

تاثیر انگل بوتریوسفالوس بر بعضی از فاکتورهای خونی ماهی آمور

فربیا اسماعیلی - سیاوش عباسی

مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران.

بخش بیماریهای آبزیان، مرکز تحقیقات شیلاتی استان خوزستان - امواز، صندوق پستی ۶۱۳۳۵

چکیده

در تابستان سال ۱۳۷۳ تعدادی از ماهیان کارگاه پرورشی واقع در کیلومتر ۶۰ جاده مسجد سلیمان برای تعیین فاکتورهای خونی صید و بلافاصله از رگ ساقه دمی آنها خونگیری بعمل آمد. خون و ماهیان به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبولهای قرمز خون اندازه گیری شد. دستگاه گوارش، برانش و پوست ماهیان نیز از نظر آلودگی به انگل مورد بررسی قرار گرفت.

بین ماهیان صید شده ۳۰ ماهی آمور وجود داشت که ۱۱ مورد از آنها آلودگی شدید به انگل بوتریوسفالوس داشتند و آلودگی در حدی بود که تقریباً انسداد روده‌ای ایجاد کرده بود، (۸۰ - ۷۰ عدد انگل در هر ماهی) لازم به ذکر است که با توجه به بررسی‌های انجام شده هیچگونه آلودگی انگلی دیگری در این ماهیان مشاهده نشد و چون ماهیان از یک استخر صید شده بودند همگی از شرایط یکسانی در استخر برخوردار بودند.

مقایسه آماری بین ماهیان سالم و ماهیان آلوده نشان داد که میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز خون ماهیان آلوده با اطمینان ۹۵٪ اختلاف معنی داری با ماهیان سالم داشته و میزان فاکتورهای فوق در ماهیان آلوده کمتر از ماهیان سالم بود.

مقدمه

خون بافت سیال بدن تمام مهره‌داران است. این بافت حیاتی بعنوان یک شاخص جهت تعیین حالات سلامت و بیماری بکار می‌رود و از این جهت علم هماتولوژی بعنوان یک علم اساسی در تشخیص بیماریها حائز اهمیت است. خون ماهیان مانند تمام جانوران مهره‌دار از دو بخش پلاسما و سلول‌های خونی تشکیل شده است. میزان آن در مقایسه با سایر مهره‌داران، به نسبت کم است و حدود ۵٪ وزن بدن را تشکیل می‌دهد. سلول‌های خون ماهیان به سه دسته تقسیم می‌شوند (Roberts 1989).

الف: گلبول‌های قرمز خون ب: گلبول‌های سفید خون ج: ترمبوسیتها

از آنجا که اختلاف هماتولوژی بین ماهیان وابسته به سن، فصل، محیط زیست، شرایط فیزیولوژی ماهی، آلودگی و بیماری ماهی، بلوغ جنسی و فعالیت‌های ماهی است لذا در این تحقیق ارتباط احتمالی انگل روده‌ای بوتریوسفالوس و بعضی از فاکتورهای خونی ماهی مورد بررسی قرار گرفته است. گزارش‌هایی نیز در رابطه با تاثیر انگلها بر فاکتورهای خونی وجود دارد. تاثیر انگل *Anguillicola crassus* که یک نماتد می‌باشد، بر فاکتورهای خونی مارماهی اروپایی *Anguilla anguilla* مورد بررسی قرار گرفته است (Höglund et al. 1992) و همچنین کم خونی ناشی از وجود ترماتدها در ماهیان نیز توسط هوگلاند بارها گزارش شده است.

انگل لیگولا اینتستینالیس (*Ligula intestinalis*) در حفره شکمی ماهی *Abramis brama* سبب کاهش ۲-۳ برابر هموگلوبین می‌شود (Dogiel & Petrushevski 1958).

انگل آنسیراکانتوس سی ستیدیکولا (*Ancyracanthus cystidicola*) کرمی با ۲ سانتیمتر طول که در کیسه شنای ماهیان و گاهگاهی نیز در مری و معده دیده می‌شود، سبب کم خونی میزبان خود می‌شود (Duijn 1973).

