بررسی ارتباط بین آلودگی انگلی و فاکتورهای خونی سوف سفید دریای صید شده از سواحل بندر انزلی(*Sander lucioperca*)خزر

رشیده موحد [۱]*؛ حسین خارا[۲]؛محمد صیادبورانی [۳]؛ محدثه احمدنژاد [۴]؛ مینا رهبر [۱]

melodi.movahed@yahoo.com

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶ .

۲- دانشگاه آزاداسلامی واحدلاهیجان،دانشکده منابع طبیعی،گروه شیلات، لاهیجان، ایران،صندوق پستی :۱۶۱۶.

۳- مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی ایران، تنکابن، ایران، صندوق پستی :۴۶۷-۴۶۸۱۵.

۴- پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۶.

تاریخ دریافت: تیر۱۳۹۱ تاریخ پذیرش:خرداد۱۳۹۳

چکیده

به منظوربررسی اثر آلودگی های انگلی برفاکتورهای خونی سوف سفید دریای خزردر طی فصل صید به مدت ۶ ماه از پاییز تا زمستان۱۳۸۷، ۳۲ عدد ماهی سوف از سواحل جنوبی دریای خزر در سواحل بندر انزلی صید و به صورت زنده به پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی کشور منتقل شد. پس از بررسی های زیست سنجی و تعیین سن ماهیان، از آنها خون گیری به عمل آمد. خون مورد نظر توسط سرنگ از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شده، سپس به ویال هایی حاوی هپارین (ماده ضد انعقاد خون) ریخته و به آرامی تکان داده شد. پارامترهای خون شناسی با روش های استاندارد آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفت. سپس ماهیان صید شده از نظر آلودگی های انگلی خارجی و داخلی مورد بررسی قرار گرفتند. انگل های موجود جداسازی و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبرشناسایی شدند. طبق نتایج حاصله پنج گونه انگل به نام های *Diplastomum spathaceum*، *Dactylogyrus* sp.، *Trichodina* sp.، *Achtheres percarum* و *Eustrongylides excisus* از اندام های مختلف جداسازی شدند. بررسی ها نشان داد که درصد لنفوسیت و نوتروفیل در ماهیان آلوده به انگلهای *Diplastomum spathaceum* و *Eustrongylides excisus* بیشتر از ماهیان غیرآلوده بوده به طوریکه بر اساس آزمون آماری من- ویتنی اختلاف ها معنی دار بودند ($p<۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: دریای خزر، سوف سفید، آلودگی انگلی، فاکتورهای خونی.

*نویسنده مسئول

۱. مقدمه

ماهی سوف (*Sander lucioperca*) یکی از مهمترین و باارزشترین ماهیان اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر می باشد که سواحل استان گیلان، تالاب انزلی و دریاچهٔ سد ارس از جمله زیستگاه های اصلی این گونه در کشور ایران می باشد. این ماهی در اکثر رودخانه هایی که به دریای خزر می ریزد زیست کرده و در دریا در سواحل و مناطقی که دارای آب شیرین تر است زندگی و تغذیه می کند (۷). کار در زمینهٔ خون شناسی ماهی ها حدوداً از دههٔ هشتاد میلادی شکل علمی و کاملی به خود گرفت و در زمینهٔ فیزیولوژی و حالت بیماری زائی آنها تحقیقات زیادی صورت گرفته است. البته باید مدنظر داشت که کارهای انجام شده بیشتر در ماهیان پرورشی یا ماهیانی که به نحوی امکان نگهداری آنها در محیط بسته میسر بود صورت گرفته است. گروهی از این تحقیقات جهت تشخیص بیماری ها در این موجودات بوده است و این امر میسر نیست مگر آنکه ابتدا نکاتی در زمینهٔ فیزیولوژی و مقدار نرمال فاکتورهای خونی داشته باشیم. به طور کلی سوف سفید به دلیل رژیم غذایی خاص خود و قرار گرفتن در بالای هرم غذایی، دارای انگل‌های متعددی می‌باشد (۲۷).تاکنون مطالعات مختلفی بر روی اثر آلودگی های انگلی روی فاکتورهای خونی ماهیان صورت گرفته (۲، ۳، ۵، ۶، ۱۱، ۱۶، ۲۴). در این میان می توان به ماهی سوف سفید اشاره نمود که تا کنون پیرامون پارامترهای خون شناسی و بیوشیمیایی سرم خون آن گزارشی انتشار نیافته است. از آنجایی که تغییر شرایط محیطی و بروز برخی بیماری ها با تغییر در برخی پارامترهای خونی چهره خود را نمایان می سازد(۹، ۱۰، ۲۱). لذا آگاهی از مقادیر پارامترهای خونی در حالت طبیعی به عنوان معیار و مبنایی برای مقایسه در شرایط بیماری ضروری به نظر می رسد. در این راستا و با توجه به اهمیت این ماهی در فصل صید ۱۳۸۷ اثر آلودگی های انگلی بر روی فاکتورهای خونی ماهی سوف سفید دریای خزر برای اولین بار در ایران بررسی گردید.

