

یافته علمی کوتاه

مطالعه برخی شاخص های ایمنی خون تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در آب های سواحل استان مازندران

علی حلاجیان^{۱*}، محمود بهمنی^۱، رضوان اله کاظمی^۱، سهراب دژندیان^۲، ایوب یوسفی جوردهی^۱،
الهام خزایی^۳

* alihallajian@gmail.com

- ۱- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
- ۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشگاه آبی پروری آب های داخلی - گیلان، بندر انزلی، ص.پ: ۶۶
- ۳- دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات، دانشکده کشاورزی، گروه شیلات، تهران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۱

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۴

کلمات کلیدی: دریای خزر، تاسماهی ایرانی، WBC، RBC، IgM

وسیع دارد. بنابراین دامنه مطلوب پارامترهای خونی در گونه های مختلف را می توان به عنوان یک راهنما جهت بررسی استرس وارده ناشی از تغییرات فیزیولوژیکی استفاده کرد (Martinez et al., 2002). با توجه به وضعیت، تعداد و ریخت یاخته های خونی و نیز ارتباط این فاکتورها با فرآیند های مختلف زیستی، مطالعات گسترده ای روی خون تاسماهیان در سال های اخیر به انجام رسیده است (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

یافته های منتج از پژوهش های خون شناسی و ایمنی ماهیان می تواند پاسخگوی مناسب برای بسیاری از ابهامات در زمینه سلامت، مراحل زندگی، گله های مولد و غیره باشد (Kazemi et al., 2012). ماهیان بشدت

توسعه روز افزون تکثیر و پرورش تاسماهیان در ایران و جهان و لزوم بهینه سازی مدیریت تکثیر، پرورش و بهداشت کارگاه ها، مطالعات خون شناسی و ایمنی را جهت نیل به افزایش امنیت غذایی و کاهش هزینه های اقتصادی تولید ضروری نموده است. تاسماهی ایرانی، یکی از ۵ گونه تاسماهیان دریای خزر بوده و بواسطه گوشت و خاویار آن جزء گونه های با اهمیت و ارزآور کشور بوده بطوریکه در سال های اخیر این گونه بیشترین درصد خاویار طبیعی ایران جهت صادرات را تامین کرده است (حلاجیان، ۱۳۷۷).

خون، حساس ترین بافت بدن نسبت به تغییرات ایجاد شده در موجود زنده است و در تحقیقات آبیان کاربرد

برخی شاخصهای ایمنی غیر اختصاصی ماهی استرلیاد (رئیزی و همکاران، ۱۳۹۳)، اثر پری بیوتیک بر شاخص های خونی بچه ماهی ازون برون (ایری و همکاران، ۱۳۹۴)، بررسی آنتی بادی سرم خون در تاسماهی سفید (Drennan *et al.*, 2007) و بررسی ایمنی خون تاسماهیان اقیانوس اطلس (Sokolowski *et al.*, 2012) اشاره نمود. بر همین اساس این تحقیق با هدف مطالعه خون تاسماهیان ایرانی جوان صید شده در آب های سواحل مازندران در عمق ۲۰ تا ۱۰۰ متری دریای خزر جهت تعیین دامنه طبیعی پارامترهای خونی و ایمنی در کلاس های طولی به انجام رسید.

برای این منظور از ۶۰ قطعه تاسماهی ایرانی جوان صید شده از سواحل جنوبی دریای خزر در منطقه مازندران با استفاده از روش صید ترال از پاییز ۱۳۸۸ تا پاییز ۱۳۹۱ (طی ۷ مرحله) خون گیری شد. خون گیری با سرنگ ۲ سی سی و از ناحیه دمی پشت باله مخرجی صورت گرفت. ماهیان صید شده به ۴ کلاس طولی ۳۵-۱۵، ۴۵-۳۵، ۷۵-۵۵ و ۱۰۰-۷۵ سانتی متر تقسیم شدند. شمارش یاخته های قرمز (RBC) و سفید خون (WBC) با استفاده از لام هموسیتمتر نتوبار دو حجره ای بر حسب میلی متر مکعب خون برای هر نمونه در دو حجره محاسبه گردید. رقت انجام شده برای یاخته های قرمز خون ۱:۲۰۰ و برای یاخته های سفید خون ۱:۲۰ بود. یاخته های قرمز با لنز ۴۰ و یاخته های سفید با لنز ۲۰ میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 شمارش شدند.

گسترش خونی جهت شمارش افتراقی یاخته های سفید خون به روش دو لامی تهیه و با گیمسای ۱۰ درصد رنگ آمیزی شد. برای محاسبه درصد فراوانی هر گروه از یاخته ها (یاخته های مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت) از خون هر ماهی دو اسلاید و از هر اسلاید ۲۰۰ یاخته به روش زیگزاگ شمارش گردید. سرم خونی بدست آمده جهت سنجش IgM در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و سپس در آزمایشگاه به روش Nephelometry با طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری شد.

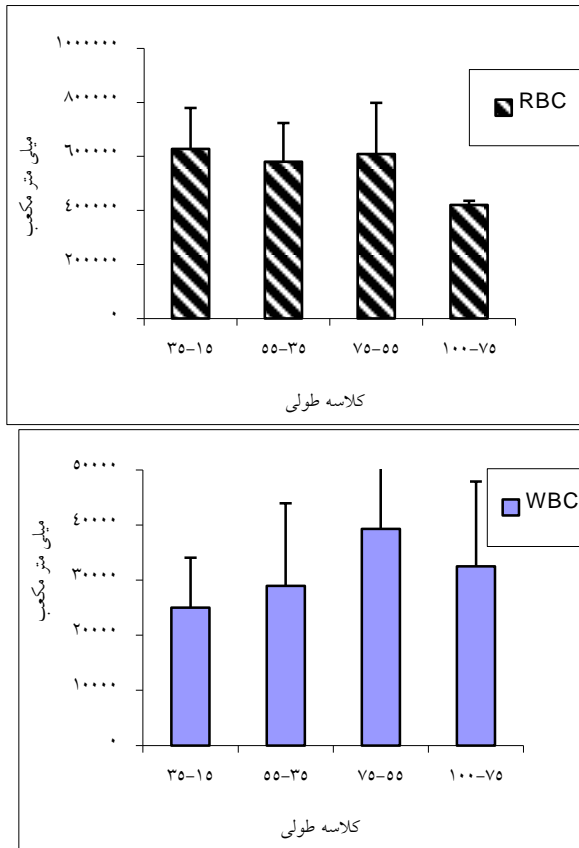
تجزیه و تحلیل آماری جهت ورود اطلاعات و تجزیه و تحلیل داده های حاصل از انجام آزمایش ها و رسم جداول

