(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

بررسی برخی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم ماهی کفال‌طلایی (*Liza aurata*) در خلیج گرگان، دریای خزر

- **فاطمه محمودی***: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **سکینه علیجان‌پور**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **حجت ا.. جعفریان**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **عیسی جرجانی**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- **سیدمصطفی عقیلی‌نژاد**: اداره امور ماهیان خاویاری استان گلستان، شرکت مادر تخصصی خدمات کشاورزی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ١٣٩٨ تاریخ پذیرش: آذر ١٣٩٨

چکیده

ماهی کفال‌طلایی (*Liza aurata*) از گونه‌های با ارزش زیستی و حساس دریای خزر می‌باشد. با توجه به امکان صید ماهیان استخوانی دریای خزر تنها در شش ماه دوم هر سال، تحقیق حاضر از پاییز تا زمستان ١٣٩٤ در دریای خزر (میان‌قلعه) و خلیج گرگان جهت بررسی تاثیر فصل و محل زیست بر شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم ماهی کفال طلایی صورت گرفت. تعداد ٣٠ قطعه ماهی کفال طلایی که در هر دو فصل به‌صورت تصادفی از دریای خزر و خلیج گرگان با تور پره صید شدند، مورد مطالعه قرارگرفت. مطالعه خونی به دو بخش مطالعات سرم خونی (آنزیم‌های کبدی، کورتیزول، گلوکز و پروتئین) و مطالعه شاخص‌های خون‌شناسی (سلول‌های خونی و افتراقی) تقسیم شد. بررسی نتایج شاخص‌های آنزیمی نشان داد که مقدار تمامی شاخص‌ها در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. بررسی نتایج شاخص‌های خون‌شناسی، ایمنی و بیوشیمیایی سرم نشان داد که این شاخص‌ها روند یکسانی نداشته و از یک خصوصیت واحد تبعیت نمی‌کنند و هر شاخص در شرایط محیطی و فصول مختلف پاسخ‌های متفاوتی نشان می‌دهند. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که شاخص‌های خونی و سرمی ماهی کفال در شرایط محیطی و زمانی مختلف پاسخ‌های متفاوتی نشان داده و از این بین پارامترها، شاخص‌های آنزیمی روند معنی‌داری نشان داده و می‌توانند بیومارکرهای مناسبی محسوب شوند.

کلمات کلیدی: دریای خزر، ماهی کفال‌طلایی، بیومارکر، خون‌شناسی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Mahmoodif1990@gmail.com

