجه ۱۱ از محلول رقیق‌کننده ریس پرکرده که بدین ترتیب رقت $\frac{1}{20}$ به‌دست می‌آید. برای محاسبه گلبولهای سفید، تعداد گلبولها در ٤ مربع بزرگ ١٦ تایی در ٤ کنج لام هموسیتومتر شمارش شده و در عدد ۵۰ ضرب می‌شود (۱۸).

جهت شمارش افتراقی گلبولهای سفید نیز یک قطره خون را روی لام قرار داده و گسترش خونی تهیه گردید و برای رنگ‌آمیزی از محلول گیمسا با رقت ۰/۱ استفاده شد و تشخیص و شمارش گلبولهای سفید از روی لام رنگ شده انجام گرفت.

برای جستجوی انگل بافت‌هایی مثل آبشش‌ها، زیر سرپوش آبششی، حلق، عضلات، زیر پوست، داخل عضله در اطراف باله‌ها، زیر حدقه چشم، دهان و محوطه بطنی مورد بررسی قرار گرفت و کیست‌ها و تعداد متاسرکرها به تفکیک بافت‌های آلوده شمارش شدند و تعدادی از آنها به وسیله سرم فیزیولوژی شسته شد و حداقل به مدت دو هفته در فرمالین ۱۰ درصد بین دو لام فیکس و سپس با رنگ کارمن آلوم رنگ شده و تثبیت گردید (١٦). مراحل رنگ‌آمیزی انگل به‌ترتیب عبارتنداز:

۱) فیکس کردن نمونه‌ها (فرمالین ۱۰درصد)
۲) شستشو (سرم فیزیولوژی)
۳) رنگ‌آمیزی (کارمن آلوم)
٤) رنگبری (اسید الکل ۱درصد)
۵) آبگیری (الکل‌های ۵۰-٦٠-۷۰-۸۰-۹۰ و ۹٦ درجه)
٦) شفاف‌سازی (الکل گزیلل و گزیلل خالص)
۷) مونته کردن (چسب کانادا بالزام)

برای محاسبات آماری از برنامه‌های Excel و SPSS استفاده شد و مقدار میانگین، انحراف معیار و... هریک از فاکتورها مشخص شد.

نتایج

نتایج بیومتری ماهیان مورد آزمایش در جدول ۱ بیان شده است. با بررسی انگل‌شناسی بر روی ۱۲۰ عددسیاه ماهی صید شده رودخانه شیرود، ۵۵ عدد ماهی آلوده به انگل *Clinostomum complanatum* بودند. طی بررسی‌های انجام شده کیست انگل از ناحیه آبشش‌ها، زیرسرپوش آبششی، بین کمان‌های آبششی، حلق، عضلات، زیرپوست، داخل عضله در اطراف باله‌ها، زیر حدقه چشم، دهان و محوطه بطنی جداسازی گردید. نتایج نشان داد که در فصل زمستان، در ایستگاه اول ۲۳/۳۳ درصد از ماهیان ماده و ۱۶/۶۶ درصد از ماهیان نر و در ایستگاه دوم ۳۳/۳۳ درصد از ماهیان ماده و ۲۰ درصد از ماهیان نر آلوده به انگل بوده‌اند. در فصل بهار، در ایستگاه اول ۴۰ درصد از ماهیان ماده و ۳/۳۳ درصد از ماهیان نر و در ایستگاه دوم ۴۶/۶۶ درصد از ماهیان ماده آلوده به انگل بوده و هیچ ماهی نری در ایستگاه دوم صید نشد.

جدول ۱- نتایج بیومتری و تعیین جنسیت سیاه ماهیان مورد آزمایش

فصل	ایستگاه	میانگین طول (cm)	میانگین وزن (gr)	میانگین سن (حداقل ـ حداکثر)	جنسیت
زمستان ۱۳۸۴	۱	۱۲/۹۸ ± ۱/۸۹	۲۴/۴۰ ± ۱۳/۸۰	۲/۲۰ ± ۰/۵۵ (۱-۴)	۱۰ نر ۲۰ ماده
	۲	۱۳/۲۸ ± ۱/۹۶	۲۶/۱۷ ± ۱۳/۳۰	۲/۱۳ ± ۰/۶۳ (۱-۳)	۹ نر ۲۱ ماده
بهار ۱۳۸۵	۱	۱۵/۳۱ ± ۲/۱۵	۴۴/۰۸ ± ۲۴/۱۸	۲/۷۷ ± ۰/۶۸ (۲-۴)	۶ نر ۲۴ ماده
	۲	۱۵/۳۲ ± ۲/۱۷	۳۹/۶۱ ± ۱۸/۳۶	۲/۸۳ ± ۰/۷۵ (۲-۵)	۰ نر ۳۰ ماده
کل		۱۴/۲۲ ± ۲/۳۰	۳۳/۵۶ ± ۱۹/۶۵	۲/۴۸ ± ۰/۷۲ (۱-۵)	۲۵ نر ۹۵ ماده