صدمات قابل توجهی در اثر اتصال انگلهای کرمی به دیواره روده در ماهیان بوجود می‌آید (Dogiel & Petrushevski 1958). بوتریوسفالوس در حالت بلوغ در روده ماهیان علفخوار (آمور) دیده می‌شود (مخیر ۱۳۶۷). این انگل در بخش قدامی روده ۳-۴ میلی‌متر قبل از محل اتصال کانالهای صفراوی به روده جایگزین می‌گردد (جلالی ۱۳۷۲). در کارگاههای پرورشی این انگلها



شدیداً ماهیان را آلوده ساخته و در میان ماهیان آمور انگشت قد تلفات شدیدی را بوجود می‌آورد. با صادر شدن ماهی علفخوار از چین به نقاط مختلف بطور مستقیم یا غیرمستقیم بوتریوسفالوس انتشار وسیعی پیدا کرده است و علاوه بر ماهیان علفخوار برخی دیگر از کپور ماهیان آن نقاط را نیز بعنوان میزبان انتخاب نموده است (مخیر ۱۳۶۷).

روش کار

پس از صید ماهیان از ورید ساقه دمی آنها خونگیری بعمل آمد، خون به بطریهای آغشته به هیارین منتقل گردید و به آرامی با حرکت دورانی بطریها را تکان داده تا خون با هیارین آغشته شده و از انعقاد خون جلوگیری بعمل آید. بطریهای خون در مجاور یخ به آزمایشگاه انتقال و فاکتورهای خونی اندازه‌گیری شدند.

هماتوکریت :

هماتوکریت با استفاده از روش میکرو اندازه‌گیری شد. بدین منظور تا $\frac{1}{4}$ لوله موئین را از خون پر کرده و بوسیله خمیر هماتوکریت یک طرف آن مسدود گردید. لوله‌ها در سانتریفوژ مخصوص هماتوکریت به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ شدند و بعد از ۳ دقیقه با استفاده از خط‌کش هماتوکریت، میزان آن خوانده شد (Svobodova & Vykusova 1991).

هموگلوبین :

میزان هموگلوبین با استفاده از روش سیانمت هموگلوبین (Cyanomet hemoglobin) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ۵ محلول درابگین را در لوله اسپکت ریخته و ۲۰ میکرولیتر خون به آن اضافه گردید. بعد از تکان دادن، ۱۰ دقیقه در فضای اتاق قرار داده شد و سپس میزان جذب لوله‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد از قبل تهیه شده، میزان هموگلوبین هر نمونه مشخص شد (Svobodova & Vykusova 1991).

گلبول قرمز خون :

با استفاده از پیت شمارش گلبول قرمز خون، تا درجه ۰/۵ با خون پر و تا ۱۰۱ با محلول حیم پر شد، در این حالت درجه رقت خون ۱:۲۰۰ بود. بعد از چند دقیقه که پیت در شیکر مخصوص

شمارش گلبولها قرار گرفت، با استفاده از لام هموسیتمتر گلبولهای قرمز خون دوبار شمارش شده و میانگین بعنوان تعداد گلبولهای قرمز منظور گردید (جواهری ۱۳۶۱) و (Svobodova & Vykusova 1991).

شکم ماهیان باز و دستگاه گوارش آنها خارج و در پتری دیش قرار داده شدند. روده ماهیان از ابتدا تا انتها با قیچی برش داده و زیر استریو میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند، لازم بذکر است که به محض باز شدن روده تعداد زیادی انگل قابل مشاهده بود که سبب انسداد روده ماهیان شده بودند.

نتایج

در این تحقیق ۳۰ قطعه ماهی امور مورد بررسی قرار گرفت که ۱۱ مورد آنها، آلودگی شدید به انگل روده‌ای بوتریوسفالوس داشتند. در این ماهیان انسداد روده‌ای مشاهده شد و ۷۰-۸۰ عدد انگل در هر ماهی قابل مشاهده بود و ۱۹ مورد از ماهیان نیز آلودگی نداشتند (جدول شماره ۱ و ۲).

مقایسه آماری بین گروه ماهیان سالم و ماهیان آلوده به انگل بوتریوسفالوس مبین این مسئله بود که میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون تفاوت معنی‌داری را بین گروه ماهیان سالم و آلوده نشان می‌دهند ($P < 0.05$).

میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز خون ماهیان آلوده به انگل به مراتب کمتر از ماهیان سالم بود.