۲. مواد و روشها

تعداد ۳۲ عدد ماهی سوف سفید توسط تورهای پره از سواحل بندرانزلی به صورت تصادفی صید شده و همراه با آب دریا و هوادهی به پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشورمنتقل گردیدند. پسازبررسی های زیست سنجی وتعیین سن ماهیان،توسط سرنگ۲ سیسی ازناحیه ساقه دمی بازاویه ای ۴۵درجه خونگیری به عمل آمد و به میزان ۱ سی سی خون اخذ و به لوله های حاوی هپارین (یک قطره به ازای۱ سی سی) انتقال داده شد. لوله های حاوی خون و ماده ضد انعقاد کاملاً تکان داده شد تا یکنواخت گردد و سپس نمونه های خون در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و پارامترهای خونشناسی تعیین گردیدند(۱۵، ۲۵).

جهت شمارش گلبول های قرمزابتدا لوله حاوی خون را کاملاً تکان داده تا خون یکنواخت شود و سپس با استفاده از پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول های قرمز تا درجه ۰/۵ از خون پر نموده، سپس محلول رقیق کننده ریس را تا درجه ۱۰۱ پر کرده که در نتیجه رقت $\frac{1}{200}$ به دست آمد، سپس در زیر لام نئوبار (در ۵ خانه از ۲۵ خانه مرکزی لام) شمارش شد(۴، ۲۲) .

۱۰۰۰۰ × (تعدادگلبول قرمز شمارش شده در ۵ خانه مرکزی لام) X = تعداد گلبول قرمز در میلی متر مکعب

جهت شمارش گلبول های سفیدبا استفاده از پیپت ملانژور سفید و ماده رقیق کننده ریس به همان ترتیبی که در مورد گلبول های قرمز توضیح داده شده عمل می شود. در این مورد پیپت ملانژور سفید را تا درجه ۰/۵ از خون و تا درجه ۱۱ از محلول رقیق کننده ریس پرکرده که بدین ترتیب رقت $\frac{1}{20}$ به دست آمد. سپس در زیر لام نئوبار(در ۴ خانه مخصوص گلبول های سفید لام) شمارش شد(۲۲).

۵۰ × (تعداد گلبول سفید شمارش شده در ۴ خانه مخصوص گلبول های سفید) X = تعداد گلبول سفید در میلیمتر مکعب

برای اندازه گیری هماتوکریت، لوله میکروهماتوکریت را تا $\frac{۲}{۳}$ از خون پر کرده (با قرار دادن لوله میکروهماتوکریت در ویال خون و کمی کج نگه داشتن آن خون براساس خاصیت موبینگی بالا می آید) و پس از مسدود نمودن سرلوله با خمیر هماتوکریت، لوله در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان هماتوکریت با خط کش مخصوص برحسب درصد قرائت گردید.

اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین و با اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر بر حسب گرم در دسی لیتر انجام شد (*MiltonRoy,20D,USA*).

انـدیس هـای گلبـولی قرمـز شـامل متوسـط حجـم گلبـول قرمـز (MCV)، متوسـط هموگلـوبین گلبـولی(MCH)، متوسـط غلظت هموگلوبین گلبول هـا (MCHC) بـا اسـتفاده از فرمـول های زیر محاسبه گردید (۲۳).

$$M.C.V(fl) = \frac{H.C.T \times 10}{RBC(million)}$$

$$M.C.H(pg) = \frac{Hb \times 10}{R.B.C(million)}$$

$$M.C.H.C = \frac{Hb \times 100}{H.C.T}$$

سپس تعیین جنسیت ماهی با کالبد گشایی و مشاهده ماکروسکوپی دستگاه تناسلی و وزن ماهی با استفاده از ترازو مورد سنجش قرار گرفت.

برای بررسی انگل ها ابتدا سطح بدن ماهی و باله ها از نظر وجود آلودگی به انگل مورد بررسی قرار گرفتهو سپس بررسی سایر قسمت ها صورت پذیرفت. بدین منظور زیر سرپوش آبششی، بین کمان های آبششی، حدقه چشم (عدسی چشم) و روده به دقت بررسی و انگل های مشاهده شده جداسازی و شمارش گردید (۲۶). انگل های جداسازی شده به وسیله سرم فیزیولوژی شسته و با روش بستن نمونه بین دو لام در فرمالین ۱۰٪ به مدت دو هفته فیکس نموده و بعد در روند رنگ آمیزی با رنگ کارمن آلوم رنگ شده و تثبیت گردیدند. برای انگل تک یاخته از محلول بوئن استفاده گردید (۱۸).

در نهایت شناسایی گونه ای انگل ها با استفاده از کلیدهای تشخیص معتبر صورت گرفت (۱۳، ۲۰). بعد از ثبت اطلاعات در فرم های مخصوص به وسیله فرمول های زیر میزان شیوع انگل یا فراوانی انگل (٪)، میانگین شدت آلودگی، میانگین فراوانی انگل و دامنه تعداد انگل محاسبه شدند (۱۲).

