

## تعیین برخی از شاخص های خونی و بیوشیمیایی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی در سنین مختلف

مهرداد نصری تجن<sup>۱\*</sup>، فروزان باقرزاده لاکانی<sup>۲</sup>، میگل تکلوا<sup>۳</sup>

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر انزلی، بندر انزلی، گیلان

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت، گیلان

۳- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲

### چکیده

پارامترهای خون شناسی شاخص های مفیدی هستند که به منظور ارزیابی شرایط فیزیولوژیک آبزیان در پاسخ به استرس، آلاینده ها و تغییرات فیزیولوژیک و اکولوژیک به کار می روند. در این تحقیق برخی از شاخص های خونی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در سه رده سنی بچه ماهی (۲ تا ۷ ماهه)، ماهی جوان (۱ تا ۲ ساله) و مولدین (۷ ساله) پرورشی مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد گلبول های قرمز (RBC)، تعداد گلبول های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، MCHC، MCH، MCV و شمارش افتراقی گلبول های سفید، پارامترهای بیوشیمیایی الکترولیتی و پارامترهای بیوشیمیایی غیر الکترولیتی در سنین مختلف اندازه گیری شد. بدین منظور از ۳۰ عدد تاسماهی ایرانی پرورشی (۱۰ نمونه بچه ماهی، ۱۰ ماهی جوان و ۵ مولد ماده و ۵ مولد نر) استفاده شد. تجزیه و تحلیل های آماری نشان داد که در پارامترهای خونی WBC، MCHC، MCV، RBC، Hb، درصد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در سنین مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ). پارامترهای بیوشیمیایی غیرالکترولیتی شامل گلوکز، آلبومین، پروتئین کل، تری گلیسرید، کلسترول، اسمولالیتیه و چربی کل در سنین مختلف اختلاف معنی داری نشان داد ولی در مولدین نر و ماده تاسماهی ایرانی فقط در فاکتور آلبومین تفاوت معنی دار آماری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در پارامترهای بیوشیمیایی الکترولیتی در یون های سدیم و کلر در سنین مختلف و مولدین نر و ماده اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ولی در یون های کلسیم و پتاسیم فقط در سنین مختلف تفاوت معنی دار آماری دیده شد ( $P < 0/05$ ). نتایج کسب شده از این تحقیق حاکی از آن است که شاخص های خونی و بیوشیمیایی متاثر از فاکتورهای سن و جنسیت هستند، البته تاثیر عوامل محیطی و تغذیه غیرقابل انکار است.

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus* شاخص های خونی، بچه ماهی، ماهی جوان، مولدین

## مقدمه

بررسی سلامت ماهی مورد استفاده قرار می گیرد (et al. De Pedro 2005). عوامل بیرونی مثل مدیریت (Svobodova et al. 2008)، بیماری (Chen et al. 2005) و استرس (Cnaani et al. 2004) تغییرات عمده‌ای در ترکیب خون ایجاد می کنند. به عنوان مثال تغییر معنی دار در گلوکز، کورتیزول، کلسترول و ترکیبات دیگر خون در اثر جا به جایی و استرس کمبود اکسیژن (هیپوکسی) ایجاد می شود (Skjervold et al. 2001). عوامل دیگری مثل رژیم غذایی و تراکم نیز به طور مستقیم بر پارامترهای بیوشیمیایی خون اثر می گذارند (Coz-Rakovac et al. 2005).

مطالعات زیادی بر روی شاخص های خونی و فعالیت های آنزیمی در سرم گونه های مختلف ماهیان خاویاری از جمله ازون برون (Shahsavani et al. 2010)، فیل ماهی (Falahatkar et al. 2006; Asadi et al. 2006 a; ) (Gharaei et al. 2010; Rajabipour et al. 2010; Ahmadifar et al. 2011)، تاسماهی ایرانی (Asadi et al. 2006 c) انجام شده است. با وجود این، تغییر در ترکیبات و شاخص های خونی در شرایط پرورشی به خوبی مشخص نیست. با توجه به این که در شرایط فعلی استاندارد لازم برای تعیین میزان طبیعی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون دامنه تغییرات آن در انواع ماهیان در شرایط پرورشی در دسترس نیست، بررسی فاکتورهای خون شناختی و بیوشیمیایی می تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری های عفونی خونی و مسمومیت های آبیان ایفا کند. از این رو هدف مطالعه حاضر بررسی برخی از شاخص های خونی و بیوشیمیایی تاسماهی ایرانی در سنین مختلف در شرایط پرورشی است.

## مواد و روش ها

## ماهی و شرایط آزمایش

این تحقیق در بهار و تابستان ۱۳۹۱ در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر انجام شد. ۳۰ عدد ماهی در سه گروه سنی شامل بچه ماهی (۲ تا ۷ ماهه)، ماهی جوان (۱ تا ۲ ساله) و مولدین (۷ ساله) بررسی شدند (۱۰ ماهی برای هر گروه سنی و ۵ مولد نر و ۵ مولد ماده). سیستم پرورشی در یک مکان سرپوشیده (موسسه تحقیقات

