نامه فیزیولوژی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۲۱، جلد ۶، شماره ۲،بهار۹۲، صفحه ۳۵ تا ۴۰

تعیین و بررسی مقایسه‌ای برخی از فاکتورهای خونی و آنزیمی سرم خون ماهیان کپور، فیتوفاک و آمور

مجید محمد نژاد شموشکی

دانشگاه آزاد اسلامی،واحد بندرگز، استادیار گروه شیلات، بندرگز. ایران.majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir

تاریخ دریافت:۹۱/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش:۹۱/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: خصوصیات هماتولوژی در ماهیان می‌تواند شاخصی از شرایط طبیعی و غیر طبیعی محیط بوده و در گونه‌های مختلف ماهیان به عنوان یک شاخص مهم ماهی شناسی مد نظر قرار گیرد. هدف از این تحقیق، تعیین و بررسی مقایسه‌ای برخی فاکتورهای خون شناسی ماهیان کپور، فیتوفاک و آمور است.

روش کار:آزمایش، با نمونه‌گیری از ۱۰ قطعه ماهی از هر گروه از ماهیان انجام پذیرفت. خون‌گیری از ماهیان با استفاده از قطع ورید ساقه دمی انجام گرفته و پس از جمع آوری خون‌ها در ظروف مخصوص مقادیر هر کدام از شاخص‌های هماتولوژی و آنزیمی خون تعیین گردید.

یافته‌ها:نتایج حاصل از این بررسی در مورد فاکتورهای هماتولوژی نشان داد که اختلاف معنی داری در تعداد گلبول‌های قرمز و سفید(لنفوسیت و نوتروفیل)، هموگلوبین، هماتوکریت، خون ماهیان کپور، فیتوفاک و آمور مشاهده گردید($p<0/05$). اما هیچ اختلاف معنی داری در میزان حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (MCH)، گلبول‌های قرمز، مونوسیت و ائوزینوفیل خون ماهیان مورد بررسی وجود نداشت. نتایج تحقیق نشان داد که در بین تیمارهای مختلف از لحاظ میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز اختلاف معنی داری وجود دارد($p<0/05$). اما هیچگونه اختلاف معنی داری در میزان آنزیم آسپارات آمینوترانسفرازدر سرم خون ماهیان کپوز، فیتوفاک و آمور وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که بین فاکتورهای هماتولوژی و آنزیمی ماهیان یک خانواده تفاوت وجود دارد.

واژه‌های کلیدی:فاکتورهای خونی، آنزیمی، کپور، فیتوفاک، آمور.

مقدمه

در سال۱۸۰۰ میلادی برای اولین بار مطالعات هماتولوژی بر روی سلول‌های خونی خزندگان، ماهیان و پرندگان انجام پذیرفت و ازسال۱۹۷۰تحول عظیمی در مطالعات خون شناسی ماهیان صورت گرفت (۱). ویژگی‌های خون شناسی ماهیان، یکی از مهم‌ترین شواهد مراحل فیزیولوژیک آن‌ها و منعکس کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامتی آن‌ها است. به همین دلیل، داشتن دامنه طبیعی پارامترهای خونی یک ماهی می‌تواند به عنوان شاخص زیستی(Biomarker) مورد استفاده قرار گیرد (۱۴).

یکی از روش‌های بررسی خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان، تعیین فاکتورهای خونی است که نسبت به روش‌های دیگر، ساده‌تر وکم هزینه‌تر است. باتوجه به این که هرگونه ماهی، الگوی خونی ویژه‌ای دارد، بررسی جداگانه ماهیان می‌تواند اطلاعات دقیقی از خصوصیات فیزیولوژیک آن گونه خاص را مشخص نماید. جنبه دیگر این تحقیقات آن است که این پارامترها می‌توانند با تغییرات زیست محیطی، دستخوش تغییر شوند(۱۰). تغییرات خصوصیات خون ماهیان در پاسخ به شرایط زیست محیطی، پاسخی است به