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

مقدمه

تغییرات خصوصیات خون ماهیان در پاسخ به شرایط زیست محیطی پاسخی است بر استرس‌های محیطی و می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مهم زیستی مدنظر قرار گیرد (شموشکی و حجتی، ۱۳۹۲). شرایط استرس باعث افزایش هورمون کورتیزول و گلوکز می‌شود (عضدی، ۱۳۹۲). آنالیز پارامترهای هماتولوژیکی و بیوشیمیایی خون در تشخیص بیماری‌های عفونی و هم‌چنین کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان کمک می‌کند، مشروط بر این‌که میزان این پارامترها و دامنه تغییرات آن‌ها در انواع ماهیان پرورشی و در شرایط فیزیولوژیک مختلف وجود داشته باشد (Baker و همکاران، ۲۰۰۵). آنزیم‌ها برای متابولیسم طبیعی سلول‌ها لازم و ضروری هستند و میزان فعالیت آن‌ها به‌عنوان مارکرهای بیوشیمیایی حساس درنظر گرفته می‌شود و به‌طور وسیعی برای ارزیابی وضعیت سلامت در انسان و آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. فعالیت آنزیمی آبزیان در مواجهه با محرک‌های محیطی به‌دلیل از بین رفتن و یا تغییر ماهیت (دناتوره شدن) مکان‌های فعال آنزیمی، سرکوب یا کاهش می‌یابد. از آن‌جاکه ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت سلامت ماهی محسوب می‌شود، ورود آلاینده‌ها در پیکر موجود زنده می‌تواند موجب تغییر قابل توجه و معنی‌داری در پروفایل بیوشیمیایی خون شود که در واقع بازتابی از ایجاد تغییرات در پروسه متابولیسم طبیعی بدن ماهی است که در نتیجه متابولیسم آلاینده طی فرایند سم‌زدایی حاصل می‌شود. حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند. آن‌ها آسپارتات آمینوترانسفراز یا AST و آلانین آمینوترانسفراز یا ALT هستند. این آنزیم‌ها به‌طور معمول داخل سلول‌های کبدی قرار دارند. زمانی که کبد دچار آسیب می‌شود سلول‌های کبدی آنزیم‌ها را وارد جریان خون می‌کنند، بالا رفتن سطح آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است. افزایش آنزیم‌های کبدی ممکن است نشانه ای از عدم عملکرد درست کبد باشد. سلول‌های آسیب دیده یا ملتهب کبد آنزیم‌هایی را در جریان خون ترشح می‌کنند. اساساً آنزیم‌های کبدی ALT و AST داخل سلولی هستند و در بسیاری از اندام‌های دیگر ماهی یافت می‌شوند. با توجه به این‌که در حالت طبیعی مقادیر این آنزیم‌ها در داخل سلول بیش‌تر از خارج سلول است، بنابراین افزایش مقادیر جزئی آن‌ها در محیط خارج سلول اعم از مایع بین سلولی و پلاسما به‌عنوان یک اندیکاتور حساس، بیانگر وقوع آسیب سلولی در مواجهه با انواع آلاینده‌های وارد شده به بدن موجود زنده خواهد بود (Gad، ۲۰۰۷). پازوکی و همکاران (۱۳۸۸) به سنجش میزان فلزات سنگین (Cd, Cr) در بافت پوست و عضله کفال طلایی دریای خزر پرداختند و دریافتند که این مقادیر پایین‌تر از استانداردهای جهانی بوده است. مهری و همکاران (۱۳۹۵) به سنجش غلظت فلزات سنگین (سرب، کادمیوم و جیوه) درعضله ماهی کفال پوزه باریک و ارزیابی خطرناشی از مصرف آن پرداختند و دریافتند که مقدار سرب در عضله کفال پوزه باریک سواحل مرکزی خزر بالاتر از حد مجاز استاندارد سازمان بهداشت جهانی (WHO) و سازمان وزارت کشاورزی، شیلات و غذای انگلستان (UKMAFF) بود. با توجه به اهمیت ماهی کفال دریای خزر از یک‌سو و ضرورت بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی جهت مدیریت کارآمد آبزیان اقتصادی دریای خزر، در تحقیق حاضر به بررسی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی کفال دریای خزر در محدوده خلیج گرگان و جنوب‌شرقی دریای خزر پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر بر روی کفال طلایی (*Liza aurata*) از پاییز تا زمستان ۱۳۹۴ در دریای خزر (میان‌قلعه) و خلیج گرگان صورت گرفت. کلیه مراحل خونگیری در مرکز صید و فراوری آشوراده (چالاشت) انجام گردید ونمونه‌های خون در مجاورت یخ جهت تهیه سرم و انجام مطالعات خون‌شناسی به آزمایشگاه هماتولوژی دانشگاه گنبدکاووس منتقل گردید. با توجه به محدودیت صید ماهی دریای خزر و مجوز صید تنها در فصول پاییز و زمستان (عقیلی و محمدی، ۱۳۸۹)، در این مطالعه از تعداد ۳۰ قطعه کفال ماهی طلایی در هر فصل نمونه برداری پاییز و زمستان از خلیج گرگان و دریایی خزر که با تور پره صید شدند، استفاده گردید. این تحقیق در غالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار شامل فصول پاییز و زمستان سال ۱۳۹۴ و با سه تکرار طراحی و اجرا گردید. جهت مطالعه معیارهای خونی تعداد ۱۵ قطعه کفال ماهی طلایی در هر فصل به‌صورت تصادفی از دریای خزر و ۱۵ قطعه خلیج گرگان نمونه‌برداری و پس از بی‌هوش‌سازی با غلظت تحت حاد عصاره گل‌میخک (۳۰ppm) (هدایتی و همکاران، ۱۳۷۸)، ابتدا مورد مطالعه زیست‌سنجی قرار گرفتند و سپس با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین از سیاهرگ دمی و از پشت باله مخرجی ماهیان خونگیری صورت گرفت. جهت تعدیل خطاهای آزمایش از جمله تاثیر بی‌هوشی با گل میخک، تمامی شرایط برای همه تیمارها و گروه شاهد یکسان در نظر گرفته شد. 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 تعیین شده درون ویال‌های حاوی ۲۰ میکرولیتر ماده ضدانعقاد هپارین ریخته شدند. در بخش مطالعه سرم، خون تهیه شده بدون افزودن ماده ضد انعقاد به‌مدت ۳۰ دقیقه درون ویال‌ها به حال خود رها شدند وسپس

