تغــذیه آبزیــان
سال سوم، شماره اول،
بهار و تابستان ۱۳۹۶

مقایسه فصلی آنزیم های کبدی و پارامترهای خونی فیل ماهیان پرواری در پن

مینا رنگرز*[۱]، حجت الله جعفریان[۲]، کیاوش گلزاریان پور[۱]، سید مصطفی عقیلی نژاد[۳]
۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان
۲- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، گلستان
۳- مدیریت ماهیان خاویاری استان گلستان

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۲۱

چکیده
این پژوهش به منظور ارزیابی فاکتورهای خونی فیل ماهیان ۳ تا ۴ ساله پرورشی در پن در مرکز صید و فراوری آشوراده (چالاشت) واقع در حوضه جنوبی دریای خزر، در فصول مختلف سال طراحی و انجام شد. به این منظور، نمونه برداری از خون ۱۰ قطعه فیل ماهی پرورشی در هر فصل از هر یک از پن‌های تحت مطالعه (سه عدد پن) با وزن متوسط (۷۵۷/۳۲ g ± ۲۶۹۸/۰۱) و میانگین طول کل (۵/۵۳ cm ± ۷۷/۹۸) انجام و میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و تعداد کل یاخته‌های قرمز و تعداد کل یاخته‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین، شاخص‌های یاخته‌های قرمز در فصول مختلف سال اندازه‌گیری (از پاییز ۱۳۹۳ تا تابستان ۱۳۹۴) شد. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطوح آنزیم‌ها در فصول مختلف وجود داشت ($P<۰/۰۵$). پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمینوتراسفرازی و آلانین آمینوترانسفراز در فصل پاییز مشاهده گردید. به استثنای متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای که در بهار در بالاترین حد قرار داشت، مابقی پارامترهای خونی ذکر شده در پاییز به بالاترین میزان خود قرار داشتند. تعداد گلبول‌های سفید ($۶/۶۷ \pm ۰/۳۵ \times ۱۰^{۳}/mm^{۳}$)، گلبول‌های قرمز ($۰/۹۷ \pm ۰/۰۱ \times ۱۰^{۶}/mm^{۳}$) و مقادیر هموگلوبین ($۶/۹۶ \pm ۰/۱۵$ g/dL) در فصل زمستان و سطوح هماتوکریت ($۲۱/۸۰ \pm ۰/۶۲$٪)، متوسط حجم سلول قرمز و متوسط هموگلوبین ذره‌ای به‌ترتیب $۱۸۷/۵۰ \pm ۳/۸۷$ fL و $۶۳/۳۶ \pm ۱/۴۵$ pg/cell در بهار پایین بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که شاخص‌های خونی در فصل‌های مختلف دارای نوسان بوده، می‌تواند به عنوان شاخص‌های سلامت در این ماهیان مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: دریای خزر، تغییرات فصول، خون شناسی، آنزیم‌های کبدی، فیل ماهی (*Huso huso*).

* نویسنده مسئول: mina.rangraz@gmail.com

مقدمه

ماهیان خاویاری به دلایلی نظیر جثه بزرگ، سهولت در صید، گوشت لذیذ و خاویار مطبوع همواره به عنوان گونه های با ارزش تجاری مورد توجه هستند (Peter, 2000). گونه فیل ماهی از بزرگترین ماهی خاویاری از نظر جثه در دریای خزر می‌باشد که خاویار آن ممتاز، درشت و بسیار گرانبهاست (بهمنی، ۱۳۷۸). متاسفانه جمعیت این ماهیان امروزه به خاطر عوامل انسان‌ساز چون ساخت سدها، آلودگی آب‌ها و صید بی‌رویه برای گوشت و تولید خاویار کاهش یافته است (Asadi et al. 2006) این گونه به دلیل رشد سریع و تولیدمثل آن در محیط محصور و مقاومت آن به شرایط مناسب پرورشی برای پرورش در آب‌های داخلی بسیار مناسب می‌باشد (Falahatkar et al. 2009). مطالعات خون شناسی در گونه‌های مختلف آبزیان این نکته را به اثبات رسانده است که فاکتورهای محیطی و بیولوژیک نظیر کیفیت آب (Wilhelm et al. 1992)، فصل (Collazos et al. 1998)، جنسیت (Řehulka et al. 2004)، استرس (Benfey and Biron, 2000)، گونه (Orun et al. 2003)، سن (خواجه و همکاران، ۱۳۸۳)، میزان تحرک ماهی و اسیدیته آب (Houston and De Wilde, 1969)، وزن، تغذیه، باکتری‌ها، انگل‌ها (Steinhagen et al. 1990) و غیره می‌توانند مقادیر خونی ماهی را تحت تاثیر قرار دهند.

آنزیم‌ها برای متابولیسم طبیعی سلول‌ها لازم و ضروری هستند و میزان فعالیت آن‌ها به عنوان مارکرهای بیوشیمیایی حساس در نظر گرفته می‌شود و به طور وسیعی برای ارزیابی وضعیت سلامت در انسان و آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. فعالیت آنزیمی در مواجهه با آلاینده‌ها می‌تواند به دلیل از بین رفتن و یا تغییر ماهیت (دناتوره شدن) مکان‌های فعال آنزیمی، سرکوب یا کاهش می‌یابد (Savari et al. 2010).

آمینوترانسفرازها به عنوان شاخص‌های فعالیت کبد به کار می‌روند و جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (Shalaby, 2005) و شامل آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز می‌باشد. این آنزیم‌ها در سرم خون، سیتوپلاسم و میتوکندری و بافت‌های مختلف وجود دارند و فعالیت آن‌ها نماینده وضعیت فیزیولوژیک سلول می‌باشد (Martinez-Porchas et al. 2011).