استرس‌های محیطی که می‌تواند به عنوان یک شاخص مهم زیستی مدنظر قرار گیرد(۹). خون به عنوان یک بافت حیاتی سیال، شاخصی مهم از وضعیت سلامتی، اثرات محیط زیست و سیکل‌های رشد و تولید مثلی است(۲). خصوصیات هماتولوژی درماهیان می‌تواند شاخصی ازشرایط طبیعی و غیرطبیعی محیط بوده و در گونه‌های مختلف ماهیان به عنوان یک شاخص مهم ماهی‌شناسی مدنظرقرارگیرد(۱۲). خون به عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن است که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک، ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌شوند (۳). چنان‌چه میزان طبیعی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون و دامنه تغییرات آن، در انواع ماهیان در شرایط طبیعی یا فیزیولوژیک در دسترس باشد بررسی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری-های عفونی، خونی و مسمومیت‌های آبزیان ایفا کند (۴). به طور کلی، اتفاق نظر محققین بر آن است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف، با هم متفاوت است و ارتباط مستقیم و غیر مستقیم زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن وغیره دارد(۱۷). پارامترهای خونی ماهیان مختلف با توجه به شرایط مختلف، از قبیل بیماری، آلودگی، استرس، تغییر شرایط فیزیکوشیمیایی محیط آب، تغذیه، مراحل رشد وغیره متفاوت است. بنابراین، باید برای هر گونه ماهی، شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها را دارا باشد (۵). ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*)، فیتوفاک یا ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalimichthys molitrix*)و ماهی آمور یا کپور علفخوار(*Ctenopharyngodon idella*) جزو ماهیان استخوانی و پرورشی با ارزش هستند که شناخت خصوصیات بیولوژی و زیستی آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. با توجه به موارد مطروحه، در تحقیق حاضر به بررسی مقایسه برخی از فاکتورهای خونی و آنزیمی ماهیان کپور، فیتوفاک و آمور پرداخته می‌شود تا ضمن مقایسه برخی از این فاکتورها در این ماهیان، مقدار برخی از این فاکتورهای خونی نیز برای این ماهیان تعیین شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش تعداد ۱۰ عدد ماهی کپور، فیتوفاک و آمور با وزن متوسط ۴۰۰ گرم و طول متوسط ۳۱ سانتی‌متر که به مدت ۲ ماه در شرایط یکسان و در یک استخر پرورش یافته بودند استفاده گردید. پس از بررسی و اطمینان از سلامت و عدم وجود نشانه‌های غیر عادی و بیماری در ماهیان مورد نظر آزمایش انجام پذیرفت. خون‌گیری از هر سه گروه ماهیان، پس از انجام عمل بیهوشی با دوز ۲۰۰ppm عصاره گل میخک با استفاده از قطع ورید ساقه دمی انجام گرفت. خون‌ها در ظروف مخصوص قرار داده شدند و بلافاصله به آزمایشگاه خون شناسی منتقل گردیدند. در نهایت مقادیر هر کدام از فاکتورهای هماتولوژی از قبیل میزان تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین(Hb)، هماتوکریت (HCT)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، تعداد گلبول-های سفید (WBC)، لنفوسیت (L)، نوتروفیل، مونوسیت (Mo) و ائوزینوفیل (Eo) به‌وسیله روش‌های زیر تعیین گردید. برای شمارش گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید یا لوکوسیت‌ها از روش توصیه شده توسط (Simmons ,1997) و برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین استفاده گردید(۷). هم‌چنین فاکتورهای هماتوکریت وشاخص-هایگلبول قرمز نیز از طریق فرمول‌های زیر به‌دست آمد:

حجم متوسط گلبول قرمز برحسب فمتولیتر (fl) $M.C.V = \frac{HCT(\%) \times 10}{RBC/millio\ n}$، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی برحسب پیکوگرم (p_g) $M.C.H = \frac{Hb\,(gr\%) \times 10}{RBC\ /\ million}$ غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز بر حسب درصد $M.C.H.C = \frac{Hb \times 100}{HCT}$ برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها با روش گیمسا رنگ آمیزی شد.هم‌چنین برای اندازه‌گیری فاکتورهای آنزیمی، سرم خون ماهیان در دستگاه سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در مدت ۵ دقیقه، جداسازی شده و سپس برای اندازه‌گیری فاکتورهایی از قبیل آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH)و آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون در دستگاه اتوآنالیزر Anthos2020 قرار گرفت و مقادیر هر کدام از فاکتورها به‌وسیله دستگاه و بر حسب واحد بین المللی در لیتر (IU/l) تعیین گردید. برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها ازنرم افزار SPSS 13 استفاده شد.

داده‌ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن، باآزمون Shapiro-Wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد بررسی بااستفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد، ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون توکی (Tukey) گروه‌ها از یک‌دیگر تفکیک گردیدند.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در میزان تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)،هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، لنفوسیت و نوتروفیل خون در بین ماهیان مورد بررسی اختلاف معنی داری مشاهده گردید($p<۰/۰۵$). اما نتایج حاصل از شمارش،MCV، MCH، MCHC، مونوسیت (Mo) و ائوزینوفیل (Eo) خون ماهیان مورد آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای مختلف هیچ‌گونه اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول۱- مقایسه میانگین برخی فاکتورهای خونی ماهیان کپور، فیتوفاک و آمور