علیرغم کم بودن وزن ماهیان آلوده نسبت به هم‌قدهای خود در گروه ماهیان سالم مقایسه آماری اختلاف معنی‌داری را بین میانگین وزنی این دو گروه نشان نمی‌داد.



جدول شماره ۱: فاکتورهای خونی ماهیان آلوده

نمونه	طول کل (cm)	وزن	هماتوکریت	هموگلوبین (گرم/۱۰۰ cc)	تعداد گلبولهای قرمز در (۱ میلیتر مرکب خون)
۱	۲۲	۲۰۰	٪۲۱	۵/۲	۲۳۲۰۰۰۰
۲	۳۱	۳۵۰	٪۲۱	۵/۵	۲۴۷۵۰۰۰
۳	۳۱/۵	۲۵۰	٪۲۳	۶/۳	۲۶۲۰۰۰۰
۴	۳۰/۵	۴۰۰	٪۲۳	۶/۶	۲۷۵۰۰۰۰
۵	۲۳/۵	۲۵۰	٪۲۱	۵/۲	۲۴۱۰۰۰۰
۶	۲۸/۵	۴۰۰	٪۲۵	۷	۲۷۲۵۰۰۰
۷	۳۰/۵	۲۳۰	٪۲۲	۶/۶	۲۶۶۰۰۰۰
۸	۲۳	۲۵۰	٪۲۱	۵/۲	۲۲۱۰۰۰۰
۹	۲۷/۳	۳۸۰	٪۲۲	۶/۳	۲۵۳۰۰۰۰
۱۰	۲۴/۵	۲۷۰	٪۲۰	۵/۲	۲۱۳۰۰۰۰
۱۱	۲۹/۵	۲۰۰	٪۲۳	۶/۳	۲۶۰۵۰۰۰

جدول شماره ۲: فاکتورهای خونی ماهیان سالم

نمونه	طول کل (cm)	وزن	هماتوکریت	هموگلوبین (گرم/۱۰۰ cc)	تعداد گلبولهای قرمز در (۱ میلیتر مرکب خون)
۱	۲۵/۵	۲۵۰	٪۲۸	۸	۳۶۹۵۰۰۰
۲	۲۲/۲	۳۰۰	٪۲۷	۷	۲۲۷۵۰۰۰
۳	۲۳	۴۰۰	٪۴۰	۹	۳۶۹۵۰۰۰
۴	۲۴/۶	۲۵۰	٪۳۶	۸	۳۴۰۵۰۰۰
۵	۲۴/۵	۳۵۰	٪۴۲	۱۱/۵	۳۸۹۰۰۰۰
۶	۲۰/۳	۲۵۰	٪۳۹	۱۰/۵	۳۸۶۵۰۰۰
۷	۳۰/۵	۵۰۰	٪۳۴	۸	۳۳۱۰۰۰۰
۸	۲۰/۵	۲۵۰	٪۳۴	۸/۲	۳۵۹۵۰۰۰
۹	۲۱/۲	۳۰۰	٪۲۶	۸/۲	۳۲۲۰۰۰۰
۱۰	۲۶/۴	۴۰۰	٪۲۵	۸	۲۹۲۰۰۰۰
۱۱	۲۱	۳۰۰	٪۲۴	۶/۳	۲۰۲۰۰۰۰
۱۲	۲۶	۴۰۰	٪۲۶	۹/۵	۲۷۰۵۰۰۰
۱۳	۲۱	۳۰۰	٪۳۶	۹	۳۱۵۵۰۰۰
۱۴	۳۲/۵	۵۵۰	٪۳۰	۸	۲۳۹۰۰۰۰
۱۵	۲۷/۵	۵۰۰	٪۴۰	۱۰	۲۴۶۵۰۰۰
۱۶	۳۱/۵	۶۰۰	٪۳۲	۸/۲	۳۲۲۰۰۰۰
۱۷	۲۹	۵۵۰	٪۳۰	۸	۳۱۰۵۰۰۰
۱۸	۲۶	۴۰۰	٪۲۹	۸	۲۹۵۵۰۰۰
۱۹	۳۰/۵	۶۰۰	٪۳۷	۹/۵	۳۶۹۵۰۰۰