ماهیان خاویاری از جمله با ارزش ترین ماهیان جهان هستند که در زمان های گذشته در سرتاسر نیمکره شمالی زمین می زیسته اند ولی بدلیل از بین رفتن زیستگاه ها، تغییرات زیست محیطی، آلودگی های حاصل از فاضلاب های صنعتی، کشاورزی و نفتی و صید بی رویه انسان ها، در معرض خطر قرار گرفته اند (نصری چاری، ۱۳۷۲). ۵ گونه ماهی خاویاری در دریای خزر زندگی می کنند که شامل تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedti*)، شیپ (*Acipenser nudiventris*)، ازون برون (*Acipenser stellatus*) و فیل ماهی (*Huso huso*) می باشند (Kalbassi et al. 2013). تاسماهی ایرانی بیش ترین فراوانی را در بین ماهیان خاویاری در دریای خزر دارد و زمانی بیش از ۶۰٪ صید ماهیان خاویاری در سواحل ایران را تشکیل می داد (Billard and Lecointre, 2001). در سال های اخیر آلودگی آب ها، صید بی رویه، از بین رفتن مناطق تخم ریزی طبیعی و غیره سبب قرار گرفتن تاسماهی ایرانی در لیست گونه های در معرض انقراض شده است (Moghim et al. 2002).

بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روزانه زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان است، از این رو بررسی های خون شناختی نیز یکی از مهم ترین فاکتورهای زیستی در ارزی پروری محسوب می شود (Stoskopf, 1993). از سوی دیگر نوسان فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییر سطح گلوکز به عنوان شاخص بیولوژیک که تحت تاثیر عوامل محیطی نظیر صید، دستکاری، حمل و نقل، نگهداری، تراکم بالا، خواص فیزیکیوشیمیایی آب و غیره قرار می گیرند، اهمیت فراوانی دارند (بهمنی، ۱۳۷۸).

آنالیز شاخص های خونی روشی مناسب برای بررسی سلامت جانوران پرورشی است و می تواند به عنوان یک شاخص موثر و حساس برای بررسی تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک در ماهیان مورد استفاده قرار گیرد (Satheeshkumar et al. 2011). بررسی این شاخص ها اطلاعات قابل اطمینانی در مورد اختلالات متابولیک، کمبود ها و استرس مزمن، قبل از ایجاد علائم بیماری در اختیار ما قرار می دهد (Bahmani et al. 2001). پارامترهای بیوشیمیایی خون نیز برای

پارس آزمون (کرج، ایران) با طول موج ۵۰۰ تا ۵۴۶ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Sysmex, USA) انجام شد.

### آنالیز آماری

ثبت کلیه داده‌های جمع‌آوری شده در هر مرحله و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel, 2007 و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13.0 استفاده شد. پس از کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون Kolmogorov-Smirnov. نتایج هر گروه وزنی به وسیله آزمون واریانس یک طرفه One-Way ANOVA بررسی شد. آزمون Tukey به عنوان Post Hoc برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. برای مقایسه نتایج در مولدین از Student's t-test استفاده شد. تمام آنالیزهای آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ ( $P < 0.05$ ) انجام شد و میانگین داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شد.

### نتایج

نتایج بیومتری ماهیان قبل از خونگیری شامل میانگین وزن، طول کل، طول چنگالی و طول استاندارد تاسماهی ایرانی در سنین مختلف در جدول ۱ و نتایج فاکتورهای خونی تاسماهی ایرانی در سنین مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. میانگین RBC، PCV، Hb، MCHC در تاسماهی ایرانی جوان بیشترین و در بچه ماهی کمترین میزان را داشت. بیشترین WBC در مولدین تاسماهی ایرانی و کمترین میزان آن در بچه‌ماهی مشاهده شد. MCV در بچه تاسماهی ایرانی بیشترین و در ماهی جوان کمترین میزان را داشت. MCH در تاسماهی ایرانی جوان بیشترین و مولدین کمترین میزان را نشان داد.

نتایج شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون تاسماهی ایرانی در سنین مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با افزایش سن درصد لنفوسیت افزایش و درصد نوتروفیل و نوتروفیل به صورت معنی‌دار کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). درصد مونوسیت در تاسماهی ایرانی جوان بیشترین و مولدین کمترین میزان را داشت اما این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

بین المللی تاسماهیان دریای خزر) قرار داشت. آب ورودی، تلفیق آب رودخانه و آب چاه بوده و شرایط فیزیکیوشیمیایی آب برای تمام ماهیان یکسان بود. میزان نور به صورت ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی بود. میانگین دما  $25.3 \pm 3.2$  °C، میانگین اکسیژن محلول  $0.5 \pm 0.7$  mg/L و میانگین pH  $7.8 \pm 0.7$  بود.