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

با دور rpm ۵۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا سرم از خون جدا شود (هدایتی و همکاران ۱۳۸۷). سپس اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی در نمونه‌های منجمد صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز خون و تعداد گلبول‌های سفید خون پس از رقیق‌سازی خون به‌ترتیب به نسبت ۲۰۰ و ۵۰ برابر با استفاده از لام هموسیتومتر شمارش گردید.شمارش کلی گلبول‌های قرمز وسفید ماهی به‌روش دستی و با استفاده لام نئوبار صورت گرفت برای این‌کار و برای رقیق نمودن نمونه از محلول رقیق‌کننده نات-هرویک با ترکیب اشاره شده در ذیل استفاده شد. هموگلوبین به‌روش استاندارد با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی، تهران برحسب گرم در دسی لیتر با استفاده از فرمول ذیل طبق دستورالعمل شرکت سازنده محاسبه شد. هماتوکریت به‌روش متداول برای پستانداران و پرندگان یعنی روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ میکروهماتوکریت‌صورت‌پذیرفت. سایر شاخص‌های خونی با استفاده از فرمول‌های استاندارد محاسبه گردید: مثلاً شاخص MCHC با فرمول MCHC (mg l-1) = Hb (mg dl-1) / Ht (ratio)، MCV=HCT*10/RBC و MCH=HB*10/RBC (سعیدی و پورغلام، ۱۳۷۸). شاخص بیوشیمیایی گلوکز سرم و آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز(AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکانین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه آنالایزر مدل اپندرف، ای‌پی‌اواس ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شدند (کبیریان و همکاران، ۱۳۹۱). شیوه نمونه‌برداری به‌صورت سیستماتیک تصادفی بوده‌و درقالب کاملاً تصادفی اجراء گردید. نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ولیک استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده‌با استفاده ازنرم‌افزار SPSS ۲۰ و از طریق‌طرح‌فاکتوریل دومتغیره و به‌صورت‌کاملاً تصادفی انجام‌گردید.همه نتایج به‌دست آمده به‌وسیله میانگین±انحراف معیار محاسبه شدند. معنی‌داری شاخص‌ها در سطح ۰/۰۵ بیان‌گردید. هم‌چنین نمودارها در برنامه اکسل ۲۰۱۰ رسم شد.

نتایج

در این فصل بر مبنای داده‌های به‌دست آمده، معیارهای خون شناسی و معیارهای ایمنی‌شناسی تعیین گردیدند. تمامی داده‌ها قبل از شروع آمالیزهای آماری از نظر آزمون شاپیرو-ولیک در سطح ۰/۰۵ نرمال بودند ($p>0/05$).

بررسی تاثیر فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم: بررسی تاثیر فصل و موقعیت ایستگاه بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی کفال در جدول ۱ آمده است. آنالیز آماری نتایج نشان داد که تمامی شاخص‌ها داری تغییر معنی‌دار بوده ($p<0/05$) و فصل و مکان نمونه‌برداری بر این شاخص‌ها موثر بوده است.

جدول ۱: تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی کفال طلایی در دو فصل پاییز و زمستان (n=۷)

پارامترهای بیوشیمیایی سرم	فصل و موقعیت ایستگاه			
	پاییز دریا	پاییز خلیج	زمستان دریا	زمستان خلیج
آلکانین فسفاتاز (واحد در هر لیتر)	۲۱/۴±۵۳/۶۰^{b}	۴۴/۱۷±۰۶/۰۱^{a}	۲۳/۲±۳۳/۶۶^{b}	۱۳/۱±۱۳/۳۳^{b}
آلانین آمینوترانسفراز(واحد در هر لیتر)	۹/۱±۳۳/۷۰^{a}	۶/۲±۸۰/۸۱^{a}	۳/۰±۰۶/۹۸^{b}	۱/۰±۶۳/۲۰^{b}
آسپارتات آمینوترانسفراز(واحد در هر لیتر)	۱۸۸/۲۹±۶۶/۴۸^{a}	۱۸۰/۹۲±۴۳/۶۴^{a}	۱۵۳/۵۳±۸۰/۳۶^{a}	۴۷/۸±۵۰/۵۴^{b}
کورتیزول (گرم/دسی‌لیتر)	۲۸/۱۱±۶۹/۲۳^{a}	۵۰/۴±۶۲/۱۰^{b}	۳۳/۳±۶۶/۵۰^{a}	۴۹/۰±۵۶/۵۸^{b}
گلوکز (گرم/دسی‌لیتر)	۱۰۷/۲۳±۱۰/۵۲^{a}	۶۹/۷±۲۶/۸۵^{b}	۱۰۱/۹±۴۳/۷۰^{a}	۱۱۰/۳۲±۳۰/۶۸^{a}
پروتئین کل (گرم/دسی‌لیتر)	۱/۰±۸۶/۳۷^{a}	۱/۰±۲۰/۲۶^{b}	۲/۰±۰۰/۴۵^{a}	۰/۰±۷۳/۱۵^{b}