وابسته به محیط خود هستند و در نتیجه فیزیولوژی بدن آنها تحت تاثیر شرایط محیطی خواهد بود و لذا مقادیر طبیعی فاکتورهای خونی برای هر گروه از ماهیان در یک محیط ممکن است برای گروه دیگر غیر طبیعی باشد. در واقع تغییر پارامترهای خونی، پاسخ یک گونه مشخص ماهی به تغییرات محیط زیست خود، در آن زمان خاص می باشد. ویژگی های فیزیولوژیک خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه ای، فنون نمونه برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه ها (Bani & Haghi Vayghan, 2011)، شرایط محیطی و پرورشی، استرس ناشی از صید و نمونه برداری، رژیم غذایی، سن، مرحله تولید مثلی، جنسیت، تراکم، اکسیژن محلول (Hoseinifar *et al.*, 2011) به آسانی تغییر و روی مقدار داده های هماتولوژی تأثیر می گذارند.

گلبول های سفید خون ماهیان به دو گروه گرانولوسیت (نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل) و اگرانولوسیت (منوسیت و لنفوسیت) تقسیم می شوند (Roberts, 2001). گرانولوسیت به همراه منوسیت ها نقش مهمی را در بیگانه خواری و سیستم ایمنی ذاتی یاخته ای ایفا می کنند (Ellis, 1981; Roberts, 2001; Stoskopf, 1993). IgM دسته ای از مولکول های زیستی ایمونوگلوبولین هستند که در سیستم ایمنی فعال بعنوان اولین دفاع کننده بدن در مقابل باکتری ها می کنند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین گلبول های سفید خون بیشتر در سیستم ایمنی بدن نقش دارند و اندازه گیری مقدار این سلول ها، به همراه IgM یکی از روش های اصلی برای تعیین سلامت یا عدم سلامت در بدن است (Davis *et al.*, 1999).

در این خصوص برخی از مطالعات صورت گرفته بر روی خون تاسماهیان شامل بررسی مقایسه ای پارامترهای خونی مولدین وحشی تاسماهی ایرانی (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۱)، بررسی خونی و بیوشیمیایی بر روی فیلماهی، تاسماهی ایرانی و ازون برون دریای خزر (*et al.*, 2009 ; Asadi 2006a,b)، تاثیر سطوح مختلف بر شاخص های خونی تاسماهی سبیری جوان (ملت دوست، ۱۳۹۰)، اثرات محرک های ایمنی بر برخی از شاخص های خونی بچه فیل ماهیان پرورشی (طاعتی، ۱۳۸۹)، بررسی

های طولی مختلف اختلاف معنی دار وجود نداشت ($p>0.05$).