نوسانات فصلی فاکتورهایی هستند که پارامترهای هماتولوژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین آگاهی از چگونگی نوسان پارامترهای هماتولوژیک در زمان‌های مختلف به تشخیص وضعیت فیزیولوژیک ماهی کمک زیادی می‌کند. با توجه اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر شرایط محیطی بر فیزیولوژی فیل ماهیان در حصار، واقع در منطقه خلیج گرگان صورت نگرفته است، هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر تغییرات فصلی بر برخی از آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های خونی در فیل ماهی پرورشی در حصار می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از تعداد ۱۰ قطعه فیل ماهی پرورشی در هر فصل به صورت تصادفی از هر یک از پن‌های تحت مطالعه (سه عدد پن) با سن ۳ تا ۴ ساله با وزن متوسط (۷۵۷/۳۲ ± ۲۶۹۸/۰۱ گرم) و میانگین طول کل (۵/۵۳ ± ۷۷/۹۸ سانتیمتر) از پاییز ۱۳۹۳ تا تابستان ۱۳۹۴ در مرکز صید و فراوری آشوراده (چالاشت) واقع در حوضه جنوبی دریای استفاده گردید. ماهیان پس از نمونه‌برداری به صورت مجزا و بیهوش‌سازی با عصاره گل میخک (۳۰ ppm) ابتدا مورد زیست سنجی قرارگرفتند و سپس با استفاده از سرنگ با حجم ۵ میلی لیتر از سیاهرگ دمی و از پشت باله مخرجی ماهیان خونگیری صورت گرفت.

مطالعه هماتولوژی به دو بخش مطالعات سرم خونی و مطالعه معیارهای خونی تقسیم شد. برای اندازه‌گیری معیارهای خونی از قبیل تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، درصد هماتوکریت و هموگلوبین، نمونه‌های خون تهیه شده درون ویال‌های حاوی۲۰ میکرولیتر ماده ضد انعقاد هپارین ریخته شدند. در بخش مطالعه سرم، خون تهیه شده بدون افزودن ماده ضد انعقاد به مدت ۳۰ دقیقه درون ویال‌ها به حال خود رها شدند و سپس با دور ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا سرم از خون جدا شود.

تعیین میزان آنزیم‌ها

آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با

استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر مدل اپندروف (Ependorf, EPOS) ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شدند.

اندازه گیری معیارهای خونی

تعداد کل یاخته‌های سفید و قرمز

تعداد گلبول‌های قرمز خون و تعداد گلبول‌های سفید خون پس از رقیق‌سازی خون به ترتیب به نسبت ۲۰۰ و ۵۰ برابر با استفاده از لام هماتوسیتومتر شمارش گردید (Houston, 1985). شمارش کلی گلبول‌های قرمز و سفید ماهی به روش دستی و با استفاده از لام نئوبار صورت گرفت. برای این کار و برای رقیق نمودن نمونه از محلول رقیق کننده Natt- Herrick استفاده شد (Bullis, 1993).

درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین خون و شاخص‌های گلبول قرمز

مقدار هموگلوبین به روش استاندارد با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی، تهران و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام (Houston, 1990) و مقدار هماتوکریت با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ میکروهماتوکریت صورت پذیرفت (Svetina et al. 2002).

شاخص‌های یاخته‌های قرمز خون از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Anderson and Klontz, 1965):

$$MCV= (Hct \times ۱۰) /RBC$$

$$MCH= (Hb \times ۱۰) /RBC$$

$$MCHC= (MCH/MCV) \times ۱۰۰$$

روش آماری (تجزیه و تحلیل داده‌ها)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۷) از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت. کلیه داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار ارایه شده‌اند.

نتایج

معیارهای کیفی آب

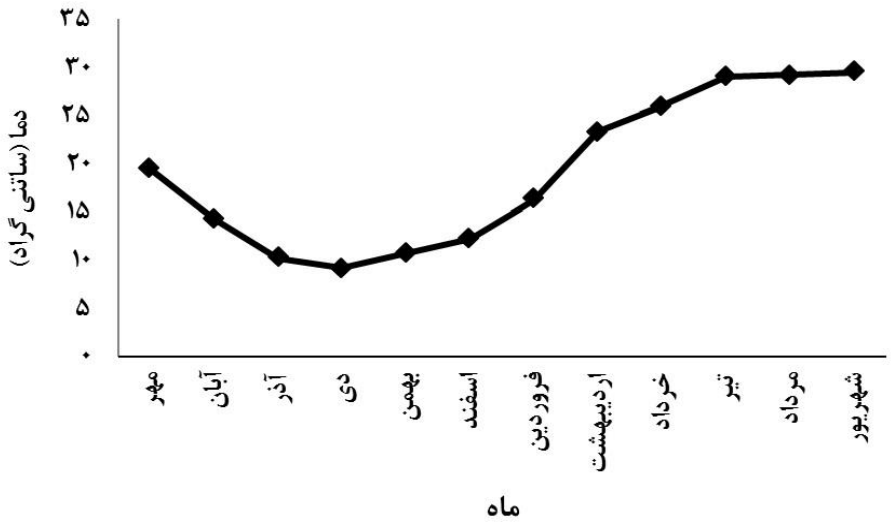
معیارهای کیفی آب شامل دما، شوری، اکسیژن آب و pH در ماه‌های مختلف سال اندازه‌گیری گردید. تغییرات pH آب در فصول مختلف سال بین ۹/۱۴-۸/۲ متغیر بود.