۱- میانگین شدت آلودگی:

$$\text{میانگین شدت آلودگی} = \frac{\text{تعداد کل انگلهای شمارش شده}}{\text{تعداد ماهیان آلوده به همان انگل}}$$

۲- میانگین فراوانی انگل:

$$\text{میانگین فراوانی انگل} = \frac{\text{تعداد کل انگلهای شمارش شده}}{\text{تعداد ماهیان مورد بررسی قرار گرفته}}$$

۳- دامنه فراوانی:

دامنه فراوانی بیان کننده حداقل و حداکثر تعداد انگل شمارش شده در ماهیان آلوده است.

۴- میزان شیوع (درصد فراوانی):

$$\text{درصد آلودگی} = \frac{\text{تعداد ماهیان آلوده به انگل}}{\text{تعداد کل ماهیان مورد آزمایش}} \times ۱۰۰$$

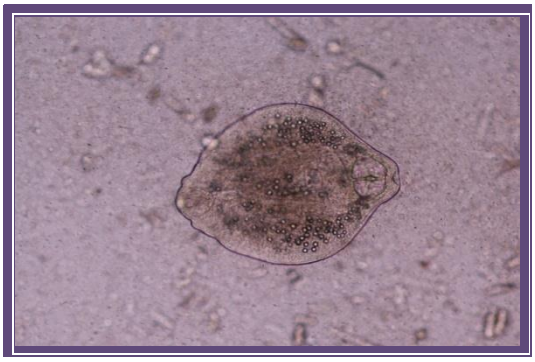
داده های حاصله به وسیله نرم افزار *S.P.S.S* نسخه ۱۳ و آزمون *t–test* (برای داده های واجد توزیع نرمال)، و من ویتنی (برای داده های فاقد توزیع نرمال) در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند، جداول نیز به وسیلهٔ نرم افزار *Excel* رسم شدند.

۳.نتایج

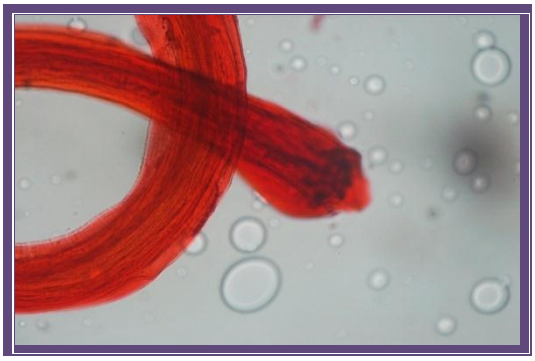
در این بررسی ۳۲ عدد ماهی سوف سفید دریای خزر با میانگین طول کل ۴/۴ ± ۴۵/۷ سانتی متر (۵۴/۵- ۳۴ سانتی متر)، میانگین وزن ۴/۲۶۱ ± ۸۹۲/۱گرم (۱۶۲۵-۳۳۵ گرم) و میانگین سن ۱/۰۲ ± ۳/۷۱ سال (۵-۲ سال) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که از ۳۲ عدد ماهی سوف سفید دریای خزر تعداد ۱۶ عدد از ماهیان سالم و فاقد آلودگی و ۱۶ عدد از ماهیان دارای آلودگی به انواع انگل ها بودند. به طوریکه ۵ گونه انگل به نامهای *Eustrongylides excisus* از نماتودا، *Achtheres percarum* از سخت پوستان، *Trichodina* sp. از سیلیوفورا، *Dactylogyrus* sp. از مونوژنه آ،*Diplostomum spathaceum* از دیژنه آ شناسایی شدند (شکلهای ۱ تا ۶). بر طبق نتایج بدست آمده، بیشترین درصد آلودگی (۲۵ درصد)، حداکثر میانگین شدت آلودگی (۰/۳۵ ± ۴/۷۵ عدد) ، بیشترین دامنه تعداد (۷-۳ عدد) و بیشترین میانگین فراوانی (۰/۳۷ ± ۱/۱۸ عدد) مربوط به*Trichodina* sp. و کمترین میانگین میزان شیوع (۳/۱۲ درصد)، کمترین میانگین فراوانی(۰ ± ۰/۰۳ عدد)، کمترین میانگین شدت آلودگی(۰ ± ۱عدد)و کمترین دامنهٔ تعداد انگل(۱-۰ عدد) مربوط به *Dactylogyrus* sp. بود (جدول ۱).

جدول ۱- انگلهای ماهی سوف سفید دریای خزر در سال ۱۳۸۷ (تعداد ۳۲)

شماره	گونه انگلی	جایگاه	درصد آلودگی (میزان شیوع)	میانگین شدت آلودگی ± انحراف استاندارد	دامنه تعداد انگل	میانگین فراوانی ± انحراف استاندارد
۱	*Eustrongylides excisus*	عضله	٦/۲٥	۲ ± ۱/٤۱	۳ - ۱	۰/۱۲ ± ۰
۲	*Achtheres percarum*	آبشش	٦/۲٥	۱/٥ ± ۰/۷۰	۲ - ۱	۰ ± ۰/۰۹
۳	*Trichodina* sp.	پوست	۲٥	٤/۷٥ ± ۰/۳٥	۷ - ۳	۰/۳۷ ± ۱/۱۸
۴	*Dactylogyrus* sp.	آبشش	۳/۱۲	۱ ± ۰	۱ - ۰	۰/۰۳ ± ۰
۵	*Diplostomum spathaceum*	چشم	۲۱/۸۷	۳ ± ۰/۲٦	۷ - ۱	۰/٦٥ ± ۰/٦۲