میانگین شدت آلودگی، میانگین فراوانی و دامنه فراوانی انگل در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- میانگین شدت آلودگی، میانگین فراوانی و دامنه فراوانی انگل *Clinostomum complanatum*

فصل	ایستگاه	میانگین شدت آلودگی	میانگین فراوانی انگل در ماهیان آلوده	دامنه فراوانی
زمستان ۱۳۸۴	۱	۱/۱ ± ۰/۷۲	۱۳/۲۰ ± ۸/۶۶	(۱-۴۹)
	۲	۰/۵۴ ± ۰/۴۷	۸/۶۶ ± ۷/۵۶	(۱-۳۲)
بهار ۱۳۸۵	۱	۱/۰۳ ± ۰/۹۳	۱۳/۴۳ ± ۱۲/۱۵	(۱-۴۳)
	۲	۲/۹۵ ± ۱/۶۴	۴۱/۲۷ ± ۲۳	(۱-۱۴۸)

نتایج مربوط به شمارش گلبولهای سفید در ماهیان آلوده به انگل و ماهیان غیرآلوده در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳- میانگین گلبولهای سفید در ماهیان آلوده به انگل و ماهیان غیرآلوده به تفکیک ایستگاه و فصل

فصل	ایستگاه	میانگین گلبولهای سفید در ماهیان آلوده به انگل (mm^3)	میانگین گلبولهای سفید در ماهیان غیرآلوده (mm^3)
زمستان ۱۳۸٤	۱	۱۱۸۳۳ /۳۳ ± ۹۵۳ ۰/٦٥	۱۷۲۷۷/۷۸ ± ۱۳۹۲۸/٦۲
	۲	۱٦٦۲٥/۰۰ ± ٤۱۱۷/۰٤	۱۲٥۲۱/٤۳ ± ٥٥٦۰/۰٥
بهار ۱۳۸٥	۱	۲۸۳۸٤/٦۲ ± ۱۰٤۱٤/٦٤	۲٦۷٦٤/۷۱ ± ۱۰۱٥۸/۳۱
	۲	۳۳۷۱٤/۲۹ ± ۱۲۸۸۰/٦۹	۳۱۰۹۳/۷٥ ± ۱۱۰۹۸/۳۸

مطابق با نتایج به دست آمده تعداد گلبول های سفید در ماهیان آلوده به انگل *Clinostomum complanatum* در ایستگاه دوم و در فصل بهار بیشتر بوده است.

نتایج شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در ایستگاه اول نشان داد که میانگین تعداد لنفوسیت در ماهیان غیرآلوده ۹/٤۸±۷۹/۳۷ درصد و در ماهیان آلوده ۷/٥٥±۸٥/۰٤ درصد، تعداد نوتروفیل در ماهیان غیرآلوده ۷/۷۳±۱۳/۹۷ درصد و در ماهیان آلوده ٥/٤۱±۱۰ درصد،تعدادمونوسیت در ماهیان غیرآلوده ۲/۷۳±٥/۹٤ درصد و در ماهیان آلوده ۲/۲٤±٤/٦ درصد، تعداد ائوزینوفیل در ماهیان غیرآلوده ۰/۸۱٦±۱/٦۷ درصد و در ماهیان آلوده ۰/٤٦۳±۱/۲٥ درصد بود. که با توجه به آزمون آماری، در بین ماهیان آلوده و غیرآلوده ایستگاه اول از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<۰/۰٥$). همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در ایستگاه دوم نشان داد که میانگین تعداد لنفوسیت ماهیان غیرآلوده ٦/۹۸±۸۲/۲۷ درصد و در ماهیان آلوده ۷/٥٥±۷۸/۱ درصد، تعداد نوتروفیل در ماهیان غیرآلوده ٤/۸ ± ۱۱/٤ درصد و در ماهیان آلوده ٥/٤۱± ۱٤/۸ درصد ، تعداد مونوسیت در ماهیان غیرآلوده ۲/٥٦±٦/۱ درصد و در ماهیان آلوده ۲/۹۳± ٦/٤۷ درصد، تعداد ائوزینوفیل ماهیان غیرآلوده ۰±۱ درصد و در ماهیان آلوده ۰/۸۷٦±۱/۹ درصد بود. با توجه به آزمون آماری، در بین ماهیان آلوده و غیرآلوده ایستگاه دوم از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<۰/۰٥$).