تغییرات دما

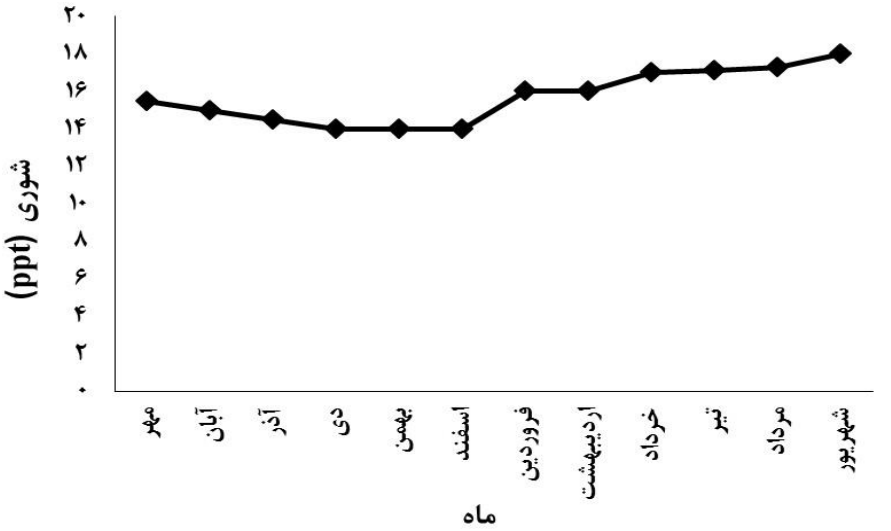
تغییرات دما از ۹/۰۲ (در فصل زمستان) تا ۲۹/۵ درجه سانتیگراد (در فصل تابستان) متغیر بود. تغییرات ماهانه دما در شکل زیر نشان داده شده است (شکل۱).

تغییرات شوری

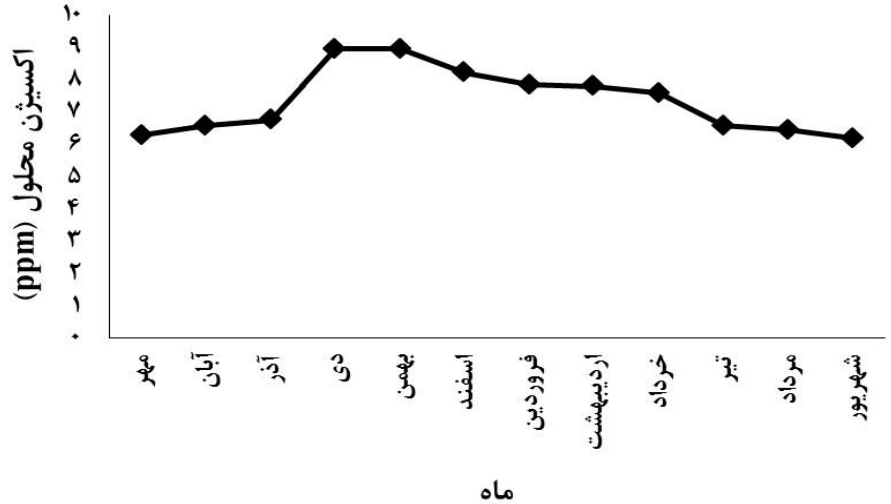
نتایج حاصل از بررسی روند تغییرات شوری نشان داد که میانگین محدوده تغییرات شوری بین ۱۴ تا ۱۸ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. بیشترین میزان شوری اندازه‌گیری شده معادل ۱۸ mg/L در فصل تابستان و کمترین میزان شوری در فصل زمستان (۱۴ mg/L) به دست آمد (شکل ۲).



شکل۱- تغییرات دمای آب در ماه‌های مختلف سال (مهر ۹۳ تا شهریور ۹۴).



شکل۲- تغییرات شوری آب در ماه‌های مختلف سال (مهر ۹۳ تا شهریور ۹۴).



شکل ۳- تغییرات اکسیژن محلول آب در ماه‌های مختلف سال (پاییز ۹۳ تا تابستان ۹۴).

تغییرات اکسیژن آب

نتایج حاصل از بررسی روند تغییرات اکسیژن محلول در آب محیط پرورش فیل ماهی نشان داد میانگین بیشترین میزان اکسیژن آب در فصل زمستان (۸/۷۱ ppm) و کمترین میزان اکسیژن در فصل تابستان معادل ppm ۶/۲ می‌باشد (شکل۳).

تاثیر فصول بر تغییرات آنزیم‌های کبدی و فاکتورهای خونی فیل ماهیان در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد، تغییرات فصلی بر اکثر پارامترهای خونی و آنزیم های کبدی اثر گذاشته و تغییرات معنی-داری در فصول مختلف مشاهده شد (P<۰/۰۵).

گلبول سفید

در تعداد گلبول‌های سفید در فصول پاییز و تابستان تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰۵). اگرچه در فصول زمستان و بهار، تفاوت آماری در تعداد گلبول‌های سفید یافت نشد (P>۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید (۹/۶۹ ± ۰/۲۱ × ۱۰^{۳}/mm^{۳}) در فصل پاییز و کمترین تعداد آن (۶/۶۷ ± ۰/۳۵ × ۱۰^{۳}/mm^{۳}) در فصل زمستان مشاهده گردید (جدول۱).

گلبول قرمز

فیل ماهیان، در تعداد گلـبول‌های قرمـز در فصل پاییز و تابستان تفاوت معنی داری نشان دادند (P<۰/۰۵). ولی در طی فصـل‌های زمستان و بهار اختلاف معنی دار مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز (۱/۲۴ ± ۰/۰۶ × ۱۰^{۶}/mm^{۳}) در فصل پاییز و کمترین میزان (۰/۹۷ ± ۰/۰۱ × ۱۰^{۶}/mm^{۳}) نیز در فصل زمستان مشاهده گردید (جدول۱).