شکل ۱ – *Diplostomum spathaceum* بزرگنمایی ۱۰×



شکل۲– *Eustrongylides excisus* بزرگنمایی ۱۰×

شکل ۳– ناحیه قدامی انگل *Eustrongylides excisus* بزرگنمایی ۱۰×

شکل۴– انگل *Achtheres percarum* بزرگنمایی ۱۰×

شکل ۵– انگل *Dactylogyrus* sp. بزرگنمایی ۱۰×

شکل ۶– انگل *Trichodina* sp. بزرگنمایی ۱۰×

از آنجایی که نمونه ها به صورت تصادفی توسط تعاونی های پره در سواحل بندرانزلی صید می شدند تنوع جنسی در آنها دیده نشد. لذا موفق به بررسی فاکتورهای خونی در جنس های مختلف نشدیم و مطالعات صورت گرفته تنها در جنس نر می باشد. نتایج نشان داد که حداکثر (انحراف معیار ±میانگین) مربوط به گلبول قرمز (۶۰۹۰۸۳/۴۲ ± ۱۷۷۲۸۵۴/۱۷ عدد در میلی متر مکعب) و حداقل آن مربوط به منوسیت (۱/۲۵ ± ۱ /۴۶ درصد) می باشد. همچنین میزانگلبول های قرمز وسفید، هماتوکریت، هموگلوبین، متوسط حجم گلبولی، درصدنوتروفیل و مونوسیت درماهیان آلوده بالاترازماهیان سالم بوده ولی متوسط میزان هموگلوبین داخل گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبولها ودرصدلنفوسیت ودرماهیان سالم بالاترازماهیان آلـوده میباشد(جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه پارامترهای خون شناسی ماهی سوف سفید سالم و آلوده دریای خزر

پارامترهای خونی	ماهی سوف سفید دریای خزر	میانگین فاکتورهای خونی ماهیان آلوده به انگل ± انحراف معیار (حداکثر-حداقل)	میانگین فاکتورهای خونی ماهیان سالم± انحراف معیار (حداکثر-حداقل)	میانگین فاکتورهای خونی ماهیان ± انحراف معیار
تعداد گلبول های قرمز		۱۸۵۱۲۵۰ ± ۶۴۵۰۳۱	۱۶۷۵۶۲۵ ± ۴۹۶۷۷۵/۹	۱۷۷۲۸۵۴/۱۷ ± ۶۰۹۰۸۳/۴۲
(عدد درمیلی متر مکعب)		۱۲۶۰۰۰۰-۳۷۰۰۰۰۰	۱۱۲۰۰۰۰-۳۲۰۰۰۰۰	
تعداد گلبول های سفید		۱۵۹۰۶/۲۵±۱۰۶۳۴/۱	۸۶۵۶/۲۵±۵۵۹۳/۸	۱۱۴۴۴/۳۷۵ ±۸۱۳۷/۷۸
(عدد درمیلی متر مکعب)		۴۰۰۰-۴۵۰۰۰	۱۲۰۰-۱۸۰۰۰	
هماتوکریت (درصد)		۳۵/۶۳ ± ۷/۲۹	۳۲/۲۵ ± ۶/۴	۳۳/۱ ±۶/۱۷
		۲۳-۴۸	۲۴-۴۶	
هموگلوبین (گرم دردسی لیتر)		۷/۱۶ ± ۱/۲	۶/۷۷ ±۱/۳	۶/۸۵ ±۱/۲۵
		۵/۵-۹/۳	۵/۲-۹/۴	
حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)		۲۵۶/۹± ۱۸۸/۷	۲۰۰/۱ ±۵۳/۶	۲۳۸/۹۸ ±۱۲۵/۵۴
(MCV)		۱۱۶/۲-۹۴۷/۳	۱۱۲/۲-۳۱۸/۱	
مقدار هموگلوبین داخل گلبولی (پیکوگرم)		۴۰/۲ ± ۱۲/۴	۴۲/۸ ± ۱۵/۱	۴۰/۱ ±۶/۱۷
(MCH)		۱۶/۸-۵۶/۸	۲۱/۸-۸۵/۴	
متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها(گرم)		۲۰/۴ ± ۳	۲۱/۲ ± ۳/۱	۲۱/۰۵ ±۳/۰۶

لنفوسیت(درصد)	۷۷/۸ ± ۱۲/۳^{b}	۹۳/۵ ± ۴/۸^{a}	۸۶/۱۶ ±۱۱/۸۷
	۵۷-۹۵	۸۳-۹۹	
نوتروفیل(درصد)	۲۳/۸ ± ۱۰/۳^{a}	۸/۵ ± ۵/۸^{b}	۱۱/۰±۱۱/۲۰
	۵-۳۹	۰-۱۰	
مونوسیت (درصد)	۱/۷۵ ± ۱/۳	۱/۲۵ ± ۱/۲	۱/۴۶±۱/۲۵
	۰-۵	۰-۴	
میولوسیت (درصد)	۱/۳۸ ±۱/۸	۱/۳۸ ±۱/۶	۱/۳۵±۱/۶۷
	۰-۶	۰-۵	

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($P<۰/۰۵$).