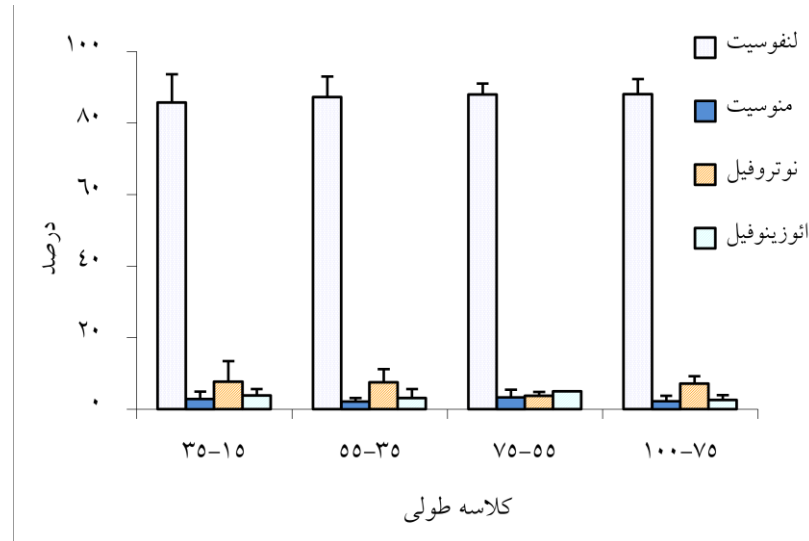


شکل ۱: میانگین تعداد RBC و WBC در کلاس‌های طولی مختلف تاسماهی ایرانی مورد آزمون

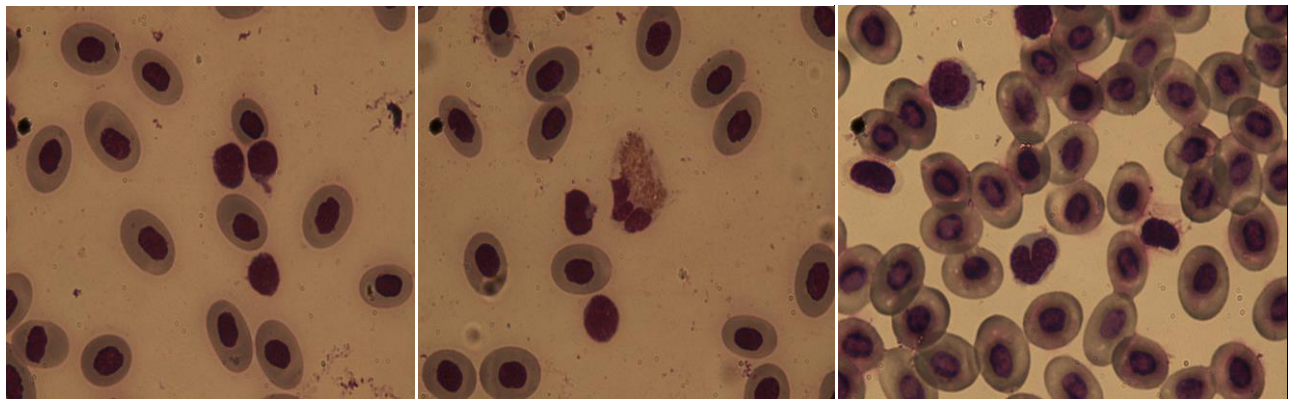
نمودارهای مربوطه از روش‌های آماری نرم‌افزار EXCEL و SPSS14 جهت مقایسه اختلاف میانگین پارامترهای بدست آمده از تست دانکن در سطح ۵٪ استفاده گردید. بررسی‌های زیست‌سنجی از ۶۰ قطعه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نشان داد که حداقل، حداکثر و میانگین وزن آنها به ترتیب ۱۷/۵، ۲۳۰۰ و 410.8 ± 267.6 گرم؛ حداقل، حداکثر و میانگین طول کل به ترتیب ۱۶/۱، ۸۲ و 39.6 ± 19.6 سانتی‌متر؛ و حداقل، حداکثر و میانگین طول چنگالی به ترتیب ۱۴/۲، ۷۰/۵ و 33.6 ± 16.7 سانتی‌متر بود.

بررسی شمارش گلبول‌های خونی تاسماهیان ایرانی جوان صید شده نشان داد که حداقل، حداکثر و میانگین RBC آنها به ترتیب 1.0×10^6 ، 0.22×10^6 و 0.95×10^6 و میانگین 0.585×10^6 میلی‌متر مکعب و حداقل، حداکثر و میانگین WBC آنها به ترتیب ۱۶۰۰۰، ۶۲۵۰۰ و ۳۰۳۰۰ میلی‌متر مکعب بود. شکل یک تعداد گلبول‌های خونی در کلاس‌های طولی را نشان می‌دهد. نتایج مطالعات آماری RBC و WBC بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در کلاس‌های طولی مختلف بود ($p>0.05$).

شمارش افتراقی یاخته‌های سفید خون تاسماهی ایرانی جوان، نتایج نشان داد که بیشترین میانگین درصد افتراقی مربوط به یاخته‌های لنفوسیت (۸۳ درصد) و سپس به ترتیب یاخته‌های نوتروفیل (۸/۳ درصد)، ائوزینوفیل (۵/۶ درصد) و مونوسیت (۲/۹ درصد) بود. شکل ۲ درصد گلبول‌های سفید خون در کلاس‌های طولی و شکل ۳ نمایی از سلول‌های خون را نشان می‌دهد. نتایج مطالعات آماری درصد افتراقی گلبول‌های سفید نشان داد که بین هر درصد هر یاخته در کلاس‌ها



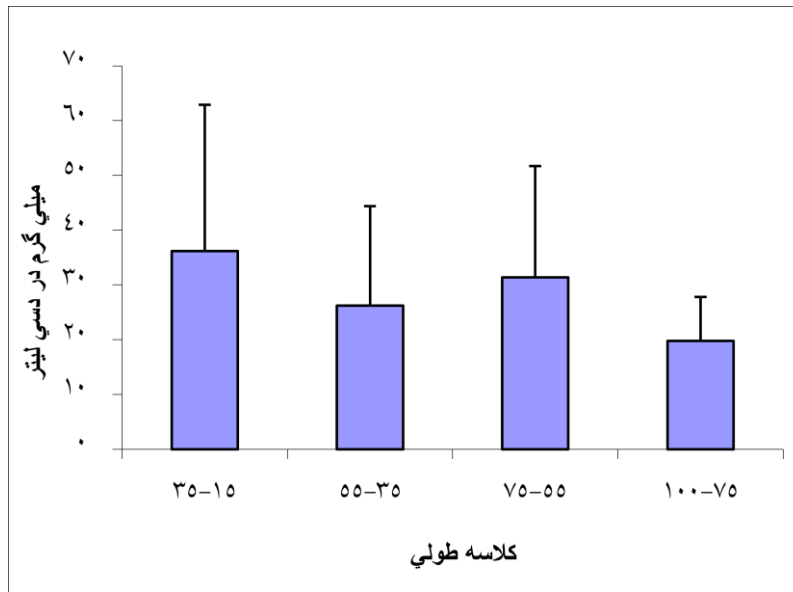
شکل ۲: میانگین درصد افتراقی یاخته های سفید خون در کلاس طولی مختلف تاسماهی ایرانی مورد آزمون



شکل ۳: تصویری از گلبول های قرمز (R)، سفید (لنفوسیت (L)، مونوسیت (M)، نوتروفیل (N)، ائوزینوفیل (E) و ترمبوسیت (T) در خون تاسماهی ایرانی مورد آزمون

طولی این ماهیان را نشان می دهد. نتایج مطالعات آماری در کلاس های طولی IgM اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$).