### نمونه برداری و اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی

برای جلوگیری از تاثیر احتمالی تغذیه بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی، ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری غذایی قطع شد. خونگیری بلافاصله پس از خارج کردن ماهی‌ها از آب، بدون بیهوش کردن ماهیان و در بچه‌ماهیان با قطع ساقه دم و در ماهیان جوان و مولدین از عروق ساقه دم در قسمت انتهای باله مخرجی، با استفاده از سرنگ هپارینه انجام شد. ۱/۵ میلی لیتر خون جدا شده و برای تهیه نمونه پلاسما با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس پلاسما به وسیله سمپلر جدا شده و برای اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. شمارش سلول‌های خون از باقیمانده نمونه خون (۰/۵ میلی لیتر) در حداقل زمان ممکن با استفاده از روش‌های استاندارد در آزمایشگاه انجام شد. پس از تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی آن با گیمسا، درصد فراوانی هر گروه از لکوسیت‌ها (نوتروفیل، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت) با دو تکرار برای هر نمونه انجام شد (Leonard and McCormick, 2005). اندازه گیری هموگلوبین (Larsen, 1964)، آلبومین (Dati et al. 1996)، پروتئین کل (Johnson et al. 1999) و کلسیم (Baginski et al. 1973) با روش کلرومتریک با استفاده از کیت پارس آزمون (کرج، ایران) و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Sysmex, USA) و براساس طول موج‌های خاص تعیین شده توسط شرکت سازنده کیت محاسبه شد. سدیم و پتاسیم با روش فلیم فتومتر (pfp 7, England) و اسمولالیت با استفاده از دستگاه اسمومتر (Jenway) و اسمولالیت با استفاده از دستگاه اسمولالیت (Osmomat 030-m, Germany) و روش نقطه انجماد انجام شد (Burtis and Bruns, 2008). اندازه گیری گلوکز (Barham and Trinder, 1972) و کلسترول (Siedel et al. 1983) با استفاده از روش آنزیمی و کیت

نتایج پارامترهای بیوشیمیایی (الکترولیتی) خون تاسماهی ایرانی در سنین مختلف در جدول ۵ ارائه شده است. اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در سدیم، کلر، کلسیم و پتاسیم بچه ماهی، ماهی جوان و ماهیان مولد ملاحظه شد ( $P < 0.05$ ). میزان کلسیم و پتاسیم در مولدین نر و ماده اختلاف معنی داری نشان نداد ( $P > 0.05$ ), اما مولدین در یون های سدیم و کلر اختلاف معنی دار داشتند ( $P < 0.05$ ).

نتایج پارامترهای بیوشیمیایی (غیرالکترولیتی) خون تاسماهی ایرانی در سنین مختلف به ترتیب در جدول ۴ ذکر شده است. اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در پروتئین کل، کلسترول، چربی کل، تری گلیسرید، اسمولالیتیه و پتاسیم بچه ماهی، ماهی جوان و مولدین ملاحظه شد، اما ماهیان مولد نر و ماده با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ( $P > 0.05$ ). اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در آلومین، کلر، سدیم و گلوکز بچه ماهی، ماهی جوان و ماهیان مولد مشاهده شد. همچنین ماهیان مولد نر و ماده گونه تاسماهی ایرانی با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۱- میانگین وزن، طول کل، چنگالی و استاندارد تاسماهی ایرانی در سنین مختلف ( $n=10$ ).

گروه سنی	بچه ماهی	جوان	مولد	
			ماده	نر
وزن (گرم)	$5/23 \pm 0/37$	$20/66 \pm 233/18$	$120/72 \pm 620/79$	$9560 \pm 560$
طول کل (سانتی متر)	$11/01 \pm 0/23$	$81/6 \pm 2/95$	$134/8 \pm 4/29$	$129/5 \pm 2/92$
طول چنگالی (سانتی متر)	$2/43 \pm 0/25$	$71/7 \pm 2/51$	$121/9 \pm 2/48$	$116/1 \pm 3/26$
طول استاندارد (سانتی متر)	$8/44 \pm 0/21$	$64/8 \pm 2/37$	$112/3 \pm 2/45$	$107/1 \pm 3/03$

جدول ۲- میانگین فاکتورهای خونی گونه تاسماهی ایرانی در سنین مختلف ( $n=10$ ).

پارامترهای خونی	بچه ماهی	جوان	مولد	
			نر	ماده
هماتوکریت (/.)	$17/9 \pm 0/92$	$19/6 \pm 1/05$	$20 \pm 0/71$	$18/6 \pm 2/09$
هموگلوبین (g/dL)	$3/44 \pm 0/39^b$	$5/93 \pm 0/36^a$	$3/96 \pm 0/5^b$	$4/45 \pm 0/55^b$
گلبول قرمز (تعداد در $mm^3$ )	$435000 \pm 22422/71^c$	$703000 \pm 27367/86^a$	$594000 \pm 45232/73^b$	$548000 \pm 38131/35^b$
MCV (fL)	$405/74 \pm 13/59^a$	$286/21 \pm 17/05^b$	$342/55 \pm 21/17^b$	$292/1 \pm 28/53^b$
MCH (pg/cell)	$72/04 \pm 6/1$	$82/02 \pm 6/47$	$68/75 \pm 10/56$	$67/91 \pm 2/21$
MCHC (%)	$17/8 \pm 1/41^b$	$28/57 \pm 1/37^a$	$19/71 \pm 2/03^b$	$24/11 \pm 2/29^b$
گلبول سفید (تعداد در $mm^3$ )	$14250 \pm 1938/28^b$	$22600 \pm 2570/99^b$	$35400 \pm 4910/19^a$	$30200 \pm 2300^a$

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳- شمارش افتراقی گلبول‌های سفید تاسماهی ایرانی در سنین مختلف (n=۱۰).