هموگلوبین

تغییرات فصلی بر مقادیر هموگلوبین در فصول پاییز و تابستان اثر گذاشته و تفاوت معنی‌دار را نشان داد (P<۰/۰۵). در صورتی که مقادیر هموگلوبین از نظر آماری در فصول زمستان با بهار اختلاف معنی‌دار را نشان نداد (P>۰/۰۵) و می‌توان بیان نمود که هر کدام از فصول پاییز و تابستان نیز با فصول زمستان و بهار دارای اختلاف معنی دار می‌باشند. بیشترین مقدار هموگلوبین در فصل پاییز (۹/۰۷ ± ۰/۲۹ g/dL) و کمترین مقدار (۶/۹۶ ± ۰/۱۵ g/dL) در فصل زمستان مشاهده شد.

هماتوکریت

نتایج حاصل از آنالیز شاخص هموگلوبین نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در فصول زمستان و بهار را نشان داد (P>۰/۰۵). اما در فصول پاییز و تابستان اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین درصد هماتوکریت (۲۹/۷۴ ± ۰/۵۹ درصد) در فصل پاییز و کمترین مقادیر آن (۲۱/۸۰ ± ۰/۶۲ درصد) در فصل بهار بدست آمد.

حجم متوسط گلبولی و متوسط هموگلوبین گلبولی

بر اساس نتایج به دست آمده، مقادیر MCV و MCH در طی کلیه فصول متفاوت بود و مقادیر تمامی فصول با یکدیگر از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار MCV و MCH به ترتیب ۲۴۷/۱۰ ± ۲/۴۰fL و ۷۵/۴۱ ± ۱/۵۳ pg/cell در فصل پاییز و کمترین مقادیر این دو شاخص به ترتیب ۱۸۷/۵۰ ± ۳/۸۷ fL و ۶۳/۳۶ ± ۱/۴۵ pg/cell در فصل بهار بدست آمد.

غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص MCHC نشان داد، تغییرات فصلی بر مقادیر MCHC در فصول زمستان و بهار تاثیر گذاشته و دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). همچنین مقادیر MCHC در فصول پاییز با تابستان از نظر آماری اختلاف معنی دار ندارند (P>۰/۰۵). بیشترین مقدار (۳۳/۷۹ ± ۰/۴۶ g/dL) در فصل بهار و کمترین مقدار MCHC در فصل پاییز (۳۰/۵۳ ± ۰/۴۲ g/dL) دیده شد.

جدول ۱- تغییرات مقادیر فاکتورهای خونی فیل ماهیان پرورشی در پن در فصول مختلف (میانگین ± انحراف معیار).

پارامترهای خونی و آنزیمی	فصول			
	پاییز	زمستان	بهار	تابستان
AST (IU/L)	۲۲۹/۳۳ ± ۱۱/۹۳^{c}	۳۳۸/۰۰ ± ۱۱/۲۶^{b}	۴۱۸/۳۳ ± ۶/۴۲^{a}	۳۳۷/۳۳ ± ۳۰/۲۳^{b}
ALT (IU/L)	۵/۶۶ ± ۱/۰۱^{c}	۴۲/۶۶ ± ۵/۱۳^{a}	۱۰/۶۶ ± ۲/۸۸^{c}	۱۹/۰۰ ± ۴/۳۵^{b}
ALP (IU/L)	۳۰۹/۵۰ ± ۴۲/۵۰^{b}	۴۴۷/۰۰ ± ۱۲/۱۶^{b}	۳۵۱/۳۳ ± ۱۳/۰۵^{b}	۷۸۹/۶۶ ± ۲۰۷/۸۷^{a}
WBC (×۱۰^{۳}/mm^{۳})	۹/۶۹ ± ۰/۲۱^{a}	۶/۶۷ ± ۰/۳۵^{c}	۶/۸۳ ± ۰/۳۰^{c}	۸/۹ ± ۰/۴^{b}
RBC (×۱۰^{۶}/mm^{۳})	۱/۲۴ ± ۰/۰۶^{a}	۰/۹۷ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۱۶ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۱۳ ± ۰/۰۰۹^{b}
Hemoglobin (g/dL)	۹/۰۷ ± ۰/۲۹^{a}	۶/۹۶ ± ۰/۱۵^{c}	۷/۸۰ ± ۵/۶۰^{c}	۸/۱۶ ± ۰/۲۵^{b}
Hematocrit (%)	۲۹/۷۴ ± ۰/۵۹^{a}	۲۲/۱۳ ± ۰/۳۵^{c}	۲۱/۸۰ ± ۰/۶۲^{c}	۲۴/۷۳ ± ۰/۵۰^{b}
MCV (fL)	۲۴۷/۱۰ ± ۲/۴۰^{a}	۲۲۶/۶۳ ± ۱/۱۸^{b}	۱۸۷/۵۰ ± ۳/۸۷^{d}	۲۱۸/۲۳ ± ۲/۶^{c}
MCH (pg/cell)	۷۵/۴۱ ± ۱/۵۳^{a}	۷۱/۳۳ ± ۰/۷۳^{b}	۶۳/۳۶ ± ۱/۴۵^{c}	۷۲/۰۳ ± ۱/۶۵^{b}
MCHC (g/dL)	۳۰/۵۳ ± ۰/۴۲^{b}	۳۱/۵۰ ± ۰/۲۶^{c}	۳۳/۷۹ ± ۰/۴۶^{a}	۳۳/۰۰ ± ۰/۳۶^{b}

در هر ردیف حروف لاتین غیر مشترک نشانه معنی‌دار بودن است (P<۰/۰۵).

آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)

نتایج نشان دهنده اختلاف معنی‌دار مقدار AST در فصول مورد بررسی است (P<۰/۰۵). مقدار آنزیم AST در فصول زمستان و تابستان تفاوت معنی دار نداشت (P>۰/۰۵)، اما در فصول پاییز و بهار تفاوت معنی دار را نشان داد. همچنین فصول پاییز و بهار با فصول زمستان و تابستان از نظر آماری دارای اختلاف آماری معنی دار بودند (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار (۲۲۹/۳۳ ± ۱۱/۹۳ IU/L) در فصل بهار و کمترین میزان (۴۱۸/۳۳ ± ۶/۴۲ IU/L) در فصل پاییز مشاهده شد. فصول زمستان و تابستان نیز اختلاف معنی داری نداشتند (P>۰/۰۵).

آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)

غلظت آنزیم ALT در سرم خون فیل ماهیان پرورشی در فصول مختلف اختلاف معناداری دارد (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد مقادیر آنزیم ALT در فصول پاییز با بهار اختلاف معنی‌دار ندارند، در صورتی که فصول زمستان با تابستان و همچنین فصول زمستان و تابستان با فصول پاییز و بهار دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار این آنزیم در سرم خون فیل ماهی (۵/۶۶ ± ۱/۰۱ IU/L) در فصل پاییز و بیشترین مقدار معادل ۴۲/۶۶ ± ۵/۱۳ IU/L در فصل زمستان به دست آمد.

آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)

بیشترین مقدار غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز (۷۸۹/۶۶ ± ۲۰۷/۸۷ IU/L) در فصل تابستان و کمترین میزان در فصل پاییز معادل ۳۰۹/۵۰ ± ۴۲/۵۰ IU/L مشاهده شد. تنها مقدار آنزیم ALP در فصل تابستان از نظر آماری با سایر فصول اختلاف معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). به عبارت دیگر در میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز سایر فصول (پاییز، زمستان و بهار) تفاوت معنی‌دار دیده نشد (P>۰/۰۵).

بحث

تحقیقات مختلف نشان داده است که آنزیم‌های سرم خون می‌تواند تحت شرایط محیطی تغییر نماید و بسته به گونه ماهی، شرایط پرورشی، میزان تغییرات پارامترهای محیطی این تغییرات متفاوت خواهد بود (غیاثی و همکاران، ۱۳۸۹). گزارش‌های مستند و کافی در مورد میزان طبیعی آنزیم‌های سرم در ماهیان خاویاری ارائه نگردیده و اغلب گزارش‌ها در مورد کپور ماهیان و آزاد ماهیان می‌باشد.

در خصوص تغییرات فصلی آنزیم‌های ترانسفرازی و آلکالین فسفاتاز متاسفانه تحقیقات زیادی صورت نگرفته است و بیشتر تحقیقات در مورد فاکتورهای خونی بوده است. در این رابطه Matsche و همکاران (۲۰۱۲) در

مطالعه بر تاسماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) گزارش کردند که میزان آنزیم AST از فصول مختلف تاثیر پذیری داشته است، به طوری که کمترین میزان AST در هر دو جنس نر و ماده در فصل پاییز و بیشترین میزان نیز در هر دو جنس، در فصل بهار بدست آمده است که با یافته‌های حاصل از تحقیق ما همخوانی داشت.

یافته‌های محققین نشان می‌دهد که سطوح مختلف شوری می‌تواند بر میزان فعالیت آنزیم‌ها اثرگذار باشد. در همین راستا و در تایید نتایج ما، Shalaby (۲۰۰۵) بیان نمود که افزایش شوری می‌تواند منجر به افزایش سطح ALT سرم شود. Rajabipour و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تحقیقی مشابه، به مقایسه فعالیت‌های آنزیم‌های سرمی در فیل ماهیان پرورش یافته در حوضچه های آب شیرین (شهید مرجانی گرگان) و لب شور (بافق) پرداختند و بیان کردند که افزایش شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی می‌گردد. در مطالعه حاضر نیز بالاترین سطح آنزیم ALP در بیشترین میزان شوری در فصل تابستان بدست آمد. همچنین میزان آنزیم AST در فصل بهار نسبت به فصل زمستان و میزان آنزیم ALT در فصل تابستان نسبت به فصول پاییز و بهار با افزایش میزان شوری افزایش یافت که با نتایج دستاورد سایر محققین همخوانی دارد. روال منطقی افزایش آنزیم‌های ترانسفرازی، رهاسازی آمینوترانسفرازها از سلول‌های آسیب دیده است. در واقع، سلول‌های آسیب دیده محتوایشان را که شامل آمینوترانسفراز است به طرف جریان خون رها کرده و باعث می‌شود سطح این آنزیم‌ها در سرم افزایش یابد (Martinez-Porchas et al. 2011). همچنین عوامل همچون جنسیت، آلودگی‌های فیزیکی و شیمیایی نیز می‌تواند بر میزان فعالیت این آنزیم‌ها اثرگذار باشد. بنابراین تغییرات آنزیمی در سرم خون را بایستی در مجموع با عوامل و متغیرهای خونی دیگر در ماهی مورد سنجش و ارزیابی قرار داد و این می‌تواند از نظر مطالعات بالینی اهمیت داشته باشد.