نتایج حداقل، حداکثر و متوسط غلظت IgM سرم خون اندازه گیری شده در تاسماهیان ایرانی جوان نمونه برداری شده بترتیب ۲/۵، ۸۰ و $20/8 \pm 28/2$ میلی گرم در دسی لیتر بود. شکل ۴ متوسط غلظت IgM برای کلاس های



شکل ۴: میانگین غلظت IgM سرم خون در کلاسه های طولی مختلف تاسماهی ایرانی مورد آزمون

معنی داری با همدیگر نداشتند. Bahmani و همکاران (۲۰۰۱) تعداد گلبول های قرمز خون تاسماهی ایرانی پرورشی ۱ ساله و ۲ ساله را بترتیب ۳۳۱۰۰۰ و ۳۶۱۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب گزارش نمودند. در یک مطالعه، میانگین تعداد گلبول های قرمز مولدین ازون برون وحشی ۱۱۰۰۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۸) و در بررسی دیگر تعداد این یاخته ها در تاسماهی ایرانی و ازون برون های انگشت قد (۳ تا ۵ گرمی) بترتیب $1.06 \times 10^6 \pm 0.02$ ، $1.06 \times 10^6 \pm 0.03$ عدد در هر میلی متر مکعب (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰) گزارش شده است. فارابی و همکاران (۲۰۰۹)، میانگین گلبول های قرمز در بچه تاسماهی شیپ پرورشی آب شیرین را $1.03 \times 10^3 \pm 4/86$ و آب شور را $1.03 \times 10^3 \pm 4/5$ در میلی متر مکعب گزارش نمودند. در بررسی خون تاسماهی سیبری جوان پرورشی مقدار گلبول های قرمز خون با کاهش درجه حرارت آب افزایش یافت و مقدار آن به ۶۵۶۶۶۶ میلی متر مکعب رسید (ملت دوست، ۱۳۹۰). پوردهقانی و همکاران (۱۳۷۸) با مطالعه خون مولدین تاسماهی ایرانی پرورشی و مقایسه آن با خون مولدین دریایی، تعداد گلبول قرمز مولدین دریایی را با اختلاف معنی دار بیشتر از خون

محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن مانند درجه حرارت، مواد غذایی، آلودگی و صید بر مقادیر متابولیت ها و سلول های خونی تاثیر می گذارد و عوامل خونی به عنوان مناسب ترین فاکتور جهت بررسی وضعیت طبیعی موجود زنده با محیط پیرامون خود است که برای دستیابی به وضعیت خونی ماهیان در شرایط خاص زندگی، به تصویر کشیدن سلول های خونی (گلبول های سفید و قرمز) به تناسب گونه، سن، فصول سال و تغییر شاخص های خونی به هنگام بیماری امری ضروری است (Bullis, 1993).

در بررسی حاضر متوسط تعداد گلبول های قرمز خون تاسماهی ایرانی جوان صید شده از سواحل جنوبی دریای خزر در منطقه استان مازندران $1.06 \times 10^6 \pm 15/1$ عدد در هر میلی متر مکعب بود، همانطوری که در شکل یک دیده می شود نتایج کلاسه طولی این ماهیان جوان نشان داد که بیشترین میانگین تعداد گلبول های قرمز خون مربوط به کلاسه طولی ۱۵ تا ۳۵ سانتی متری با ۶۲۷۷۷۸ عدد در هر میلی متر مکعب و کمترین آن مربوط به کلاسه طولی ۷۵ تا ۱۰۰ سانتی متری با ۴۲۰۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب بود، همچنین تعداد گلبول های قرمز در کلاسه طولی پایین، زیاد و با افزایش طول ماهی تعداد گلبول های قرمز کاهش پیدا کرد ولی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین کلاسه های طولی این ماهیان اختلاف

مطالعه خود، میانگین تعداد گلبول های سفید خون بچه تاسماهی ایرانی که در دمای ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتی گراد پرورش یافته بودند ۱۲ هزار در میلی متر مکعب و پرورش یافته را در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، ۱۴ هزار در میلی متر مکعب و همچنین فارابی و همکاران (۲۰۰۹) تعداد این یاخته ها را در بچه تاسماهی شیپ پرورشی آب شیرین $10^3 \times (0.3 \pm 0.16/1)$ و آب شور $10^3 \times (0.3 \pm 0.16/1)$ عدد در میلی متر مکعب گزارش کردند. تعداد گلبول های سفید و ترکیب آن یکی از شاخص های مهم سلامتی ماهی بوده، نشان دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش بدن به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می باشد.

در پژوهش فوق مقدار نفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل تاسماهی ایرانی صید شده در نواحی جنوبی دریای خزر در استان مازندران بترتیب ۸۳/۱، ۲/۹، ۸/۳ و ۵/۶ درصد بود. درصد افتراقی گلبول های سفید در کلاسه های طولی در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی داری نشان نداد (شکل ۲). نفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل گزارش شده توسط بهمنی و همکاران (۲۰۰۱) در تاسماهی ایرانی پرورشی ۱ ساله بترتیب ۷۵/۲، ۱/۱، ۱۸/۵ و ۵/۲ درصد و در تاسماهی ایرانی پرورشی ۲ ساله بترتیب ۷۸/۳، ۱/۱، ۱۷/۸ و ۲/۸ بود. شاهسونی و همکاران (۱۳۷۸)، نفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل را بترتیب ۳۰/۵۷، ۰/۵۱۴، ۵۹/۷۱ و ۹/۴۸ درصد در مولدین ماده ازون برون سواحل جنوب شرقی دریای خزر و در شمارش افتراقی گلبول های سفید خون تاسماهی ایرانی ۳ تا ۵ گرمی بترتیب ۴۵/۸۲±۱/۱۷، ۰/۳۴۲±۰/۱۲، ۴۱/۶±۲/۲۶ و ۱۱/۲±۱/۳۱ درصد و در ازون برون های ۳ تا ۵ گرمی بترتیب ۴۴/۷۷±۱/۲۸، ۱/۴۲±۰/۱۵، ۴۰/۶۲±۲/۲۶ و ۱۲/۶۵±۰/۹۷ درصد گزارش شد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۱). سعیدی و همکاران (۱۳۷۸) درصد نفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل بچه تاسماهی ایرانی پرورش یافته در دمای ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتی را بترتیب ۹۰/۵، ۰، ۸/۵ و ۱ درصد و در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد را بترتیب ۸۹/۵، ۰، ۹ و ۱/۵ درصد گزارش نمودند. Palikova و همکاران (۱۹۹۹) با انجام شمارش