مولد		جوان	بچه ماهی	گلبول سفید / گروه سنی
ماده	نر			
۹۰/۴ ± ۰/۹۳ <sup>a</sup>	۸۹/۲۵ ± ۱/۶۵ <sup>a</sup>	۸۵ ± ۲/۴۶ <sup>a</sup>	۷۳/۱ ± ۲/۳۷ <sup>b</sup>	لنفوسیت (%)
۱/۴ ± ۰/۴	۱/۷۵ ± ۰/۶۳	۲/۵ ± ۱/۳۲	۱/۷ ± ۰/۴۷	مونوسیت (%)
۶/۸ ± ۰/۳۷ <sup>b</sup>	۷/۷۵ ± ۰/۶۳ <sup>b</sup>	۱۱ ± ۲/۳۳ <sup>b</sup>	۱۸ ± ۱/۴ <sup>a</sup>	نوتروفیل (%)
۱ ± ۰/۴۵ <sup>b</sup>	۱/۲۵ ± ۰/۹۵ <sup>b</sup>	۱/۵ ± ۰/۷۳ <sup>b</sup>	۷/۲ ± ۱/۳۸ <sup>a</sup>	ائوزینوفیل (%)

جدول ۴- پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما خون (غیرالکترولیتی) تاسماهی ایرانی در سنین مختلف (n=۱۰).

مولد		جوان	بچه ماهی	غیرالکترولیت ها / گروه سنی
ماده	نر			
۴/۰۸ ± ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۳/۶۷ ± ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۳/۶۵ ± ۰/۲۱ <sup>a</sup>	۲/۱۱ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	پروتئین کل (mg/dL)
۵/۳۶ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۶/۷۳ ± ۰/۴۲ <sup>a</sup>	۲/۱۳ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۸۹ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	آلبومین (g/dL)
۳۰۹/۴ ± ۶/۱۴ <sup>a</sup>	۲۹۷/۶ ± ۱/۰۳ <sup>a</sup>	۳۰۳/۸ ± ۲/۲۱ <sup>a</sup>	۲۵۷/۳۳ ± ۱۲/۲۴ <sup>b</sup>	اسمولالیته (mosmol/L)
۶۱۲ ± ۶۹/۸۶ <sup>b</sup>	۵۹۹ ± ۴۷/۹۲ <sup>b</sup>	۶۰۶ ± ۳۴/۰۶ <sup>b</sup>	۱۰۵۰ ± ۱۰/۳ <sup>a</sup>	چربی کل (mg/dL)
۵۲/۱۱ ± ۱۲/۱۴ <sup>b</sup>	۳۸/۲۳ ± ۱/۸۸ <sup>b</sup>	۸۰/۳۷ ± ۵/۲ <sup>a</sup>	۶۱/۹۵ ± ۰/۰۴ <sup>ab</sup>	گلوکز (mg/dL)
۹۶/۰۴ ± ۱۲/۱ <sup>a</sup>	۹۸/۲۲ ± ۹/۹۶ <sup>a</sup>	۷۲/۳۹ ± ۵/۶ <sup>ab</sup>	۶۷/۴۹ ± ۶/۶۶ <sup>b</sup>	کلسترول (mg/dL)
۳۲۸/۳۵ ± ۷۲/۴۳ <sup>b</sup>	۳۹۷/۱۴ ± ۴۹/۶۱ <sup>b</sup>	۷۰۶/۴۳ ± ۲۹/۵۷ <sup>a</sup>	۲۶۶/۰۲ ± ۱۶/۱ <sup>b</sup>	تری گلیسیرید (mg/Dl)

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۵- پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما خون (الکترولیتی) تاسماهی ایرانی در سنین مختلف (n=۱۰).

مولد		جوان	بچه ماهی	الکترولیت ها / گروه سنی
ماده	نر			
۸/۸۳ ± ۲/۲۹ <sup>ab</sup>	۴/۴۹ ± ۱/۷۴ <sup>ab</sup>	۱۱/۹۷ ± ۱/۸۷ <sup>a</sup>	۲/۸۵ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	Ca <sup>2+</sup> (میلی گرم در دسی لیتر)
۱۲۰/۱۲ ± ۰/۷۴ <sup>a</sup>	۱۱۵/۳۵ ± ۱/۰۸ <sup>a</sup>	۱۰۸/۱۵ ± ۰/۷۲ <sup>b</sup>	۱۰۱/۳ ± ۰/۵۸ <sup>c</sup>	Cl <sup>-</sup> (میلی اکی والان در لیتر)
۳/۴۴ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۳/۵۵ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۳/۸ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۷/۴۴ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	K <sup>+</sup> (میلی اکی والان در لیتر)
۱۴۸/۵۵ ± ۱/۱۸ <sup>a</sup>	۱۳۹/۱۵ ± ۰/۹۵ <sup>a</sup>	۱۳۵/۲ ± ۰/۴۶ <sup>b</sup>	۱۱۸/۱ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	Na <sup>+</sup> (میلی اکی والان در لیتر)

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند، اختلاف معنی دار دارند (P<۰/۰۵).

استرس ناشی از صید و نمونه گیری، جیره غذایی و شرایط پرورشی (مانند سطح اکسیژن و شوری) هستند. علاوه بر این، اشاره شده است که تفاوت های ژنتیکی، سن، مرحله

بخت عوامل متعددی بر روی فاکتورهای خونی ماهیان اثر می‌گذارند که شامل عوامل محیطی (مانند دما و فصل)،

اسمولالیته و چربی کل در سنین مختلف اختلاف معنی دار نشان دادند، اما در مولدین نر و ماده تاسماهی ایرانی فقط آلبومین تفاوت معنی دار نشان داد. پارامترهای بیوشیمیایی الکترولیتی مانند یون های سدیم و کلر در سنین مختلف و مولدین نر و ماده اختلاف معنی دار نشان دادند، ولی یون های کلسیم و پتاسیم فقط در سنین مختلف تفاوت معنی دار آماری داشتند.