خصوصیات فیزیولوژیک خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ای، فنون نمونه برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه‌ها (Bani and Haghi, 2011)، شرایط محیطی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، سن، مرحله تولیدمثلی، جنسیت، فعالیت‌های فردی، شرایط پرورش، تراکم، اکسیژن محلول و شوری (Hoseinifar et al. 2011) به آسانی تغییر می‌کند و روی مقدار داده‌های هماتولوژی تأثیر می‌گذارد.

مطالعات صورت گرفته بر پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون ماهی نشان می‌دهد که مقادیر پارامترهای خونی می‌تواند تحت تاثیر تغییرات درجه حرارت و میزان اکسیژن آب باشد (Orun et al. 2003). دما علاوه بر اینکه به طور مستقیم متابولیسم را تحت تأثیر قرار می‌دهد به طور غیر مستقیم نیز بر ماهی اثر می‌گذارد. به این ترتیب که میزان انحلال اکسیژن محلول را در آب تغییر داده، به دنبال آن میزان دسترسی ماهی به اکسیژن تغییر می‌یابد که در نهایت قابلیت انتقال اکسیژن توسط خون تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Riggs, 1970). با افزایش دما از حد مناسب برای ماهی، میزان هماتوکریت در گونه تاسماهی پوزه کوتاه کاهش یافت. این کاهش را مرتبط با همولیز گلبول‌ها بیان نمودند (Ziegeweid and Black, 2010).

در مطالعه روضاتی و همکاران (۱۳۹۲)، بیشترین میزان هماتوکریت در پایین‌ترین دما (۲۰ درجه سانتیگراد) مشاهده شد و مقدار آن در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد کاهش یافت. با این وجود میزان هماتوکریت با افزایش مجدد دما (۳۰ درجه سانتیگراد) افزایش پیدا کرد. افزایش هماتوکریت در دما بالا می‌تواند در پاسخ به نیاز متابولیک بیشتر به اکسیژن در دماهای بالاتر باشد. در تحقیق حاضر، میزان هماتوکریت در فصول سرد نسبت به فصل بهار که کاهش دما مشاهده می‌شود، افزایش یافت و مجددا با افزایش دما در فصل تابستان، میزان هماتوکریت افزایش یافت. بنابراین یافته‌های روضاتی و همکاران (۱۳۹۲)، با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعات دیگری از جمله در ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) (Yildiz and Uzbilek, 2001) و قزل آلای انگشت قد (*Salmo gairdneri*) (Zeitoun et al. 1974) نشان داده‌اند که با افزایش غلظت شوری هماتوکریت افزایش یافته است. نتایج یافته‌های محققین اخیر ذکر شده، نتایج ما را در ارتباط با افزایش شوری و افزایش میزان هماتوکریت در فصل تابستان در مقایسه با فصل زمستان که میزان شوری در حداقل می‌باشد، تایید می‌نماید. همچنین در بررسی دوره زندگی ماهیان خاویاری در دریا و رودخانه مشخص شد که با

نزدیک شدن به فصل سرما، تعداد RBC در تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*)، تاسماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*)، فیل‌ماهی (Natochin et al. 1975) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) (یزدانی ساداتی، ۱۳۹۲) کاهش یافت که با نتایج ما مطابقت دارد. محققان گزارش نمودند که کاهش نرخ رشد ویژه و تغذیه ماهی (Domezain et al. 1999) به دلیل کاهش دما در زمستان سبب کاهش تولید اریتروسیت‌ها خواهد شد.

میانگین تعداد یاخته های قرمز فیل ماهیان پرواری در پن از یاخته های قرمز خون ماهی اسکار انگشت قد (*Astronotus ocellatus*) (Firouzbakhsh et al. 2011)، ۵ گونه ماهی استخوانی دریایی سواحل جنوب شرق هند (Satheeshkumar et al. 2011)، ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii*) (Bani and Haghi, 2011) کمتر بود. بنابراین تعداد یاخته‌های قرمز ماهیان کم تحرک (ماهیان خاویاری) نسبت به ماهیان فعال‌تر (ماهیان استخوانی) کمتر است. یافته‌های این پژوهش با نتایج محققین ذکر شده مطابقت داشت، زیرا در این بررسی تعداد یاخته‌های قرمز خون فیل ماهیان پرواری کمتر از ماهیان استخوانی بود.

همچنین مطالعه ما نشان داد که میانگین درصد هماتوکریت و میانگین غلظت هموگلوبین خون به ترتیب کمتر از ۳۰ درصد و ۱۰ گرم در دسی لیتر بود که این یافته‌ها با یافته‌های به‌دست آمده از فیل‌ماهیان مولد پرورشی (Kazemi et al. 2012)؛ تاسماهی پوزه کوتاه جوان (Knowles et al. 2006)، تاسماهی سیبری (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۱)، بچه فیل‌ماهی (Hoseinifar et al. 2011)، تاسماهی ایرانی جوان (*Acipeser persicus*) و فیل‌ماهی جوان پرورشی (Bahmani et al. 2001) منطبق و یا اندکی بیشتر از آن‌ها بود.

در این پژوهش، در تعداد گلبول‌های سفید در فصول پاییز و تابستان تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. در تغییر تعداد لوکوسیت‌ها عوامل مختلفی از جمله فتوپریود (Melingen et al. 2002)، دما (Langston et al. 2002) و غذادهی (Lim and Klesius, 2003) دخالت دارند.