فاکتورهای خونی	کپور	فیتوفاک	آمور
RBC($۱۰^۶/ mm^3$)	۰/۸۶۰۳ ± ۰/۰۱۱۸ b	۰/۷۷۸۳ ± ۰/۰۱۸۲ a	۰/۸۵۹۵ ± ۰/۰۰۷۱ b
Hb(گرم در دسی لیتر)	۸/۵۶ ± ۰/۱۳ b	۷/۷۵ ± ۰/۲۱ a	۸/۵۵ ± ۰/۰۷ b
HCT (درصد)	۲۵/۶۸ ± ۰/۴ b	۲۳/۲۵ ± ۰/۶۴ a	۲۵/۵ ± ۰/۴۲ b
MCV (فمتولیتر)	۲۹۸/۵ ± ۰/۷۸ a	۲۹۸/۷ ± ۱/۲۱ a	۲۹۸/۴ ± ۰/۰۱ a
MCH (پیکوگرم)	۹۹/۵ ± ۰/۲۶ a	۹۹/۶ ± ۰/۴a	۹۹/۵ ± ۰/۰۱a
MCHC(درصد)	۳۳/۳۳ ± ۰/۰ a	۳۳/۳۳ ± ۰/۰ a	۳۳/۳۳ ± ۰/۰a
WBC (mm^3)	۷۱۴۰ ± ۲۳۰/۲۲ a	۸۰۵۰ ± ۷۰/۷۱ b	۸۴۰۰ ± ۱۴۱/۴۲ b
لنفوسیت (درصد)	۰/۹۳۸ ± ۰/۰۰۸ b	۰/۹۱۵ ± ۰/۰۰۷ a	۰/۹۱۵ ± ۰/۰۰۷ a
نوتروفیل (درصد)	۰/۰۵۸ ± ۰/۰۰۸ a	۰/۰۸۵ ± ۰/۰۰۷ b	۰/۰۸۵ ± ۰/۰۰۷ b
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۴ ± ۰/۵۴۸ a	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a
مونوسیت (درصد)	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشاندهنده رابطه قوی و مثبت (r=۰/۹۳) بین میزان وزن بدن ماهی قزل آلای رنگین کمان و میزان کادمیم است (جدول ۱، نمودار ۱). - AL Yousuf و همکاران(۲۰۰۰) بین میزان تجمع فلز کادمیوم و وزن بدن در بافت عضله ماهی *Lethrinuslentjan* در خلیج فارس و امینی و سوتوده نیا(۲۰۰۵) در ماهی *Liza aurata* در دریای خزررابطه مثبت و معنی‌دار (P<۰/۰۵) گزارش نموده اند که کاملاً با نتایج این تحقیق همسویی دارد(۹،۱۰).Usero و همکاران (۲۰۰۳) نیز به رابطه مثبت و معنی‌دار بین طول ماهی کفال طلائی دریای‌خزر (*Liza aurata*) و میزان کادمیوم در پوست بدن اشاره کردند(۲۸).در تحقیقی بر روی چهار گونه از کپور ماهیان(*Cyprinuscarpio*، *Carassiusauratusgibelio*، *Alburnusalburnus*، *Aculeata capoeta*) در رابطه با میزان کادمیوم و رابطه آن با سن وگونه ماهی انجام شد نتایج نشان داده شده که با افزایش سن ماهیان، میزان فلز سنگین کادمیوم افزایش پیدا می‌کند که نتایج حاصل از آن با ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی در تحقیق حاضر همسو است(۸). بنابراین ماهیان بزرگ‌تر می‌توانند حاوی مقادیر بیشتری از کادمیم باشند و این موضوع از نقطه نظر اثرات مخرب فلزات سنگین بر سلامت انسانی می باید مورد توجه واقع گردد. میانگین میزان کادمیم در ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی در این تحقیق (رودخانه دوهزار تنکابن) برابر ۱/۰۱ میکروگرم در گرم عضله بدن بوده است (جدول۱). این میزان بیشتر از حد استاندارد قابل قبول سازمانبهداشتجهانی (WHO) (۰/۲ میکروگرم در گرم) می باشد(۳۳).Vighو همکاران (۱۹۹۶) میانگین مقدار فلز سنگین کادمیومبر روی ماهی*nidellaCtenopharyngodo*در دریاچه بالاتون مجارستان را ۰/۳۱۶ میکروگرم بر گرم بدست آورده اند(۳۰).Useroو همکاران (۲۰۰۳)بر روی سه ماهی*Anguilaanguila*، *Liza aurata* ، و *Solea vulgaris* در آب های ساحلی جنوب آتلانتیک در کشور اسپانیا حداکثر کادمیوم سنجش شده را ۰/۰۵ میکرو گرم بر گرم گزارش کرده اند(۲۸).در تحقیقی دیگر، Ishaq و همکاران (۲۰۰۵) در دریاچه Oguta در نیجریه برروی ماهی *Tilapia zillii* انجام داداند میزان فلز کادمیوم برابر ۰/۹۹۳ میکرو گرم بر گرم بوده است(۲۰). در بررسی دیگری که Franca وهمکاران (۲۰۰۵) میزان کادمیوم در ماهی*Soleasenegalensis*۰/۹ میکروگرم بر گرم به‌دست آمده است(۱۷).در مطالعات دیگر، میزان کادمیم در ماهیان مورد مطالعه بیشتر از میزان میانگین نمونه های این تحقیق بوده است: غلظت فلز سنگین کادمیوم در گاو ماهی سواحل جنوبی دریای خزر از فریدون کنار تا نوشهر به ترتیب با میانگین ۱/۶۹ و ۳/۶۵ میکروگرم بر گرم بود (۲).عسگری و همکاران(۱۳۸۹) میزان کادمیم در دو گونه *Acanthopagruslatus* و *Platycephalusindicus* در بندر ماهشهر را به ترتیب ۲/۱۶ و ۴/۶۷ میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش نمودند(۷). Turkmenو همکاران (۲۰۰۴) تجمع فلزات سنگین را بر روی سه گونه ماهی اقتصادی دریای مدیترانه به نام های *Sauridaundosquqmis*، *Mullusbarbatus*، *Sparusauratus*، بررسی نمودند که فلز کادمیوم این ماهیان تا ۴/۱۶ میکروگرم بر گرم بود(۲۶).غلظت فلزات سنگین در آبزیان معمولاً با اندازه گیری غلظت آن ها در آب، رسوبات و گیاهان و جانوران یک اکوسیستم قابل بررسی می باشد(۱۲)، به طوریکه درحالت کلی مقادیر آن ها در میزانپایینتر در آب و در سطوحبالاتر در رسوبات و همینطور گیاهان و جانوران قرار دارد (۲۲).از آنجاییکه در این تحقیق تنها میزان کادمیم در عضلات بدن ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی در رودخانه دوهزار تنکابن بررسی شده