تمام پارامترهای بیوشیمیایی غیر الکترولیتی مانند گلوکز، آلبومین، پروتئین کل، تری گلیسرید، کلسترول، اسمولالیته و چربی کل در سنین مختلف اختلاف معنی دار آماری نشان دادند ولی در مولدین نر و ماده فقط آلبومین تفاوت معنی دار داشت. نقش آلبومین نقش حفظ و نگهداری فشار اسمزی و انتقال برخی از هورمون ها است. در بررسی حاضر با افزایش سن میزان آلبومین افزایش یافت. به نظر می رسد که با افزایش آلبومین در ماهیان بالغ، تنظیم اسمزی و انتقال هورمون های جنسی بهتر انجام می شود. غلظت پروتئین کل پلاسما شاخصی اساسی برای تعیین وضعیت سلامت مولدین محسوب می شود (Swain et al. 2007). میزان پروتئین پلاسما با تغییر حجم پلاسما تغییر می کند که ممکن است ناشی از گرسنگی طولانی مدت یا استرس باشد (Knowles et al. 2006). به طور کلی غلظت پروتئین پلاسما در ماهیان در محدوده ۲-۸ g/dL است (McDonald and Milligan, 1992). در مطالعه حاضر غلظت پروتئین پلاسما در بچه ماهی، ماهیان جوان و مولد به ترتیب  $0.103 \pm 0.11$ ،  $0.121 \pm 0.163$ ،  $0.126 \pm 0.188$  g/dL بود. در مطالعه Knowles و همکاران (۲۰۰۶) بر روی تاسماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) ۳ تا ۵ ساله، میزان پروتئین پلاسما ۶-۲/۸ g/dL گزارش شده است. Asadi و همکاران (۲۰۰۶ a) نیز بر روی فیل ماهی (*Huso huso*) ۳ تا ۴ ساله میزان پروتئین کل را  $41.95-51.5$  g/dL گزارش کرده اند. در ماهی باس راه راه (Hrubec et al. 1997) و قزل آلاهی رنگین کمان (Sano, 1960) نیز مقادیر پروتئین گزارش شده است. گلوکز به عنوان منبع انرژی برای تمام سلول های بدن ضروری است و باید در سطح کافی در پلاسما وجود داشته باشد (Yousefian et al. 2011). افزایش گلوکز ممکن

رسیدگی، جنسیت و سطح فعالیت بر شاخص های خونی اثرگذار می باشند (Knowles et al. 2006).

مطالعات زیادی در مورد تغییرات ناشی از سن یا اندازه پارامترهای خونی و بیوشیمیایی در ماهیان انجام شده است (Satheeshkumar et al. 2011)، اما این مطالعات محدود به مقایسه بین ماهیان جوان و بالغ یا مطالعه روی ماهیان وحشی است، در حالی که عوامل زیادی بر روی تغییرات شاخص های خونی اثر می گذارند (Terry et al. 2001). مطالعات کمی در مورد شاخص های خونی در سنین معین انجام شده است (Terry et al. 2001; Gharaei et al. 2001) که مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعات دیگر را دشوار می کند.

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که میزان هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز در گروه سنی جوان بیشترین و در بچه ماهیان کمترین بوده است. همچنین تعداد گلبول های سفید و درصد لنفوسیت در مولدین بیشترین و در بچه ماهیان کمترین بود. درصد مونوسیت در ماهیان جوان بیشترین و در مولدین کمترین بود. همچنین درصد نوتروفیل و ائوزینوفیل با افزایش سن کاهش یافت و در مولدین کمترین درصد بود. در مطالعه Bahmani و همکاران (۲۰۰۱) در یک بررسی بر روی ۵۴ نمونه تاسماهی ایرانی و فیل ماهی (یک، دو و شش ساله) دریافتند که میزان هموگلوبین، تعداد گلبول های قرمز و سفید با افزایش سن بالا می رود.

در سایر مطالعات Zexia و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقاتی بر روی سلول های خونی تاسماهیان چینی (*Acipenser sinensis*) یکساله دریافتند که بیشترین میزان سلول های خونی در شمارش افتراقی به ترومبوسیت ها تعلق داشت (۶۰/۷۸٪) ولی میزان لنفوسیت ها پایین بود (۱۲/۱٪) در حالی که در بررسی حاضر بیشترین میزان به لنفوسیت تعلق داشت و میزان ترومبوسیت بسیار ناچیز بود.

در بررسی حاضر در پارامترهای خونی WBC، MCV، MCHC، RBC، Hb، درصد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در سنین مختلف اختلاف معنی دار آماری وجود داشت. تمام پارامترهای بیوشیمیایی غیرالکترولیتی مانند گلوکز، آلبومین، پروتئین کل، تری گلیسرید، کلسترول،