بر طبق آزمون آنالیز آماری*t-test* بین درصد لنفوسیتو نوتروفیل در بین ماهیان آلوده و سالم، اختلاف معنی دار آماری وجود داشت (p<۰/۰۵). در حالیکه بر اساس همین آزمون برای فاکتور هماتوکریت، هموگلوبین و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). باتوجه به آزمون من- ویتنی، بین ماهیان آلوده و سالم از لحاظ تعداد گلبول سفید و قرمز، حجم متوسط گلبولی، مقدار هموگلوبین داخل گلبولی، منوسیت و میولوسیت اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت (p>۰/۰۵).

بین درصد لنفوسیتو نوتروفیل در بین ماهیان آلوده و سالم، اختلاف معنی دار آماری وجود داشت (p<۰/۰۵). در حالیکه بر اساس همین آزمون برای فاکتور هماتوکریت، هموگلوبین و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). باتوجه به آزمون من- ویتنی، بین ماهیان آلوده و سالم از لحاظ تعداد گلبول سفید و قرمز، حجممتوسط گلبولی، مقدار هموگلوبین داخل گلبولی، منوسیت و میولوسیت اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت (p>۰/۰۵).

جدول ۳-نتایج مقایسه اثر آلودگی های انگلی روی فاکتورهای خونی در ماهیان آلوده و غیرآلوده سوف سفید دریای خزر

فاکتورهای خونی سوف سفید	میانگین درصد لنفوسیت ماهیان آلوده ± انحراف معیار	میانگین درصد لنفوسیت در ماهیان سالم ± انحراف معیار	میانگین درصد نوتروفیل در ماهیان آلوده ± انحراف استاندارد	میانگین درصد نوتروفیل در ماهیان سالم ± انحراف استاندارد
	حداکثر- حداقل	حداکثر -حداقل	حداکثر -حداقل	حداکثر- حداقل
آلودگی های انگلی				
Diplostomum Spathaceum	۷۷/۰ ± ۱۴/۸^{b}	۸۸/۰۴ ± ۱۰/۴^{a}	۱۹/۴۳ ± ۱۴/۷^{a}	۹/۲۸ ± ۹/۶۵^{b}
	۵۷-۹۱	۶۳-۹۹	۶-۳۹	۰-۳۴

Dactylogyrus sp.	۶۸/۰ ± ۰	۸۶/۱۹ ± ۱۱/۹	۲۸ ± ۰	۱۰/۹۷ ± ۱۱/۳
	۶۸–۶۸	۵۷–۹۹	۲۸–۲۸	۰–۳۹
sp.*Trichodina*	۸۰/۵ ± ۱۲/۰۴	۸۷/۳۳ ± ۱۲	۱۶/۲۵ ± ۱۱/۸	۹/۹۲± ۱۱/۱۹
	۶۳–۹۵	۵۷–۹۹	۵–۳۴	۰–۳۹
Achtherespercarum	۸۲/۰ ± ۰	۸۵/۸۷ ± ۱۲/۶	۱۷/۰ ± ۰	۱۱/۱۳ ± ۱۱/۸
	۸۲–۸۲	۵۷–۹۹	۱۷–۱۷	۰–۳۹
Eustrongylides excises	۶۴/۵ ± ۱۰/۶^{b}	۸۷/۰۳ ± ۱۱/۰۳^{a}	۳۰/۵ ± ۱۲/۰۲^{b}	۱۰/۲۳± ۱۰/۵^{a}
	۵۷–۷۲	۶۰–۹۹	۲۲–۳۹	۰–۳۷

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($P<۰/۰۵$).

آزمون آماری *t-test* نشان داد که از نظر درصد نوتروفیل و لنفوسیت بین ماهیان آلوده به انگل های *Diplostomumspathaceum* و *Eustrongylides excises* و ماهیان سالم اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). در حالیکه نتایج آزمون من ویتنی نشان داد که از نظر درصد نوتروفیل و لنفوسیت بین ماهیان آلوده به انگل های *Trichodina* sp. ، *Dactylogyrus* sp. ،*Achtheres percarum* و ماهیان سالم اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$).