ماهیان پرورشی گزارش نمودند. نیازهای اکسیژنی ماهیان بر اساس سن و شرایط محیطی تغییر می کند به همین دلیل تعداد گلبول های قرمز در هر میلی لیتر خون با توجه به روش ایجاد توازن بین مصرف انرژی برای تولید گلبول قرمز و انرژی لازم برای انتقال خون به بافتها متغیر است. در صورتی که نیاز به اکسیژن زیاد باشد خونی که از نظر تعداد گلبول های قرمز، پایین است نسبت به خونی که گلبول های قرمز بیشتری دارد باید مشخصاً به میزان بیشتری در سراسر بدن پمپ شود (ستاری، ۱۳۸۱). Shi و Sharma (۱۹۸۵) گزارش کردند که کاهش اکسیژن محیط باعث افزایش تعداد گلبول های قرمز و مقادیر هموگلوبین خون می شود. افزایش تعداد گلبول های قرمز می تواند ناشی از استرس شیمیایی محیطی و یا اثر هیپرپلازی بافت آبشش باشد که برای تأمین اکسیژن مورد نیاز، میزان گلبول های قرمز خون افزایش معنی داری را نشان می دهد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعداد گلبول های سفید ۳۰۳۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب بوده، بیشترین میانگین تعداد گلبول های سفید خون در کلاسه طولی ۵۵ تا ۷۵ سانتی متری با ۳۹۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب و کمترین میانگین آن در کلاسه طولی ۷۵ تا ۱۰۰ سانتی متری با ۲۲۰۰۰ عدد در هر میلی متر مکعب بود. همچنین تعداد گلبول های سفید از کلاسه طولی ۳۵-۱۵ به سمت کلاسه طولی ۷۵-۵۵ سانتی متر با افزایش تعداد و سپس با رشد ماهی کاهش یافت ولی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین کلاسه های طولی این ماهیان اختلاف معنی دار نبود (شکل ۱). بر اساس مطالعه Bahmani و همکاران (۲۰۰۱) تعداد گلبول های سفید خون تاسماهی ایرانی پرورشی ۱ ساله و ۲ ساله بترتیب ۱۸۸۹۰۰ و ۳۰۹۰۰ عدد در میلی متر مکعب بود. شاهسونی و همکاران (۱۳۷۸) میانگین تعداد گلبول های سفید خون مولدین ازون برون وحشی را $5237/14 \pm 208/41$ عدد در میلی متر مکعب و در سال ۱۳۸۰ با بررسی فاکتورهای خونی تاسماهی ایرانی و ازون برون های انگشت قد (۳ تا ۵ گرمی) بترتیب میانگین تعداد گلبول های سفید خون را $4140 \pm 185/1$ و $4284/28 \pm 172/18$ عدد در میلی متر مکعب گزارش نمودند. سعیدی و همکاران (۱۳۷۸) در

مورد آزمون تغذیه شده با ایمنواستر ۳٪، $۹/۷۱ \pm ۴/۸۴$ میلی گرم در دسی لیتر و تغذیه شده با ایمنوال ۳٪، $۱۴/۱۲ \pm ۳/۶۸$ میلی گرم در دسی لیتر بود (طاعتی، ۱۳۸۹). در سایر گونه ها از جمله ماهی قزل آلی وحشی این شاخص $۳/۳ \pm ۲/۱$ و در پرورشی $۲/۲ \pm ۰/۷$ و در قزل آلی پرورشی مبتلا به ویروس VHS $۴/۲ \pm ۱/۵$ ، در قزل آلی پرورشی مبتلا به بیماری های کلیوی (PKD) $۵/۳ \pm ۱/۹$ و در محیط آکواریومی $۱/۵ \pm ۰/۴$ میلی گرم در دسی لیتر (Olesen & Vestergard Jsr Jensen; 1986)، در گلدفیش $۴/۷$ میلی گرم در دسی لیتر (Vilam *et al.*, 1984)، در لای ماهی $۹/۱$ میلی گرم در دسی لیتر و در کپور معمولی $۱/۷$ میلی گرم در دسی لیتر (Richter *et al.*, 1973)، در (Paddlefish) $۱۷/۲$ میلی گرم در دسی لیتر (Acton *et al.*, 1971; Legler *et al.*, 1971)، در Coho salmon در محیط طبیعی $۲/۱$ میلی گرم در دسی لیتر (Voss *et al.*, 1980) و در شگ ماهیان در محدوده $۵/۳۲ - ۰/۱۳$ میلی گرم در دسی لیتر (Davis *et al.*, 1999) گزارش گردید. در بررسی ها صورت گرفته توسط محققین میزان غلظت IgM اندازه گیری شده در ماهیان مختلف در دامنه $۱۷/۲ - ۰/۷$ میلی گرم در دسی لیتر (Olesen & Vestergard Jsr Jensen, 1986; Magnadottir, *et al.*, 1999) قرار داشت.