(Asadi et al. 2006c). میزان یون های تک ظرفیتی مانند سدیم و کلر که نقش اساسی در تنظیم فشار اسمزی دارند، با افزایش سن افزایش یافت. اسمولالیته به شدت متأثر از میزان یون سدیم است. افزایش اسمولالیته و یون سدیم با افزایش سن نشان می دهد که مکانیسم تنظیم فشار اسمزی در ماهیان مولد بهتر انجام می شود. یون پتاسیم در تنظیم دستگاه عصبی و حرکتی نقش مهمی ایفا می کند (Patriche et al. 2010). در این مطالعه میزان یون پتاسیم با افزایش سن کاهش یافت که نشان دهنده تحرک و واکنش کمتر در مولدین است. یون کلسیم به عنوان پیش ساز هورمون های جنسی در ماهیان محسوب می شود. در بررسی حاضر میزان کلسیم در بچه ماهی، ماهیان جوان و مولد به ترتیب  $0/04 \pm 2/85$ ،  $1/87 \pm 11/97$ ،  $1/54 \pm 6/66$  میلی گرم در دسی لیتر بود. افزایش میزان یون کلسیم در ماهیان مولد گویای افزایش سطح هورمون های جنسی در آنهاست. میزان یون های کلسیم و منیزیم به صورت فصلی تغییر می یابد؛ در فصل قبل از تخم ریزی افزایش یافته و در زمان تخم ریزی و پس از آن به تدریج کاهش می یابد (Srivastava and Srivastava, 1994). در همین راستا در بررسی حاضر افزایش کلسیم در فصل قبل از تخم ریزی مشهود بود. ماهیان جوان کلسیم بالاتری داشتند و در ماهیان مولد کاهش یافت که نشان دهنده تغییر فصلی در میزان کلسیم است. در بررسی حاضر میزان کلسیم در ماهیان مولد ماده بالاتر از مولد نر بود که با نتایج مطالعات دیگر بر روی فیل ماهی ۳ تا ۴ ساله (Asadi et al. 2006 a) مغایرت دارد. در مطالعه Asadi و همکاران (۲۰۰۶ b) میزان کلسیم در تاسماهی ایرانی ماده بالغ، ماده نابالغ، نر بالغ و نر نابالغ به ترتیب  $0/32 \pm 2/29$ ،  $0/31 \pm 1/97$ ،  $0/16 \pm 1/94$  و  $0/28 \pm 2/38$  میلی مول در لیتر گزارش شد. در مطالعات دیگر، میزان کلسترول در تاسماهی پوزه کوتاه ( $12/1 - 6/6$  mg/dL Knowles et al. 2006) در  $14/03$  mg/dL *A. medirostris* (Kieffer et al., 2001) و  $7/21$  mg/dL در *A. transmontanus* گزارش شده است (LeBreton and Beamish, 1998).

است در اثر افزایش تولید یا رهاسازی گلوکز باشد (2004 Aengwanich and Tanomtong). میزان گلوکز به صورت قابل توجهی بین گونه ها متفاوت است و در پاسخ به استرس افزایش می یابد (Percin and Konyalioglu, 2008). همچنین غلظت گلوکز بر اساس اندازه، سن، شرایط تغذیه ای و مرحله رسیدگی متغیر است (McDonald and Milligan, 1992). در مطالعه حاضر بیشترین میزان گلوکز در گروه سنی جوان و کمترین میزان در ماهیان مولد بوده و در مولدین ماده بیش از نر دیده شده است، اما در مطالعه Asadi و همکاران (۲۰۰۶ a) ماهیان ۳ تا ۴ ساله مورد بررسی قرار گرفتند و میزان گلوکز در فیل ماهی نر  $1/54 \pm 6/69$  mmol/L بود و بالاتر از فیل ماهی ماده ( $0/84 \pm 3/42$  mmol/L) قرار داشت. در مطالعه Yousefian و همکاران (۲۰۱۱) نیز میزان گلوکز در ماهی نر، ماده و نابالغ به ترتیب  $0/7 \pm 6/3$  mg/dL،  $0/2 \pm 2/7$  و  $0/4 \pm 3/5$  mg/dL بود که نشان دهنده بالا بودن میزان گلوکز در ماهی نر نسبت به ماده و نابالغ است. میزان کلسترول به دلیل تفاوت در جیره غذایی، فعالیت و رسیدگی جنسی، بین گونه های مختلف و همچنین بین ماهیان یک گونه متفاوت است (McDonald and Milligan, 1992). کلسترول برای رشد و حیات سلول ها در موجودات عالی ضروری است و همچنین، پیش ساز هورمون های استروئیدی مانند پروژسترون، تستوسترون، استرادیول و کورتیزول محسوب می شود (Sorensen and Stacey, 1999; Van Der Kraak et al. 1998; Aengwanich and Tanomtong, 2004). نتایج حاکی از افزایش سطح کلسترول در ماهیان مولد بود که نشان دهنده افزایش هورمون های جنسی در آنهاست. غلظت کلسترول در ماهیان در بررسی حاضر با نتایج مطالعه Knowles و همکاران (۲۰۰۶) بر روی تاسماهی پوزه کوتاه مطابقت دارد. در مطالعه حاضر در بعضی از پارامترهای بیوشیمیایی الکترولیتی مانند یون های سدیم و کلر در سنین مختلف و ماهیان نر و ماده اختلاف معنی دار مشاهده شد، ولی یون های کلسیم و پتاسیم فقط در سنین مختلف تفاوت معنی دار نشان دادند. میزان الکترولیت ها عملکرد سیستم های تعادلی مختلف را در بدن نشان می دهد

بهمنی، م. ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از طریق اثر بر محور HPG و HPI، سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ۲۷۴ ص.

نصری چاری، ع.، ۱۳۷۲. بررسی مقایسه ایی پارامترهای مرفوبیولوژیک چالباش و قره برون سواحل جنوبی دریای خزر در جهت نظریه استقلال قره برون به عنوان گونه تاسماهی ایران (*Acipenser persicus*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، ۱۳۱ ص.