۴.بحث

بر طبق نتایج بدست آمده، در ماهیان آلوده مقدار گلبولهای سفید و نوتوفیلها افزایش یافتکه این نتیجه یک نسبت معکوس با شرایط سلامت ماهی را نشان می دهد، زیرا در ماهیان بیمار گلبول های سفید بیشتری برای تولید پادتن ساخته شده و به علت کاهش قدرت ایمنی بدن لنفوسیت ها نیز کاهش یافتند. و این نتیجه مشابه نتایج صورت گرفته توسط محقق(۱۶) در بررسی اثرات بیماری ایک بر روی فاکتورهای خونی ماهی کپور بود. همچنین افزایش درصد نوتروفیل در ماهیان آلوده کپور معمولی (۶) نیز مشاهده گردید. در این بررسی در ماهیان آلوده، میزان گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی(*MCV*)، نوتروفیل و مونوسیت افزایش و میزان متوسط هموگلوبین داخل گلبولی(*MCH*) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها (*MCHC*) و لنفوسیت کاهش یافته است. در بررسی اثر آلودگی یک گونه از ماهی گواف (*Chana Striatus*) به وسیله سخت پوست (*AlitropusTypus*) (۸)، میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان آلوده کاهش یافته و بر عکس میزان متوسط حجم گلبولی (*MCV*)، متوسط هموگلوبین گلبولی(*MCH*)، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها

(*MCHC*) همچنین درصد مونوسیت و نوتروفیل افزایش یافته است. در بررسی حاضر بر روی فاکتورهای خونی ماهی سوف سفید از لحاظ فاکتورهای متوسط حجم گلبولی، درصد مونوسیت و نوتروفیلمشابه نتیجه فوق بدست آمدکه می تواند به دلیل وجود سخت پوست *Achtheres percarum* در آبشش ماهیان آلوده باشد. در بررسی محقق (۲) بر روی فاکتورهای خونی ماهی سیم دریای خزر آلوده به انگل های مختلف میزان گلبول های قرمز و سفید، هموگلوبین، مقدار هموگلوبین داخل گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها و درصد نوتروفیل در ماهیان آلوده بیشتر از ماهیان سالم بود ولی میزان هماتوکریت، متوسط حجم گلبولی، درصد لنفوسیت و مونوسیت در ماهیان سالم بیشتر از ماهیان آلـوده بود. در بررسی حاضر نیز از لحاظ میزان گلبول های قرمز و سفید، هموگلوبین، درصد نوتروفیل و درصد لنفوسیت با یافته های تحقیق فوق همسو بود. در بررسی محقق (۲۴) بر روی فاکتورهای خونی هیبرید Tambacu آلوده شده به وسیله یک گونه سخت پوست، زالوی *Dolops carvalhoi* صورت گرفت. نتایج کاهش میزان هماتوکریت و منیزیم و افزایش میزان *MCHC* ،گلوکز پلاسما، پروتئین و سدیم را در خون ماهیان آلوده نشان داد. در حالیکه در بررسی حاضر در فاکتور هماتوکریت افزایش و *MCHC* کاهش و برعکس نتیجه فوق بدست آمد. طی مطالعه توسط محقق (۱۹) بر روی فاکتورهای خونی *Leporinus macrocephalus* آلوده شده توسط یک گونه نماتود به نام *Goezia leporini* کاهش میزان هماتوکریت، *MCV* و *MCHC* را در خون ماهیان آلوده نشان داد. در بررسی حاضر نیز کاهش *MCHC* و افزایش هماتوکریت و *MCV* را داشته ایم.در این بررسی در فاکتور های خونی لنفوسیت و نوتروفیل اختلاف معنی دار آماری بین ماهیان سالم و آلوده به انگل مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$)و از لحاظ سایر فاکتورهای مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری بین ماهیان سالم و آلوده به انگل مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).بر طبق نتایج (۲) اختلاف معنی دار آماری بین ماهیان سالم و آلوده به انگل در ماهی سیم از لحاظ فاکتور های خونی گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، متوسط حجم گلبولی، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها، لنفوسیت و نوتروفیل وجود داشت ($p<۰/۰۵$). ولی اختلاف معنی دار آماری از نظر گلبول قرمز، متوسط هموگلوبین داخل گلبولی و مونوسیت در ماهیان سالم و آلوده وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در بررسی که در فاکتورهای خونی سیاه ماهی(۵) و ماهی سفید (۳) بدست آمد. اختلاف معنی دار آماری بین ماهی های آلوده به انگل و فاقد آن وجود نداشت. در تحقیقی که توسط محقق (۱۷) بر روی بررسی مقایسه ای فاکتورهای خونی آزاد ماهیان دریای خزر سالم و دارای آلودگی قارچی *Saprolegnia* انجام گرفت اختلاف معنی دار آماری را از نظر تعداد گلبول های سفید و قرمز، میـــزان هموگلوبین وهماتوکریت و همچنین درصد نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت و ائوزینوفیل در ماهیان سالم و آلوده نشان داد ($P<۰/۰۰۱$) ولی اختلاف معنی دار آماری را از نظر میزان متوسط حجم گلبولی (*MCV*)، متوسط هموگلوبین گلبولی(*MCH*)، متوسط غلظت هموگلوبین گلبول ها (*MCHC*) در ماهیان سالم و آلوده مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$).در بررسی فاکتورهای خونی کپور معمولی مبتلا به ایک (۶)، میزان هماتوکریت و تعدادگلبولهای قرمز و درصد لنفوسیتها و مونوسیتها اختلاف معنی داری را نشان داد همچنین طی روند بیماری به طور معنی دار کاهش می یابند و برخلاف آن افزایش معنی دار لنفوسیتها مشاهده گردید($p<۰/۰۵$).تعدادفاکتورهای خونی ممکن است