مجموع غلظت ایمونوگلوبولین ممکن است شاخص ارزشمندی از سلامت عمومی ماهی باشد. ایمونوگلوبولین نوع IgM که در عروق در پاسخ به یک آنتی ژن اختصاصی و اولین دفاع کننده بدن در مقابل باکترها می باشد (کازمی و همکاران، ۱۳۸۹) و میزان سطوح ایمونوگلوبولین خون در گونه های مختلف ماهی بسته به سبزی بدن (Fuda و همکاران، ۱۹۹۱؛ Sanchez و همکاران، ۱۹۹۳؛ Estevez و همکاران، ۱۹۹۵)، دما (Wilson و Warr، ۱۹۹۲)، فصل (Yarnaguchi و همکاران، ۱۹۸۱؛ Zapata و همکاران، ۱۹۹۲) و ارگانسیم های پاتوژن (Olesen و همکاران، ۱۹۸۶، Magnadottir و Gudmundsdottir 1992) متفاوت

افتراقی میزان لوکوسیتها در گونه های ازون برون، فیل- ماهی و تاسماهی سیبری ۲۰۰ روزه دریافتند که میزان لنفوسیتها $۷۳/۵ - ۶۸$ درصد و گرانولوسیتهای نوتروفیل و ائوزینوفیل به ترتیب $۲۵/۱ - ۲۱/۸$ و $۳ - ۴/۶$ درصد و بالاترین میزان آنها در تاسماهی سیبری بود. دامنه نوسان یاخته های منوسیت در مطالعه آنها $۲ - ۷$ ٪ نشان بود. در شمارش افتراقی گلبول های سفید در تاسماهی ایرانی جوان وحشی همانند گزارش های سایر محققین لنفوسیت بیشترین درصد و مونوسیت کمترین درصد در بین لوکوسیت ها را بخود اختصاص داده بودند، مشاهده شد که ۸۳ درصد از گلبول های سفید به لنفوسیت ها و $۸/۳$ درصد را نوتروفیل ها تشکیل می دهند. تعداد گلبول های قرمز و سفید و همچنین درصد افتراقی گلبول های سفید تاسماهی ایرانی جوان وحشی این تحقیق با نتایج حاصل از بررسی های صورت گرفته روی تاسماهی ایرانی پرورشی (Bahmani *et al.*, 2001)، تاسماهی ایران و ازون برون انگشت قد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰)، تاسماهی شیپ (فارابی و همکاران، ۲۰۰۹) در یک محدوده و با اختلاف اندک نسبت به یکدیگر قرار داشت.

تعیین آنتی بادی IgM در سرم خون تاسماهیان وحشی دریای خزر تا کنون در ایران گزارش نشده است و تنها توسط طاعتی (۱۳۸۹) بر روی بچه فیلماهی پرورشی گزارش گردید. براین اساس در این تحقیق میزان غلظت IgM اندازه گیری شده در تاسماهی ایرانی جوان صید شده $۲۷/۶ \pm ۱۹/۹$ میلی گرم در دسی لیتر بود و در کلاسه های طولی صورت گرفته نشان داد که حداکثر میانگین غلظت IgM در کلاسه طولی ۱۵ تا ۳۵ سانتی متری با $۳۶/۲ \pm ۲۶/۷$ میلی گرم در دسی لیتر و حداقل میانگین آن در کلاسه طولی ۷۵ تا ۱۰۰ سانتی متری با $۱۹/۸ \pm ۸$ میلی گرم در دسی لیتر بود (شکل ۴). همچنین غلظت IgM از کلاسه طولی ۱۵-۳۵ به سمت کلاسه طولی ۷۵-۱۰۰ سانتی متر با رشد ماهی کاهش یافته، ولی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین کلاسه های طولی این ماهیان اختلاف معنی داری نشان نداد. در خون بچه فیل ماهی پرورشی ۴۵ گرمی شاهد، میزان غلظت IgM $۱۰/۱۳ \pm ۴/۶۵$ میلی گرم در دسی لیتر و در تیمار های

منابع

- ایری، ی.، حافظیه، م.، حق پناه، ع.، خوشباور رستمی، ح.ع.، فره وی، ب.، کر، ع.و.، کر، ن.م. و لکزائی، ف. ۱۳۹۴. اثر پری بیوتیک الیگوفروکتوز بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخصهای خونی بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران. ۱۰۸-۹۷: (۱): ۲۴.
- پوردهقانی، م.، بهمنی، م.، کاظمی، ر.، شناور، ع.ر.، یوسفی، ا.، جلیل پور، ج.، حلاجیان، ع.، دژندیان، س.، طاعتی، ر. و زهری، ۱۳۷۸. بررسی مقایسه ای فاکتور های هماتولوژی مولدین تاسماهی ایرانی دریایی و پرورشی. پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران-تهران.
- حلاجیان، ع.، ۱۳۷۷. بررسی تعداد میکروپیل در تخمک سه گونه از تاسماهیان جنوب دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی. ۲۳۰ صفحه.
- رئیس، م.، فخریان، م.، جعفریان، م. و ورشوئی، ح.، ۱۳۹۳. مطالعه تأثیر اسانس برخی گیاهان بر ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) مجله علمی- پژوهشی زیست شناسی دریا، ۲۸-۲۳: (۲۱): ۶.
- ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی (۱). انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ صفحه.
- سعیدی، ع.ا.، کامگار، م.، پورغلام، ر.، حبیبی، ف.، لطفی نژاد، ح. و یوسفیان، م.، ۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره برون و دراکول. فصلنامه پژوهش و سازندگی شماره ۴۴.
- شاهسونی، د.، وثوقی، غ. و خضرائی نیا، پ.، ۱۳۷۸. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴.
- شاهسونی، د.، وثوقی، غ. و خضرائی نیا، پ.، ۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص های خونی ماهیان خاویاری انگشت قد (قره برون و ازون برون) در استان گیلان. پژوهش و سازندگی. شماره ۵۰.