در بررسی حاضر در تاسماهیان مولد نر و ماده آلبومین و یون های سدیم و کلر تفاوت معنی دار آماری نشان دادند. این امر نشان دهنده تاثیر جنسیت بر پارامترهای بیوشیمیایی خون است. در پارامترهای خونی دیگر مانند WBC، Hb، RBC، MCV، MCHC، درصد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل در سنین مختلف اختلاف معنی دار آماری وجود داشت. از سوی دیگر تمام پارامترهای بیوشیمیایی الکترولیتی و غیرالکترولیتی در سنین مختلف اختلاف معنی دار نشان داد و این امر نشان دهنده تاثیر سن بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی خون این گونه است.

#### منابع

- Aengwanich, W., Tanomtong, A. 2004. Hematological and serum biochemical values of white ibis (*Threskiornis melanocephalus*). Songklanakarin Journal of Science and Technology 26: 823-828.
- Ahmadifar, E., Akrami R., Ghelichi A., Mohammadi Zarejabad A. 2011. Effects of different dietary prebiotic insulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Comparative Clinical Pathology 20: 447-451.
- Asadi, F., Hallajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P., Jadidizadeh, F. 2006 a. Serum biochemical parameters of *Huso huso*. Comparative Clinical Pathology 15: 245-248.
- Asadi, F., Masoudifard, M., Vajhi, A., Lee, K., Pourkabir, M., Khazraeinia, P. 2006 b. Serum biochemical parameters of *Acipenser persicus*. Fish Physiology and Biochemistry 32: 43-47.
- Asadi, F., Rostami, A., Pourkabir, M., Shahriari, A. 2006 c. Serum lipid and lipoprotein profile of Asian tortoise (*Agrionemy horsfieldi*) in prehibernation state. Comparative Clinical Pathology 16: 193-195.
- Baginski, E.S., Marie, S.S. Clark, W.L., Zak, B. 1973. Direct microdetermination of serum calcium. Clinical Chimica Acta 46: 46-54.
- Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P. 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry 24: 135-140.
- Barham, D. and Trinder, P. 1972. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 97: 142-145.
- Billard, R., Lecointre, G. 2001. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10: 355-392.
- Burtis, C. A. and Bruns, D. E. 2008. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Sanders Company, Philadelphia, p. 952.
- Chen, Y.E., Jin, S., Wang, G.L. 2005. Study on blood physiological and biochemical indices of *Vibrio alginilyticus* disease of *Lateolabrax japonicas*. Journal of Oceanography in Taiwan Strait 24: 104-108.
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., Hulata, G. 2004. Comparative study of



- biochemical parameters in response to stress in *O. aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research* 35: 1434-1440.
- Coz-Rakovac, R., Strunjak-perovic, I., Hacmanjek, M., Topic, P.N., Lipez, Z., Sostaric, B. 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. *Veterinary Research Communications* 29: 677-687.
- Dati, F., Schumann, G., Thomas, L., Aguzzi, F., Baudner, S., Bienvenu, J., Blaabjerg, O., Blirup-Jensen, S., Carlström, A., Petersen, P.H., Johnson, A.M., Milford-Ward, A., Ritchie, R.F., Svendsen, P.J., Whicher, J. 1996. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 34: 517-520.
- De Pedro, N., Guijarro, A.E., Lopez-Patino, M.A., Marinez-Alvarez, R., Delgado, M. 2005. Daily and seasonal variation in haematological and blood biochemical parameters in tench *Tinca tinca*. *Aquaculture Research* 36: 85-96.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi B., Kalbassi, M., Pourkazemi, M. 2006. Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in beluga sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology* 22: 283-286.
- Gharaei, A., Akrami, R., Ghaffari, M., Karami, R. 2013. Determining age- and sex-related changes in serum biochemical and electrolytes profile of beluga (*Huso huso*). *Comparative Clinical Pathology* 22: 923-927.
- Gharaei, A., Ghaffari, M., Keyvanshokoh, S., Akrami, R. 2010. Changes in metabolic enzymes, cortisol and glucose concentrations of beluga (*Huso huso*) exposed to dietary methylmercury. *Fish Physiology and Biochemistry* 37: 485-493.
- Hrubec, T.C., Robertson, J.L., Smith, S.A. 1997. Effects of temperature on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass (*Morone chrysops* and *Morone saxatilis*). *American Journal of Veterinary Research* 58: 126-130.
- Johnson, A.M., Rohlf, E.M., Silverman, L.M. 1999. Proteins. In: Burtis, C. A. and Brun, D. E. (Eds.). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Sanders Company, 477-540.
- Kalbassi, M.R., Abdollahzadeh, E., Salari-Joo, H. 2013. A Review on aquaculture development in Iran. *Ecopersia* 1: 159-178.
- Knowles, S., Hrubec, T.C., Smith, S.A., Bakal, R.S. 2006. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Veterinary Clinical Pathology* 35: 434-440.
- Larsen, H.N. 1964. Comparison of various methods of hemoglobin detection of channel catfish blood. *Progressive Fish Culturist* 26: 11-15.
- Leonard, J.B.K. and McCormick, S.D. 2005. Changes in haematology during upstream migration to American shad. *Journal of Fish Biology* 54: 1218-1230.
- McDonald, D.G., Milligan, C.L. 1992. Chemical properties of the blood. In: *Fish Physiology*. Hoar, W.S., Randall, D.J., Farrell, A.P. (Eds). *Fish Physiology*, Vol. 12, Part B: The Cardiovascular System, Academic Press, 56-113.
- Moghim, M., Vajhi, A., Veshkini, A., Masoudifard, M. 2002. Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by