بحث

در سال‌های اخیر محققین زیادی تاثیر انگلها بر خون ماهیان را مورد مطالعه قرار داده‌اند. داده‌های بدست آمده نشان می‌دهند که انگلهای نقاط مختلف بدن نائیرات متفاوتی بر خون ماهی دارند. بعنوان مثال سستوده‌های رودهای نسبت به سستودهایی که در حفره شکمی ماهی زیست می‌کنند سبب تغییرات وسیع و بیشتری در هموگلوبین شده و در گلبولهای سفید نیز سبب کاهش لنفوسیتها و افزایش فاگوسیتها، منوسیتها، پلی‌مورفونوکلوثرها و نوتروفیل‌ها می‌شوند (Dogiel & Petrushevski 1958).

هجوم شدید انگلها سبب تغییراتی در خون ماهیان می‌شود. آلودگی شدید با متاسرکر سبب کاهش تعداد گلبولهای قرمز و هموگلوبین و افزایش تعداد منوسیتها می‌شود (Layman 1938). آلودگی شدید برانش به ایکتیوفتیریوس سبب آئمی و نکروز فیلامنتهای برانش می‌شود. اتصال منوزنها به فیلامنت برانش سبب افزایش غیرطبیعی موکوس شده و در عمل تنفس اختلال ایجاد می‌کند. این انگلها به دلیل تغذیه از خون میزبان سبب کم خونی میزبان خود می‌شوند (Dogiel & Petrushevski 1958).

در بروز یک همه‌گیری بعضی از ماهیان خاویاری دارای ۲۰۰-۴۰۰ عدد انگل *sturionis Nitzschia* بودند که این انگلها قادر بودند بیش از 200 cm^3 خون میزبان خود را بکنند. آلودگی بافت کلیه با بعضی از میکسوسپوریده‌ها بعنوان مثال *Hofereilus cyprini* و *Myxobolus cyprini* سبب کاهش تعداد گلبولهای قرمز و هموگلوبین می‌شود. بعضی از انگلها نظیر *Argulus* (وجود غده سمی در دهان) و *Nitzschia sturionis* (با تولید مواد متابولیکی) به میزبان خود آسیب می‌رسانند. سم تولید شده توسط این انگلها بر خون و دستگاه تنفسی ماهی تاثیر می‌گذارد. تاثیرات عفونی انگلها، در فاکتورهای خونی ماهیان نمایان می‌شود (Dogiel & Petrushevski 1958). انگل رودهای *Asymphyllodora tinca* در لای ماهی *Tinca tinca* سبب می‌شود میزان هموگلوبین ۷۸٪ و تعداد گلبولهای قرمز ۹-۱۴٪ کاهش و تعداد منوسیتها و پلی‌مورفونوکلوثرها افزایش یابند (Kazadaev 1954). انگل *Proteocephalus torulosus* نیز در رود ماهی سفید رودخانه‌ای (عروس) *Leuciscus idus* سبب



می‌شود تعداد لنفوسیتها تا ۱/۵ برابر کاهش و تعداد منوسیتها و پلی‌مورفونوکلوثرهای بدون هستک و نوتروفیلها افزایش یابند (Kazadaev 1954). آلودگی با نوزاد لیگولا اینتستینالیس (یک نوع سستود) سبب تورم شکم ماهیان آلوده (سیم و غیره)، کندی رشد و کم‌خونی آنها می‌شود (مخیر ۱۳۶۷).

در این بررسی نیز مشخص شد که انگل بوتریوسفالوس سبب کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز خون ماهی امور می‌شود. عفونت بوسیله سستوهای انگل ماهی بویژه بوتریوسفالوس باعث تورم عفونی روده ماهیان به همراه خونریزی گشته که نابودی ایپی تلیوم روده‌ای را به دنبال دارد. این انگل توسط دوبوتریای روی اسکولکس به جدار روده می‌چسبد و چنین اتصالی باعث مجموعه‌ای از ضایعات مکانیکی به روده می‌گردد و در محل چسبیدن سر انگل به روده نیز غالباً خونریزی مشاهده می‌گردد. در عفونتهای ناشی از وجود این انگل، رشد ماهیان بدلیل استفاده انگل از مواد غذایی آماده جذب به تعویق می‌افتد (جلالی ۱۳۷۲).