بحث

انگل *Clinostomum complanatum* یک ترماتود دیژن است و در چرخه زندگی آن حلزون‌ها به عنوان میزبان واسط اول نقش دارند و ماهیان به عنوان میزبان واسط دوم حاوی متاسرکر در عضلات، حفره آبششی و حفره بطنی هستند (۲).

آلودگی سیاه ماهی رودخانه شیرود به متاسرکر انگل کلینوستوموم کمپلاناتوم در پوست، عضلات و حفره چشم این ماهی گزارش شده است (۷ و ۹). روحی امینجان (۱۳۸۲) ۷ جایگاه برای انگل کلینوستوموم کمپلاناتوم ذکر نمود که شامل آبشش، عضلات، باله، پوست، حفرات آبششی، قلب و روده می‌باشد. در تحقیقات حاضر، تعداد جایگاه‌های جداسازی انگل از بافتهای ماهی ۱۰ جایگاه بوده که نشان می دهد این انگل به خیلی از بافتها تمایل دارد. همچنین درصد آلودگی سیاه ماهی به انگل *Clinostomum complanatum* در جنسیت‌های مختلف متفاوت است. بطوریکه بیشترین درصد آلودگی در سیاه ماهی ماده و در ایستگاه دوم و فصل بهار دیده شده است که علت آن می‌تواند احتمالاً وجود حلزون‌های میزبان واسط باشد. همچنین درصد آلودگی بیشتر ماهیان ماده احتمالاً بدلیل حضور بیشتر این ماهیان در رودخانه طی مراحل تکامل غدد جنسی می‌باشد.

هرچند جنسیت، ایستگاه و فصل نمونه‌برداری نیز در شدت و درصد آلودگی ماهیان به انگل مذکور مؤثر بوده است و افزایش تعداد گلبول‌های سفید را به همراه داشته است ولی مطابق نتایج آماری ارتباط معنی‌داری بین تعداد گلبول‌های سفید و آلودگی به این انگل مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$). در حالی که شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در ماهیان آلوده به انگل و غیرآلوده نشان داد در ایستگاه اول از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت و در ایستگاه دوم از نظر میانگین تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P<۰/۰۵$).

با توجه به اینکه لنفوسیت‌ها از سلول‌های مهم ایمنی می‌باشند و تعدادشان در ماهیان از سایر سلولهای خونی، به جز گلبولهای قرمز بیشتر است ولی تعداد آنها در گونه‌های مختلف، در حالات مختلف و سنین متفاوت، فرق می‌کند. علاوه بر این در هنگام بروز بیماری‌ها و مهاجرت نیز تغییرات فاحشی دارند (۱۷). وظیفه نوتروفیل‌ها دفاع علیه عفونت‌های باکتریایی است. این سلول‌ها قادر به حرکت به طرف نواحی عفونی هستند. در اثر تحریکات تورمی این سلولها به جریان خون مهاجرت و به نواحی صدمه دیده تورمی نفوذ می‌کنند. مونوسیت‌های ماهیان مانند پستانداران عمل ماکروفاژی دارند. مهاجرت مونوسیت- ماکروفاژ به دنبال مهاجرت گرانولوسیت‌ها در بیماریهای آماسی رخ می‌دهد و بالاخره ائوزینوفیل‌ها در پستانداران عمل حمله به انگل‌ها را انجام می‌دهند که در ماهی‌ها هم احتمالاً چنین عملی را انجام می‌دهند(۱). از آنجا که لارو انگل *Clinostomum complanatum* به صورت موضعی در داخل کیستهای زردرنگ که به آن پیله زرد گفته می‌شود در بافت‌های مختلف مستقر می‌گردد و از طرفی انگلهایی که به صورت موضعی مستقر می‌شوند با تغییرات هماتولوژی به ویژه لکوسیتوز از نوع ائوزینوفیلیک ارتباط دارند (۸) و این امر به جهت تحریک مستمر بافت‌های آلوده است که تغییرات گلبولهای سفید را به دنبال دارد بنابراین ضرورت بررسی و تحقیق در زمینه تغییرات گلبولهای سفید (لکوسیتها) که در عمل بیگانه خواری و پاسخ‌های ایمنی بدن نسبت به عوامل انگلی، باکتریایی و ویروسی نقش مهمی دارند آشکار می‌گردد.