دراثربیماری ویاعوامل فیزیولوژیکی تغییرکند، ماهیانی که دارای بیماریهای انگلی وعفونی میشوند ویادرمعرض استرس قرارمیگیرندممکن است میزان کمتری لنفوسیت داشته باشند. نوتروفیل هاممکن است درخـــون افزایش یابندکه دراثریک پاسخ غیراختصاصی به انـواع محـرکات استرس زاروی میدهـد (۱۴)که بانتایج فوق الذکرهمخوانی دارد.در برخی از بیماریهای عفونی (باکتریایی، ویروسی و کمتر در انگلی) برخی از پارامترهای خون شناسی دستخوش تغییرات کمی و کیفی می شوند و غالباً بعضی از آنها مثل تعداد گلبولهای قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین به شدت کاسته می گردد. اما در بیماریهای انگلی به دلیل اینکه انگل ها در خون نیستند، این تغییرات کمتر اتفاق می افتد مگر در بیماریهای انگلی خونخوار مثلاً در زالوها (۱). به طور کلی تفاوت شرایط تغذیه ای، محیطی، گونه ماهی، سن، جنس، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت وحساسیت روشهای اندازهگیری ازجمله فاکتورهایی است که میتواندعامل تفاوت نتایج بدست آمده باشد.در مجموع با توجه به تنوع گونه ای و فراوانی انگل ها و همچنین اندام های آلوده شده در ماهی سوف سفید دریای خزر لزوم توجه به مسائل بهداشتی و سلامتی این ماهی ضروری به نظر می رسد. زیرا ماهی سوف سفید به دلیل عادت غذایی گوشتخواری و همچنین وابسته بودن ذخایر این ماهی به فرایند تکثیر مصنوعی بسیار آسیب پذیر می باشد. به طوریکه پس از چندین سال تلاش مستمر در امر تکثیر و بازسازی ذخایر توانسته ایم جمعیت آن را در حد قابل قبول احیاء نمائیم. بنابراین پیشنهاد می گردد آلودگی های انگلی ماهی سوف به طور مستمر در سواحل دریای خزر مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کارشناس آماری آقای مهندس فرشاد ماهی صفت و تمامی بزرگوارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند نهایت قدردانی را داریم.

منابع

۱-جلالی جعفری، ب، ۱۳۷۷. انگلها و بیماریهای انگلی ماهیان آب شیرین ایران. انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج. ۵۶۴ صفحه.

۲-حیات بخش، م. ر.، خارا، ح.، صیاد بورانی، م.، دقیق روحی، ج.، احمدنژاد، م. و رهبر، م.، ۱۳۹۰. بررسی ارتباط بین آلودگی انگلی و پارامترهای خونی ماهی سیم (*Abramis bramaorientalis*) صید شده از دریای خزر در سواحل بندر انزلی. مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال سوم، شماره دهم.

۳- خارا، ح.، رشیدی کارسالاری، ز.، سعیدی، ع.ا.، بهروزی، ش.، رهبر، م. و احمدنژاد، م.، ۱۳۹۰. بررسی شیوع آلودگی های انگلی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum Kamensky, 1901*) مهاجر به رودخانه تجن و تأثیر آن‌ها روی برخی فاکتورهای خونی. مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال سوم، شماره نهم.

۴-رشیدی کارسالاری، ز.، ۱۳۸۶. بررسی تاثیر آلودگی انگلی بر برخی ازفاکتورهای خونی ماهی سفید (*Rutilus frissii kutum*) در رودخانه تجن. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان. ۱۳۸ صفحه.

۵- سارنگ، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تغییرات خونی سیاه ماهی(*Capoeta capoeta gracilis*) آلوده به انگل (*Clinostomum complanatum*)در رودخانه شیرود. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

واحد لاهیجان، ۱۱۵ ص.

۶-سلیمانی، ن.، حاجی مرادلو، ع.، قربانی، ر. و خوش باور رستمی، ح.، ۱۳۸۷. بررسی فاکتورهای خونی کپورمعمولی مبتلا به ایک، چکیده مقالات اولین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران- دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان ۴ صفحه.

۷- وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین. دانشگاه تهران. ش۲۱۳۲. چاپ چهارم. ۳۱۷ صفحه.

8-Achuthan Nair,g. and8-Balakrishnan Nair,N., 1983. Effect of infestation With the Isopod, Alitropus Typus M. Edwards (Crustacea; Flabellifera; Aegidae) on the Hematological Parameters of the Host fish. Channa sriatus(Bloch); Aquaculture, 30 1983 11-19.9-Baker, D., Campbell, T., Denikola, D., Fettman, M., Rebar, A. and Weiser, G., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry, hematology of fish. Chapter19,pp277-287.

10-Ballarin,L.,Dalloro,M.,Bertotto,D., LibertiniFrancescon,A. and Barbaro, A., 2004.hematological parameters in Umbrina Cirrosa (Teleostei,Sciaenidae):a comparision between diploid and triploid specimens. Comp.Biochem .physiol .C.138:45-51.