است، جهت دستیابی به منشا آلودگی انتقال یافته به بدن ماهی، اندازه گیری میزان کادمیم در آب، رسوبات رودخانه و همینطور غذای مصرفی ماهیان حائز اهمیت می باشد.

منابع

۱- بهمنی، م.۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در HPG.HPI محورهای تاسماهی ایرانی .رساله دکتری .دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

۲- ستاری، م.، شاهسونی، د.، شفیعی، ش. ۱۳۸۳. ماهی شناسی و سیستماتیک ۲. انتشارات نشر حق شناس، ۵۰۲ صفحه.

۳- جمال زاده، ح.، کیوان، ا.، عریان، ش.، قمی مرزدشتی، م. ر. ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخصهای خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مجله علمی شیلات ایران (فارسی (پاییز۱۳۸۷; ۱۷(۳) ص:۴۷-۵۴.

٤-شاهسونی، د. ۱۳۷۷. تعیین شاخصهای خونی ماهیان خاویاری در سواحل جنوبشرقی دریای خزر. پایان نامه دکتری تخصصی دامپزشکی . شماره ۶۵،ص:۷۶-۷.

۵- شاهسونی، د.، مهرداد، م.، مازندرانی، م. ۱۳۸۵. تعیین مقادیر برخی از الکترولیت های سرم خون ماهی خاویاری قره برون (*Acipenser persicus*). مجله دامپزشکی ایران (دانشگاه شهید چمران اهواز (پاییز ۱۳۸۵ ;۲(۲)مسلسل ۱۳))ص:۱۱۲-۱۱۷.

٦-محمدیها، ح. **۱۳۷۷**. بیوشیمی بالینی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. **۸۲٦** ص.

۷-عامری مهابادی، م. ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ، ۱۲۶ صفحه.

8. Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R., Majazi Amiri, B. (2008). Effecr of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. Int. J. Environ. Res, 2 (2); 189-198.

9. Bridges, D.W., Cech, J.J. and Pedro, D.N. 1976. Seasonal haematological changes in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. Transaction of American Fisheries Society, 5; 596-600.

10. Fausch, K.D., Lyons, J.R., Karr, J.R. and Angermeier, P.L. (1990). Fish communities as indicators of environment degradation. American Fisheries Society Symposium, 8; 123-144.

11. Hisa, M., Connie, C.W. (1998). Respiratory function of hemogolobin. New England J. Med, 338; 239-247.

12. Hlavova, V. (1993). References values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus linnaeus*). Comparative Biochemical and Physiology, 105A; 525-532.

13. Khazraiinia P., Payghan R., Azari Takami Gh. (1998). Studies on the effect of experimental acute ammonia toxicity on serum enzymes, urea and cholesterol in common carp. Journal of Veterinary Research, Veterinary Department of Tehran University, 55(3); 29-32.

14. Luskova, V. (1995). Determination of normal values in fish. Acta Universitatis Carolinae Biologica, 39: 191-200.

15. Pagana, Kathleen D. (1998). Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests. Saint Louis: Mosby, Inc.1166 p.

16. Poet T.S., Wu H., Kousba A.A., Timchalk C. (2003). In vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides Chlorpyrifos and diazinon. Toxicology Science, 72; 193-200.

17. Ross, L.G. and Ross, B. (1999). Anasthetic and Sedative techniques for aquatic animals, 2nd edn. Blackwell Science, Oxford, UK. 22, 57.

18. Simmons, A. (1997). Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann: 507.

19. Venkateswara R.J. (2006). Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, Oreochromis mossambicus. Pesticide Biochemistry and Physiology, 86; 78-84.