از جمله عوامل مؤثر در تعداد گلبولهای سفید می‌توان به عواملی چون بیماریهای عفونی، التهاب، استرس (۱۹)، وضعیت تغذیه (۱۰)، سن، جنس و تغییر در میزان هورمون‌ها را اشاره کرد. بنابراین عوامل بیماری‌زا می‌توانند باعث تغییر فاکتورهای خونی شوند، بطوریکه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مبتلا به کرم *Proteocephalus neglectus*، تغییرات زیادی در تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، میزان هماتوکریت و هموگلوبین دیده شد (۱۲).

میزان ائوزینوفیل‌ها در عفونت‌های انگلی افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که در یک بررسی انجام شده بر روی ماهیان خاویاری توسط سعیدی (۱۳۷۵) ائوزینوفیلی ۸۰ درصد گزارش شده بود که اینها آلوده به کرم *Spaerrocephala ucullanus caspicus* بوده‌اند(۳). در تحقیق حاضر نیز در ایستگاه دوم فصل بهار که شدت آلودگی و فراوانی انگل زیادتر است این افزایش تعداد ائوزینوفیل‌ها مشاهده می‌شود که به نظر می‌رسد به آلودگی انگلی مذکور برگردد. به‌علاوه تغییرات خونی مشاهده شده را می‌توان به آلودگی‌های انگلی یا باکتریایی و یا ویروسی دیگری که ممکن است ماهی مذکور را در طی زندگی در رودخانه آلوده ساخته باشد نسبت داد یا می‌توان به علت شرایط تولیدمثلی و یا تأثیرات هورمونی یا محیطی باشد که در این تحقیق مدنظر نبوده است.

از آن جا که این موضوع، در ماهیان وحشی به علت آنکه کمتر اهمیت شیلاتی دارند و یا در آبهای آزاد زندگی می‌کنند، کمتر و یا اصلاً مورد مطالعه قرار نگرفته و بیشترین مطالعات خونشناسی به ماهیان پرورشی مرتبط می‌باشد. بنابراین اهمیت و ضرورت بررسی‌های بیشتر در ارتباط با ماهیان ساکن در شرایط طبیعی رودخانه و دریا را آشکار می‌سازد.

منابع

۱- تاکاشیما، ا.، و هیبایا، ت.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی، (ترجمه) پوستی، ا.، و صدیق مروستی، س.ع.، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۳۷ صفحه.

۲- جلالی جعفری، ب.، ۱۳۷۷. انگل‌ها و بیماری‌های انگلی ماهیان آب شیرین ایران، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان- اداره کل آموزش و ترویج، ٥٦٤ صفحه.

۳- جمالزاده، ح.، ۱۳۸۰. بررسی فاکتورهای خونی آزاد ماهی دریای خزر. پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد واحد تهران شمال. ۱۱۵ صفحه.

٤- روحی امینجان، ا.، ۱۳۸۲. بررسی اکولوژیک انگل‌های سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) در رودخانه شیرود. پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد بیوسیستماتیک جانوری از دانشکده علوم دانشگاه تهران. ۱٤۷ صفحه.

۵- سعیدی، ع.، کامکار، م.، پورغلام، ر.، حبیبی، ف.، لطفی نژاد، ح.، و یوسفیان، م.، ۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول‌های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ٤٤، صفحات ۱۳۱ تا ۱۳۳.

٦- شاهسونی، د.، وثوقی، غ.، خضرائی‌نیا، پ.، ۱۳۷۷. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای‌خزر. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ٤٤، صفحات ۱۲٦ تا ۱۳۰.

۷- شمسی، ش.، پورغلام، ر.، دیلمی‌اصل، ع.، ۱۳۷٦. بررسی آلودگی به انگل *Clinostomum complanatum* در ماهیان رودخانه شیرود، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲، سال ششم، صفحه ٦۲-۵۳.

۸- طبرستانی، م.، ۱۳۷۸. خون شناسی پزشکی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۹۵۳صفحه.