است. با این حال، اطلاعات ارزیابی از اثرات متقابل ایمونوگلوبولین در خون ماهی موجود نیست و همچنین، اطلاعات کمی از دامنه و اثرات بیماری در سطح IgM مثبت پلاسماهای خون در جمعیت ماهیان وحشی در دسترس هستند. تاکنون مشخص شده است که ماهی در پاسخ به تحریک آنتی ژن برای تولید ایمونوگلوبولین فقط یک دسته ایمونوگلوبولین در ماهیان استخوانی رخ می دهد. مطالعات صورت گرفته توسط محققین و مطالعه حاضر روی شاخص های ایمنی خون ماهی نشان داد که ماهیان پرورشی دستخوش استرس هایی از قبیل جابجایی، تراکم، درجه حرارت، در معرض مواد شیمیایی قرار گرفتن و غیره است، همانگونه که در محیط های طبیعی نیز ماهی دستخوش استرس های مختلف طبیعی قرار می گیرد (Kazemi et al., 2012). هرگونه تغییر می تواند باعث افزایش یا کاهش ایمنی ماهی شود، بطوری که اثر این تغییرات در ماهیان جوان نسبت به ماهیان مسن تر بیشتر است. اما با افزایش رشد، شدت اثر تغییرات و استرس ها، بنا به دلایل بیان شده، کاهش می یابد. براساس نتایج این بررسی، مشخص شد که هر اندازه ماهیان جوانتر باشند نسبت به تغییرات محیطی حساستر و شاخص های ایمنی نیز افزایش می یابد. ولی با افزایش رشد ماهی، شاخص های ایمنی از جمله IgM کاهش یافته است. آنچه مسلم است فاکتورهای خونی با توجه به عوامل محیطی از جمله دما، بیماری های عفونی، استرس، غذا، جنس و سن ماهی نیز تغییر خواهد کرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه پرسنل و همکاران محترم کشتی گیلان و لنج سی سرا ۲، رئیس و معاونین محترم وقت موسسه دکتر پورکاظمی، دکتر مهدی نژاد و مهندس اژدربور و همکاران محترم در بخش های مدیریت ذخایر و اکولوژی و نیز ترابری موسسه و همچنین ملکی مسئول محترم آزمایشگاه خون شناسی دکتر فدایی رشت بخاطر همکاری های صمیمانه شان سپاسگزاری می شود.

- Asadi, F., Hallajian, A., Asadian, P., Shahriari, A. and Pourkabir, M., 2009. Serum lipid, free fatty acid, and proteins in juvenile sturgeons *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. *Comparative Clinical Pathology*. 18:287–289.
- Bahmani, M., Kazemi, R. and 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
- Bani, A. and Haghi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyology Research*. Springer.
- Bullis, R.A., 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fishes (Infish Medicine, Stoskopf,) pp: 232-234.
- Davis, C.R., Marty, G.D., Adkison, M.A., Freiberg, E.F. and Hedrick, R.P., 1999. Association of plasma IgM with body size, histopathologic changes, and plasma chemistries in adult Pacific herring *Clupea pallasii*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 38: 125-133
- Drennan, J.D., LaPatra, S.E., Swan, Ch.M., Ireland, S. and Cain, K.D., 2007. Characterization of serum and mucosal antibody responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson) following immunization with WSIV and a protein. *Fish and Shellfish Immunology*. 23: 657- 669
- طاعتی، ر.، ۱۳۸۹. مطالعه مقایسه ای اثرات محرک های ایمنی بر برخی از شاخص های خونی، بیوشیمیایی و رشد بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*). رساله دکتری رشته شیلات. دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات تهران. ۱۲۸ صفحه.
- کاظمی، ر.، یوسفی جوردهی، ا.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، شناور ماسوله، ع.ر. و جلیل پور، ج.، ۱۳۹۱. بررسی مقایسه ای پارامترهای خونی مولدین وحشی تاسماهی ایرانی. مجله بهره برداری و پرورش آبزیان دانشگاه منابع طبیعی گرگان. ۲۹-۴۴: ۱(۳).
- کاظمی، ر.الف.، پوردهقانی، م.، یوسفی جوردهی، الف.، یارمحمدی، م. و نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. چاپ اول. ۱۹۴ صفحه.
- ملت دوست، ش.، ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف بر شاخص های خونی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) جوان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد آزادشهر. ۱۱۸ صفحه.
- Acton, R.T., Weinheimer, P.F., Dupree, H. K., Russel, T.R., Wolcott, M., Evans, E. E., Schrohenloher, R.E. and Bennet, J. C., 1971. Isolation and characterization of the immune macroglobulin from the paddlefish, *Polyodon spathula*. *Journal of biological. Chemistry*. 246: 6760-6769
- Asadi, F., Hallajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P. and Jadidizadeh, F., 2006a. Serum biochemical parameters of *Huso huso*. *Comparative Clinical Pathology*. 15: 245–248.
- Asadi, F., Masoudifard, M., Vajhi, A., Lee, K., Pourkabir, M. and Khazraeinia, P., 2006b. Serum biochemical parameters of *Acipenser persicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 32:43–47.