(Höglund et al. 1992) تاثیر انگل *Anguillicola crassus* را بر فاکتورهای خونی مارماهی اروپایی مورد بررسی قرار داد بیان نمود که تغییرات فاکتورهای خونی مرتبط است به :

۱- شدت آلودگی یعنی تعداد انگلها در هر میزبان

۲- وزن توده انگل به وزن میزبان

این انگل خونخوار که در کیسه شنای ماهیان دیده می‌شود روی میزان و حجم پروتئینهای خون و هماتوکریت تاثیر می‌گذارد و سبب افزایش پروتئینهای گامای خون و کاهش پروتئینهای بتای خون می‌شود (Höglund et al. 1992).

علیرغم جستجوهای فراوان در منابع مختلف، گزارشی در رابطه با تاثیر انگل بوتریوسفالوس بر فاکتورهای خونی ماهیان نیافتیم. جهت مشخص شدن تاثیرات واقعی انگل بر فاکتورهای خونی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقای مهندس مرضی ریاست محترم تحقیقاتی مرکز بخاطر توجه وافر ایشان به

امر تحقیقات و رفع مشکلات موجود در این زمینه، بسیار سپاسگزارم.
 از همکاران گرامی بخش بیماریهای آبزیان خانم فریبا اسماعیلی، آقایان مهندس سیدرضا مرتضایی، دکتر رحیم پیغان، نیاز محمدگر و جمال سلیمانی نهایت تشکر را دارم.
 همچنین از سرکار خانم صدیقه شوشتری و سرکار خانم سفیه امیرجانی و کلیه کسانی که به نحوی همکاری نموده‌اند قدردانی می‌شود.

منابع

- جلالی بهیار، ۱۳۷۲. بیماریهای شایع ماهیان پرورشی ایران. مجله آبی پرور. نشریه معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران. شماره ۳، سال اول، پائیز ۱۳۷۲. ۴۰ - ۳۹ ص.
- جوهری حسن، ۱۳۶۱. اصول تکنیکهای خون شناسی. ناشر مرکز کتاب گلگشت، ۲۴۰ ص.
- مخیر بابا، ۱۳۶۷. بیماریهای ماهیان پرورشی. چاپ مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۳۶۹ ص.
- Dogiel V.A. & Petrushevski G.K. 1958. Parasitology of fishes. Yu.I.Polynski, Oliver and Boyd; Edinburgh & London, 384 p.
- Duijn C. Van. 1973. Diseases of fishes. Butter worth & Co. (pub) Ltd; London. 372 p.
- Höglund J., Andersson J. and Hördig J. 1992. Haematological responses in the European eel, *Anguilla anguilla* to sublethal infestation by *Anguillicola crassus* in a thermal effluent of the Swedish Baltic. Journal of fish disease Vol 15, No. 6, 507-514 pp.
- Kazadaev V.I. 1954. Parasitic invasions of tench and their influence on the fish.
- Layman E.M. 1938. Some new data on the development of *Neodiplostomulum cuticola* within the fish and its host-parasite relationship.
- Rakova V.M. 1954. Infestations of *Leuciscus idus* and their influence on that fish.
- Roberts R.J. 1989. Fish pathology. Bailliere. Tindall London. 467 p.
- Svobodova Z. & Vykusova B. 1991. Diagnostics prevention and therapy of fish diseases and intoxication. 270 p.

The Effect of Bothriocephalus Invasion on Blood Parameters of Grass Carp

F. Esmaeli B.Sc. - S. Abbasi B.Sc.
I.F.R.T.O.

Fish Disease Dep. of Khuzestan Fisheries Research Centre,
Ahwaz, P.O.Box 61335

ABSTRACT

In summer 1994, 30 grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) were caught from a pond culture and blood sampling was done, while the fish were alive, for ichthyohaematological examination.

The fish and blood were brought to the laboratory, the digestive tract and internal organs of fish were examined for parasitological investigation.

Eleven fishes were infected by a tape worm (*Bothriocephalus*) seriously. Number of parasites in intestine of each fish specimen was between 70 - 80 and they cause intestinal obstipation. Amount of haemoglobin, haematocrit value and erythrocyte in infected fishes was lower than healthy fishes.