11-Boon, J. H., Cannaerts, V.H.M., Augustijn. H., Machiels, M. A. M., Decharleroy, D and Ollevier. F. 1990. The Effect of Different infection levels With infective Larvae *Angullicola Crassus*. Aquaculture,87:243-253.

12- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M, and Shostak, A. W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology 83, 575 – 583.

13- Bykhovsky – Pavloskaya, I.F., Gussev, A. V., Dubinia, M. N., Izyumova, N. A., Smirnova, T. S., Sokolovskaya, I. L., Shulman, S. S. and Epshtein, V. M., 1964. Key to the parasite of Freshwater Fishes of the U.S.S.R Izdatelstrov, Akademii Nauk S.S.S.R Moskva – Leningrad. 1962. Program for acientific Translation, Jerusalem. 919 pp.

14-Campbell. T.W.,1988. Tropical fish Medicine fish Cytology and hematology. vet. Clin. North Am. 18(2). 347-364.

15-Feldman.B.F.,Zinki J.G. and Jain.N.C., 2000. Schalms Veterinary Hematology 5thed. Lippincott Williams & Wikins, USA ,pp: 241,227-288,402.

16-Hines. R. S. and Spira. D. T, 1973. Ichthyophtiriasis in the mirror carp. Leococyte response. Journal of fish Biology.26.527.234.

17-Jamalzadeh. H. R., Keyvan. A., Ghomi. M. R. and Gherardi. F., 2009. Comparision of blood indices in healthy and fungal infected Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*); African journal of biotechnology Vol.8(2)pp.319-322,19 january 2009.

18- Malek, M. and 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.

19- Martins, M.L., Tavares-Dias, M., Fujimoto, R.Y., Onaka, E.M., Nomura, D.T., 2004. Haematological alterations of Leporinus macrocephalus (Osteichtyes: Anostomidae) naturally ibfected by Goezia leporine (Nematoda: Anisakidae) in fish pond; Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., V. 56, N. 5,p.640-646.

20-Poole, B. C. and Dick, T.A., 1985. Parasite recruitment by stocked walleye, Stizostedion

vitreumm (Mitchill), fry in small boreal Lake in central Canada. J. Wildlife Dis. 21(4), 371–376.
21-Rehulka. J., 2002. aeromonas causes server skin lesions in Rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) clinical pathology, Hematology and Biochemistry Acta.Vet. BRNO,71:351-360
22-Simmons, A., 1997. Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann , pp : 507.
23- Stolen, J.S., Fletcher T.C., Rowley A.F., Zelikoff J.T., Kaattari S.L. and Smith S.A., 1994. Techniques in Fish Immunology-3. SOS Publication, U S A, pp: 121-130.
24-Tavares dias, M., Ruas de moraes, F., Makoto onaka. E., Bonadio rezende. P.C., 2007. veterinarski Arhive 77 (4), 355-363.
25-Thrall, M.A.,2004.Veterinary Hematology and clinical chemistry . Lippincott Williams & Wilkins ,USA,pp;241,277-288,402.
26-Yamaguti, S., 1964. Systema helminthum,The Digenetic Trematodes of vertebrate - Part H, Inter science Publisher-New York, LTD -London, Vol.1, 800 P.
27- Yanovskaya, L.I. 1976. The feeding of zander in the Northern Caspian. VNIRO.Proceedings.Vol. 117. 34-46.

Relationship between parasitic infection and some hematological parameters of (*Sander lucioperca*) caught of the Caspian Sea part of Anzali coast

Movahed R.[(1)*]; Khara H.[(2)];Sayad Bourani M.[(3)], Ahmadnezhad M.[(4)], Rahbar M.[(1)]

melodi.movahed@yahoo.com

1- Young Researchers and Elite Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan , Iran, P.O.Box:1616.

2- Department of Fishery Science, Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University -Lahijan Branch,Lahijan,Iran,PO.Box:1616.

3-ColdwaterFishesResearchCenter,Tonekabon,Iran,P.O.Box:46815-467.

4- Inland waters Aquaculture Institute, Bandar Anzali, Iran, P.O. Box:66.

Received: June 2013 Accepted: May2014

Abstract

The study parasitic infection on some hematological parameters of Sander lucioperca in the Caspian Sea, The catching of 32 Sander lucioperca caught in the Bandar Anzali coast during fishing season of 2008-2009 (6 month), and this fish transferred lively to aquaculture research center of inner waters. After biometry and age determination of fish,blood-taking has been done. Blood was taken using a syringe from peduncle vein and poured into vials containing Heparin. Hematological parameters in blood samples were measured following laboratory standards methods. Then caught fish were studied internal and external parasitic. Parasites have been separated and determined by the means of valid recognition keys. Results showed that, five species of parasites were identified in this fish which include Diplastomum spathaceum ،Dactylogyrus sp. ،Trichodina sp. ،Achtheres percarumand Eustrongylides excisus. Results obtained indicate that percentage of lymphocyte and neutrophil in parasitized fish (Diplastomum spathaceum, Eustrongylides excisus) was significantly higher ($P<0.05$, Man Whitney) than that in non-parasitized fish.

Keywords: Sander lucioperca, blood parameters, Parasite, Caspian Sea.

*Corresponding author