- using ultrasonography. *Journal of Applied Ichthyology* 18: 325-328.
- Patriche, T., Patriche, N., Bocioc, E. 2010. Serum biochemical parameters of juvenile stages of the Ossetra sturgeon *Acipenser gueldenstaedti* (Brandt, 1833). *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies* 67:300-303.
- Percin, P., Konyalioglu, S. 2008. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean. *Aquaculture Research* 39: 945-953.
- Rajabipour, F., Shahsavani, D., Moghimi, A., Jamili, S., Mashaii, N. 2010. Comparison of serum enzyme activity in great sturgeon, *Huso Huso*, cultured in brackish and fresh water earth ponds in Iran. *Comparative Clinical Pathology* 19: 301-305.
- Sano, T. 1960. Hematological studies of the culture fishes in Japan. Changes in blood constituents with growth of rainbow trout. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* 46: 77-87.
- Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthil Kumar, D., Jagadeesan, L. 2011. Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. *Comparative Clinical Pathology* 21: 1187-1191.
- Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani, H. 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 39-43.
- Siedel, J., Hägele, E.O., Ziegenhorn, J., Wahlefeld, A.W. 1983. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clinical Chemistry* 29: 1075-1080.
- Skjervold, P.O., Fjaera, S.O., Ostby, P.B., Einen, O. 2001. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 192: 265-280.
- Sorensen, P.W., Stacey, N.E. 1999. Function and evolution of fish hormonal pheromones. In: *Advances in chemical signals in vertebrates*, Johnston, R.E., Müller-Schwarze, D., Robert, E., (Eds.). Plenum Publication, 15-47.
- Stoskopf, M.A. 1993. *Fish Medicine*. Sounders Company, U.S.A., 882 p.
- Svobodova, Z., Kroupova, H., Modra, H., Flajshans, M., Randak, T., Savina, L.V., Gela, D. 2008. Haematological profile of common carp spawners of various breeds. *Journal of Applied Ichthyology* 24: 55-59.
- Swain, P., Dash, S., Sahoo, P.K., Routray, P., Sahoo, S.K., Gupta, S.D., Meher, P.K., Sarangi, N. 2007. Nonspecific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. *Fish and Shellfish Immunology* 22: 38-43.
- Terry, C.H., Smith, S.A., Robertson, J.L. 2001. Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Veterinary Clinical Pathology* 30: 8-15.
- Van Der Kraak, G., Chang, J.P., Janz, D.M. 1998. Reproduction. In: *The Physiology of Fishes*. Evans, D.H. (Ed). CRC Press, 465-491.
- Yousefian, M., Sheikholeslami Amiri, M., Kor, D. 2011. Serum Biochemical Parameter of Male, Immature and Female Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5: 476-481.
- Zexia, G., Weimin, W., Yi, Y., Abbas, K., Dapeng, L., Guiwei, Z., Diana, J.S. 2007. Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon *A. sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 33: 213-222.

## Determination of some hematological and biochemical parameters at different ages of reared Persian sturgeon (*Acipenser persicus*)

Mehrdad Nasri Tajan<sup>1\*</sup>, Forouzan Bagherzadeh Lakani<sup>2</sup>, Meigol Taklu<sup>3</sup>

1- Fisheries Department, Islamic Azad University, Bandar Anzali Branch, Bandar Anzali, Iran

2- Young Researchers and Elite Club, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

3- Aquaculture Department, Islamic Azad University, Rasht Branch, Rasht, Iran

Received 20 December 2015; accepted 1 June 2016

### Abstract

The analysis of blood parameters is a useful indicator in assessing the physiological conditions of aquatic animals in response to stress, pollutants, nutrition, and also physiological and ecological changes. In this study, some hematological parameters of *Acipenser persicus* in three age classes including cultured fingerlings, juveniles and broodstocks were studied in a six-month period (spring and summer 2012). The counts of red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), hematocrit (PCV), hemoglobin (Hb), MCV, MCH, MCHC, electrolyte and non-electrolyte biochemical parameters, and also differential leucocyte count were measured in different age classes. For this reason, 30 Persian sturgeon (10 fingerlings, 10 juveniles, 5 males and 5 females) were used. Statistical results showed significant differences in Hb, RBC, MCV, MCHC, WBC, lymphocyte (%), neutrophil (%) and eosinophil (%) in different age classes of this species ( $P<0.05$ ). There were significant differences in non-electrolyte biochemical parameters such as glucose, albumin, total protein, triglyceride, cholesterol, osmolality and total lipid at different ages ( $P<0.05$ ). Significant differences were observed in electrolyte biochemical parameters including sodium and chloride ions at different age classes and also at females and males. It was also true for calcium and potassium ions at different ages ( $P<0.05$ ). Based on the results, it can be concluded that the hematological and biochemical parameters are affected by age and sex of fish although the effects of environmental and nutritional parameters are inevitable.

**Keywords:** Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, Hematological parameters, Fingerlings, Juvenile, Broodstock

\* Corresponding author: Nasri\_mehrdad@yahoo.com