به طور کلی، در بررسی تاثیرگذاری فصل بر پارامترهای هماتولوژی فیل ماهیان پرورشی در پن، بایستی تمامی عوامل محیطی به صورت مجموعه در نظر گرفته شوند. در مطالعات خون‌شناسی ماهیان در محیط‌های طبیعی بر خلاف شرایط آزمایشگاهی، تعیین تاثیر یک پارامتر محیطی به تنهایی میسر نبوده، زیرا امکان حذف تاثیرات دیگر پارامترهای محیطی وجود ندارد. در حالی که در شرایط آزمایشگاهی می‌توان با یکسان سازی سایر شرایط، امکان تاثیر یک پارامتر یا متغییر محیطی را بر خون‌شناسی ماهی تعیین نمود.

سپاسگزاری

از مدیریت محترم ماهیان خاویاری و کلیه کارکنان مرکز فراوری و بهره برداری آشوراده (چالاشت) که طی دوره آزمون با ما همکاری صمیمانه داشتند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

بهمنی، م. ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از طریق اثر بر محور HPI و HPG سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری بیولوژی دریا دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۲۷۷ صفحه.

خواجه، غ.، پیغان ر.، مصباح، م. ۱۳۸۳. بررسی برخی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، انتشارات دانشگاه چمران اهواز، صفحات ۳۳-۲۶.

روضاتی، س. ع.، حقی، ن.، آورجه، س. ۱۳۹۲. اثرات استرس شوری و دما بر فاکتورهای خونی بچه ماهی کپور (*Cyprinus carpio*). مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان ۲: ۱۱۳-۹۵.

کاظمی، ر.، یوسفی‌جوردهی، ا.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، شناور ماسوله، ع.، جلیل پور، ج.، یارمحمدی، م. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه‌ای پارامترهای خونی مولدین وحشی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان ۳: ۴۴-۲۹.

غیاثی، ف.، میرزرگر، س. س.، سالارآملی، ج.، باهنر، ع.، ابراهیم‌زاده موسوی، ح.ع. ۱۳۸۹. مطالعه پارامترهای

خونی و بیوشیمی سرمی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران ۶۵: ۶۶-۶۱.

یزدانی ساداتی، م. ع.، هوشیار، ی.، بانی، ع.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، پور دهقانی، م. ۱۳۹۲. مطالعه روند تغییرات فصلی شاخص‌های خونی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) در محیط محصور. نشریه بهره برداری و پرورش آبزیان ۲: ۱۷-۳۲.

Asadi, F., Halajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P., Jadidizadeh, F. 2006. Serum biochemical parameters of *Huso huso*. Comparative Clinical Pathology 15: 245-248.

Anderson, D., Klontz, G.W. 1965. Basic haematology for the fish culturist. Annual Northweast Fish Culture Conference 16: 38-41.

Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P. 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeon. Fish Physiology and Biochemistry 24: 135-140.

Bani, A., Haghi Vayghan, A. 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). Ichthyology Research 58: 126-133.

Benfey, T.J., Biron, M. 2000. Acute stress in triploid rainbow trout *(oncorhynchus mykiss)* and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture 184: 167-176.

Bullis, R.A. 1993. Clinical pathology of temperate freshwater and estuarine fishes. In: Stoskopf MK (ed) Fish medicine. W.B. Sanders. Co., Philadelphia, pp 232-239.

Collazos, M.E., Ortega, E., Barriga, C. Rodriguez, A.B. 1998. Seasonal variation in haematological parameters in male and female *Tinca tinca*. Molecular and Cellular Biochemistry 183: 165-168.

Domezain, A., Garcia-Gallego, M., Domezain, J., Sanz, A. 1999. Evolution during growth of the biometry and the blood constants of Adriatic sturgeon, *Acipenser naccarii*. Journal of Applied Ichthyology 15: 337-338.

Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H. Li, Y. 2007. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: a comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology 147: 1001-1008.

Falahatkar, B., Poursaeid, S., Shakoorian, M., Barton, B. 2009. Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*. Journal of Fish Biology 75: 784-796.

Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.Kh. and Jani-Khalili, K. 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry 37: 833-842.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S. Darvish Bastami, K. 2011. The study of some haematological and serumbiochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry 37: 91-96.

Houston, A.H., De Wilde, M.A. 1969. Haematology and blood volume of thermally acclimated brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). Comparative Biochemistry and Physiology 28: 877-885.

Houston, A.H. 1985. Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB, (eds). Methods for fish biology. Americanfisheries society: Bethesda, Maryland; 1990; 273-335.20. Graham MS, Fletcher GL, Benfey T.J. Effect of triploidyon blood oxygen content of Atlantic salmon. Aquaculture 50: 133-139.

Houston, C.B. 1990. Blood and Circulation. In: Shreck, C.B and Moyle, P.B.
(Ed.), Methods for fish biology. American Fisheries Society, U.S.A. 273-322.

Kazemi, R., Pourdehghani, M., Dezhandian, S., Hallajian, A., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., Yazdani, M.A., Mohseni, M., Mohammadi Pareshkoh H. yeganeh, H. 2012. Study on the propagation possibility in reared Great Sturgeon (*Huso huso*) by GnRH synthetic hormone for production of fingerling. Iranian Fisheries Research Organization. 80p.

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.

Langston, A.L., Hoare, R., Stefansson, M., Fitzgerald, R., Wergeland, H., Mulcahy, M. 2002. The effect of temperature on non-specific defence parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Fish and Shellfish Immunology 12: 61-76.

Lim, C., Klesius, P.H. 2003. Influence of feed deprivation on hematology, macrophage chemotaxis, and resistance to *Edwardsiella ictaluri* challenge of channel cat fish. Journal of Aquatic Animal Health 15: 13-20.