۹- ملک، م.، ۱۳۷۲. بررسی آلودگی سیاه ماهی (*Capoeta capoeta*) به *Clinostomum complanatum* و سیکل زندگی آن، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، صفحه ٤۵-٦۵.

10.Bullu's, P.A., 1993. Clinical pathology of temperate freshwater and estuarine fishes (in: Fish Medicine, Stoskopf. Pp: 232-239).

11.Chung, DI., Kong, HH., Moon, CH., 1995. Demonstration of the second intermediate hosts of *Clinostomum complanatum* in Korea. Korean Journal of Parasitology, 33(4) : 305-12.

12.Engelhardt, A., Mirle, C., Petermann, H., 1989. Hematological studies in to rainbow trout affected by *Proteocephalus neglectus*, Veterinaermed, 44 (11): 390-393 .

13.Hiral, H., Ooiso, H., Kifune, T., Kiyato, T., Sakaguchi, Y., 1987. *Clinostomum complanatum* infection in posterior wall of pharynx of human. Jap J Parasitol, 36 (3): 142-4.

14.Isobe, A., Kinoshita, S., Hojo, N., Fukushima, T., Shiwaku, K., Yamane, Y., 1994. The 12th human case of *Clinostomum* sp. infection in Japan. Jap J Parasitol 43 (3): 193-8.

15.Kitagawa, N., Oda, M., Totoki, T., Washizaki, S., Oda, M. and Kifune, T., 2003. Lidocaine spray used to capture a live *clinostomum* parasite causing laryngitis. Am. J. Otolaryngol., 24(5): 341-343.

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

17.Pickering, A. D., Pottinger, T. G., 1987. Lymphocytopenia and interrenal activity during sexual maturation in the brown trout, Fish Biology, 30: 41-50.

18.Simmons, A., 1997. Hematology, Simmons, Butterworth – Heinemann,pp: 507.

19.Stoskopf, M. K., 1993a. Clinical pathology. Saunders Company. Pp: 113-131, Stoskopf, M.K., 1993b. Fish Medicine, Saunders Company. Page 882.

20.Szalai, AJ., Dick, TA., 1988. Hilminths of stocked rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with reference to *Clinostomum complanatum*. J wildl Disease, 24 (3): 456-60.

Leukocytes changes of infected *Capoeta capoeta gracillis* to *Clinostomum complanatum* in Shirood River

A. Sarang[1], H.Vahabzadeh Roodsari[1], A.S. Saeedi[2] and E. Naseri[3]

[1]Dept., of Fisheries, Islamic Azad University, Lahijan Branch, [2]Dept., of fish health and disease, Ecological Research center of Caspian Sea, Sari, [3]Sari Agricultural highschool, Iran

Abstract

Clinostomum complanatum is a common parasite between human and fish (zoonose) .It can be locally found in different tissues of the fish. A large spectrum of freshwater bony fish; including *Capoeta capoeta gracilis,* harbour this parasite. It`s an endemic fish in freshwater such as Shirood River in the western part of Mazandaran province. In this study, 120 fish were caught using cast net along Shirood River in two stations which is situated at the River entrance to the Caspian Sea and the second was in the upper part, during two seasons; winter and spring. The samples were tested, the reaction of immunity system in infected fishes to *Clinostomum complanatum* examined for changes of abundance perecentage of leukocytes. After biometrical measurments, samples were bleeded through cutting of peduncle and the infection to *Clinostomum complanatum*, in tissues and organs studied. White blood cells counts and differential cell count were done for infected and uninfected fish in the seasons and the stations.Statistical analysis of differential white blood cell count showed that in the first station, mean of lymphocyte, neutrophil and monocyte had significant difference between infected and uninfected fish (P<0.05). Mean of lymphocyte, neutrophil and eosinophil had significant difference between infected and uninfected fish in second station (P<0.05). The results showed that infection to the parasite exceeded in females in second station in Spring.The highest infection rate of *Clinostomum complanatum* metacercaria was observed in gills, under the opercolum, pharynx, muscles, under the skin, inside the muscle around fins, under the pupil of the eye, in the mouth and abdominal cavity. The metacercaria were observed inside the cysts in yellow, gray and black colors. Contamination intensity and mean of white blood cells, in females in second station in spring exceeded the first station and during the winter which may have caused by high water salinity in first station and decrease of first intermediate host snails and male lesser attendance during gonadal maturation.

Keywords: Caspian Sea, Shirood River, Lenkoran Khramulya, *Capoeta capoeta gracilis*, Clinostomum complanatum, Leukocytes