- Ellis, A.E., 1981.** Stress and modulation of defence mechanisms in fish. In: Pickering, A.D. (Ed), stress and fish. *Academic press*, London. pp. 147-169.
- Estevez, J., Leiro, J., Santamarina, M.T. and Ubeira, F.M., 1995.** A sandwich Immunoassay to quantify low levels of turbot (*Scophthalmus maximus*) immunoglobulins. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 145: 165-174
- Farabi, S.M.V., Najafpour, Sh. and Najafpour, G.D., 2009.** Aspect of osmotic ions regulation in juvenile *Acipenser nudiventris* in the Southeast of Caspian Sea. *World Applied Sciences Journal*. 7(9):1090-1096
- Fuda, H., Soyano, K., Yamazak, F. and Hara, A., 1991.** Serum immunoglobulin M (IgM) during early development of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 199: 637-643
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S. and Darvish Bastami, K., 2011.** The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37: 91-96.
- Kazemi, R., Pourdehghani, M., Dezhandian, S., Hallajian, A., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., Yazdani, M.A., Mohseni, M., Mohammadi Pareshkoh H. and 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. 80 p.
- Legler, D.W., Weiheimer, P.F., Acton, R.T., Dupree, H.K. and Russel, T.R., 1971.** Humoral immune factors in the paddlefish, *Polyodon spathula*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 388: 523-527
- Magnadottir, B. and Gudmundsdottir, B.K., 1992.** A comparison of total and specific immunoglobulin levels in healthy Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and in salmon naturally infected with *Aeromonas salmonicida* sub sp achromogenes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 132:179-189
- Magnadottir, B., Jonsdottir, H., Helgason, S., Bjornsson, B., Jørgensen, T. and Pilstrom, L., 1999.** Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II. The effects of size and gender under different environmental conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 122: 181-188.
- Martinez- Alvarez, R.M., Hidalgo, M.C., Domezain, A., Morales, A.E., Garcia-Gallego, M. and Sanz, A., 2002.** Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *Journal Experimental Biology*. 205: 3699-3706
- Olesen, N. J. and Vestergard Jsrghensen, P.E., 1986.** Quantification of serum immunoglobulin in rainbow trout *Salmo gairdneri* under various environmental conditions. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1: 183-189,

- Palikova, M., Mares, J. and Jirasek, J., 1999.** Characteristics of leucocytes and thrombocytes of selected sturgeon species from intensive breeding. *Acta Veterinaria Brno*, 68: 259-264.
- Richter, R., Frenzel, E.M., Hadge, D., Kopperschager, G. and Ambrosius, H., 1973.** Strukturelle und Immunchemische Untersuchungen am Immunglobulin des Karpfens (*Cyprinus carpio* L.). I. Analyse am gesamtrotein. *Acta Biologica et Medica Germanica*, 30: 735
- Roberts, R.J., 2001.** Fish pathology. Saunders, London. 472p
- Sanchez, C., Babin, M., Tomillo, J., Ubeira, F.M. and Dominguez, J., 1993.** Quantification of low levels of rainbow trout immunoglobulins by enzyme immunoassay using two monoclonal antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 36: 65-74
- Sharma, T.J. and Shi, B.D., 1985.** Effects of asphyxiation on some hematologic values of *Noemacheilus cupicula*. *International Journal of Academic of Ichthyology Modinagar*. 6: 1-2.
- Sokolowski, M.S., Allam, B.A., Dunton, K.J., Clark, M.A., Kurtz, E.B. and Fast, M.D., 2012.** Immunophysiology of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* (Mitchill), and the relationship to parasitic copepod, *Dichelesthium oblongum* (Abilgaard) infection. *Journal of Fish Diseases*. 35: 649-660
- Stoskopf, M.A., 1993.** Fish medicine. Souners company, U.S.A. 882 pp.
- Vilam, C., Wetzel, M.C., Du Pasquier, L. and Charlemagne, L., 1984.** Structural and functional analysis of spontaneous antinitrophenyl antibodies in three cyprinid fish species: carp (*Cyprinus carpio*), goldfish (*Carassius auratus*) and tench (*Tinca tinca*). *Developmental and Comparative Immunology*. 8: 611-622
- Voss, E.W., Groberg, W.J. and Fryer, J.L., 1980.** Metabolism of Coho salmon Ig. Catabolic rate of Coho salmon tetrameric Ig in serum. *Journal Article Molecular Immunology*. 17(4): 445-452
- Wilson, M.R. and Warr, G.W., 1992.** Fish immunoglobulins and the genes that encode them. *Annual Review Fish Diseases*. 2:201-221
- Yarnaguchi, N., Teshirna, C., Kurashige, S., Saito, T. and Mitsuhashi, S., 1981.** Seasonal modulation antibody formation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In: Solomon JB (ed) *Aspects of developmental and comparative immunology I*. Pergamon Press, Oxford, pp. 483-484
- Zapata, A.G., Varas, A. and Torroba, M., 1992.** Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates. *Immunology Today*. 13:142-147

Study on some blood immunological indices of the juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus* caught from depths of 20 to 100 meters in the coasts of the Mazandaran province

Ali Hallajian^{1*}, Mahmoud Bahmani¹, Rezvanollah Kazemi¹, Sohrab Dejhandian²,
Ayoub Yousefi Jourdehi¹, Elham Khazaie³

alihallajian@gmail.com*

- 1- Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Rasht, Iran, P.O.Box: 41635– 3464
- 2- Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Inland Waters Aquaculture Research Center, Guilan- Bandar Anzali, Iran, P.O.Box: 66
- 3- Islamic Azad University, Science and Research Branch, Faculty of Agriculture, Department of Fisheries, Tehran, Iran

Keywords: Caspian Sea, *Acipenser persicus*, RBC, WBC, IgM

Abstract

In this study, a total of 60 juvenile *Acipenser persicus* (mean weight 410 ± 267.6 , mean length 39.6 ± 19.6 cm and 1 - 2 year old) were captured by trawling method at depths of 20 to 100 meters in the Mazandran province via 7 times surveys during 2009 – 2012, and studied immunologically. Results showed that the mean of red blood cells (RBC) and white blood cells (WBC) were 585000 ± 151000 and 30300 ± 3200 per mm^3 of blood, respectively. Mean percentage of lymphocyte, monocyte, neutrophile and eozynophile were 83.1 ± 12 , 2.9 ± 2 , 8.3 ± 6.6 and 5.6 ± 3.2 %, respectively. Mean concentration of Immunoglobulin M (IgM) in blood serum was 25.6 ± 8.7 mg/dl. Samples showed no significant difference in length ($P > 0/05$). These results showed that the fish by less than the length classes were more sensitive to environmental changes. For this reason, their immune indices improved. Therefore, any change in fish blood immunological factors can lead to the secondary response.

* Corresponding author