Martinez-Porchas, M., Hernandez-Rodriguez, M., Davila-Ortiz, J.,Vila-Cruz,V. Ramos Enriquez, J.R. 2011. A preliminary study about the effect of benzo[α] pyrene (BaP) injection on the thermal behavior and plasmatic parameters of the Nile tilapia (*Oreochromisniloticus L.*) acclimated to different temperatures. Pan-American Journal of Aquatic Sciences 6: 76-85.

Matsche, M.A., Rosemary, K.M., Brundage, H.M., O'Herron, J.C. 2012. Hematology and plasma chemistry of wild shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* from Delaware River, USA. Journal of Appllied Ichthyology 29: 6–14.

Melingen, G.O., Pettersen, E.F., and Wergeland, H.I. 2002. Leucocyte populations and responses to immunization and photoperiod manipulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 214: 381-396.

Natochin, Y.V., Luk'yanenko, V.I., Lavrova, Y.A., Metallov, G.F. 1975. Cation content of the blood serum during the marine and river periods in the life sturgeons. Journal of Ichthyology 15: 799-803.

Orun, I., Dorucu, M. Yazlak, H. 2003. Haematological parameters of three cyprinid fish species from karakaya Darn Lake, Turkey. Online Journal of Bioloigcal Sciences 3: 320-328.

Peter, S.M. 2000. Freshwater fish of Britain and Europe. Octopus publishing. Journal of Fish Biology 8: 423-441.

Rajabipour, F., Shahsavani, D., Moghimi, A., Jamili, S., Mashaii, N. 2009. Comparison of serum enzyme activity in great sturgeon, *Huso huso*, cultured in brackish and freshwater earth ponds in Iran. Comparative Clinical Pathology 19: 301-305.

Řehulka, J., Minařík, B., Řehulková, E. 2004. Red blood cell indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aquaculture. Aquaculture Research 35: 529-546.

Riggs, A. 1970. Properties of fish hemoglobins. In: Hoar W.S., Randall, D.J. (eds). Fish Physiology, 4: 209–252.

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.

Savari, A., Hedayati, A., Safahieh, A., Marammazi, J.G. 2010. Determination of some enzymatic indices of Yellowfin sea bream in Mahshahr creeks (North

West of Persian Gulf). World Journal of Fish and Marine Science 2: 475-480.

Shalaby, A. 2005. The opposing effect of ascorbic acid (Vitamin C) on Ochratoxin toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. 6th International Symposium on Tilapia in Aquacaculture, Philipines, 150-157.

Steinhagen, D., Kruse, P., Korting, W. 1990. Some Haematological observations on Carp (*Cyprinus carpio L.*). Experimentally infected with *Trypanoplasma borelli* Laveran & Mesnil. 1901 (Protozoa: Kitenoplastida). Journal of Fish Diseases 14: 157-162.

Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M., Fijan, N. 2002. Hematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. Acta Veterinaria Hungarica 50: 459-467.

Wilhelm, F.D., Eble, G.J., Kassner, G., Caprario, F.X., Dafre, A.L., Ohira, M. 1992. Comparative hematology in marine fish. Comparative Biochemistry and Physiolgy 102: 311-321.

Yildiz, H.Y., Uzbilek, M.K. 2001. The evaluation of secondary stress response of grass *carp* (*Ctenopharyngodon idella*; Val. 1844) after exposing to the saline water. Fish Physiology and Biochemistry 25: 287–290.

Zeitoun, H.I., Ullrey, D.E., Tack, P.I. 1974. Effects of water salinity and dietary protein levels on total serum protein and hematocrit of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 31: 1133-1134.

Ziegeweid, J.R., Black, M.C. 2010. Hematocrit and plasma osmolality values of young-of-year shortnose sturgeon following acute exposures to combinations of salinity and temperature. Fish Physiology and Biochemistry 36: 963-968.

Seasonal comparative of blood factors in farmed Beluga (*Huso huso*) in pen culture

Mina Rangraz[1*], Hojatollah Jafaryan[2], Kiavash Golzarian pour[1], Seyyed Mostafa Aghilinejad[3]

1- Department of Biology, Faculty of Science, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Golestan, Iran

2- Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Golestan, Iran

3- Sturgeon Management of Golestan Province, Iran

Received 19 October 2016; accepted 10 April 2017

Abstract

This study designed to evaluate blood parameters of 3-4 years *Huso huso* on pen in the center of the fishing and processing Ashuradeh (Chalasht) from the Gorgan Bay in different seasons. Blood samples from 10 *Huso huso* with average weight 2698.01 ± 757.32 g and length 77.98 ± 5.53 cm were collected in each season (autumn 2014 to summer 2015) and activity of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and variation in hematological parameters such as hemoglobin, erythrocyte count, leucocytes count, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in the blood samples of fish were measured in each season. There is significant difference in the enzymes levels were observed. ($P<0.05$). The lowest activity of aminotransferases and alanine aminotransferase were also observed in autumn. With the exception of mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) that was the highest in the spring, the other blood parameters mentioned were highest in the autumn. The number of WBC ($6.67 \pm 0.35\times10^3$ mm^3), RBC ($0.97 \pm 0.01\times10^6$ mm^3) and hemoglobin values (6.96 ± 0.15 g/dl) had its lowest level in winter. But the levels of hematocrit (%21.80 ± 0.62), hemoglobin, MCV and MCH values respectively 187.50 ± 3.87 fL and 63.36 ± 1.45 pg/cell showed the lowest level in spring. The results of this study showed seasonal variations effect on haematological parameters in *Huso huso* and should be considered when these parameters are utilized to evaluate fish health status.

Key words: Caspian Sea, Seasonal variations, Hematology, Liver enzymes, *Huso huso*.

*Corresponding author: mina.rangraz@gmail.com