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی‌دار بودن است ($p<0/05$).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آلکالین فسفاتاز سرم تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0/05$)، به‌طوری‌که میزان آلکالین فسفاتاز سرم در فصل پاییز خلیج بالاترین میزان(۴۴/۱۷±۰۶/۰۱)و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان (۱۳/۱±۱۳/۳) را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است، هرچند بررسی دو سایت دریا و خلیج در بازه زمانی پاییز حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری در زمان پاییز می‌باشد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز سرم تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0/05$)، به‌طوری‌که میزان آلانین آمینوترانسفراز سرم در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. آلانین آمینوترانسفراز سرم ماهیان در پاییز مقدار بیش‌تری را نشان‌داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان‌داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آسپارتات آمینوترانسفراز سرم تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0/05$)، به‌طوری‌که میزان آسپارتات آمینوترانسفراز

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

سرم در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر متفاوت فصل و محل نمونه‌برداری بوده است، به‌نحوی‌که در برخی نمونه‌ها تاثیر فصل معنی‌دار بوده و در برخی تاثیر محل موثرتر بوده است. آسپارتات آمینوترانسفراز سرم ماهیان در پاییز مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص کورتیزول سرم تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان کورتیزول سرم در فصل پاییز خلیج بالاترین میزان و پاییز دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل بوده است. کورتیزول سرم ماهیان در خلیج مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص گلوکز سرم تاثیر معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان گلوکز سرم در همه تیمارها مقداری آماری یکسانی داشت و تنها از نظر عددی گلوکز سرم فصل زمستان خلیج بالاترین میزان و پاییز خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر عددی بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص پروتئین کل سرم تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان پروتئین کل سرم در فصل زمستان دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل بوده است. پروتئین کل سرم ماهیان در دریا مقدار بیش‌تری را نشان داد.

بررسی تاثیر فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص‌های خون

شناسی: بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص تعداد گلبول‌های سفید خون تاثیر معنی‌داری داشت(p<۰/۰۵)،به‌طوری‌که میزان تعداد گلبول‌های سفید خون در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و سایر فصول پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است.تعداد گلبول‌های سفیدخون ماهیان‌در پاییز دریا مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه برشاخص تعداد گلبول‌های قرمز خون تاثیر معنی‌داری داشت(p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان تعداد گلبول‌های قرمزخون درفصل زمستان دریا بالاترین‌میزان و پاییزخلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. تعداد گلبول‌های سفید خون ماهیان در زمستان مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص هموگلوبین خون تاثیر معنی‌داری داشت(p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان هموگلوبین خون در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و سایر تیمارها پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است.هموگلوبین‌خون ماهیان در زمستان مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص هماتوکریت خون تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان هموگلوبین خون در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و پاییز خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری برفصل بوده است. هماتوکریت خون ماهیان در دریا مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص متوسط هموگلوبین خون تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان متوسط هموگلوبین خون در فصل زمستان خلیج بالاترین میزان و زمستان دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری برفصل بوده است. متوسط هموگلوبین خون ماهیان در خلیج مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص غلظت متوسط هموگلوبین خون تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان غلظت‌متوسط هموگلوبین‌خون در فصل زمستان دریا بالاترین میزان و سایر فصول پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر متقابل فصل و محل نمونه‌برداری بوده است. غلظت متوسط هموگلوبین خون ماهیان در زمستان دریا مقدار بیش‌تری را نشان‌داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص حجم متوسط گلبول قرمز خون تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان حجم متوسط گلبول قرمز خون در فصل زمستان خلیج بالاترین میزان و زمستان دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل بوده است. حجم متوسط گلبول قرمزخون ماهیان در خلیج مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص نوتروفیل خون تاثیر معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان نوتروفیل خون در همه تیمارهای مورد بررسی یکسان بود. هرچند از نظر عددی فصل زمستان‌خلیج بالاترین میزان و زمستان‌دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل بوده است. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص لنفوسیت خون تاثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان لنفوسیت خون در فصل پاییز خلیج بالاترین میزان و زمستان دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری برفصل بوده است. لنفوسیت خون ماهیان در خلیج مقدار بیش‌تری را نشان داد.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

جدول ۲: تغییرات فاکتورهای شاخص‌های خون‌شناسی خون ماهی کفال طلایی در دو فصل پاییز و زمستان (n=۷)

پارامترهای خونی	فصل و موقعیت ایستگاه			
	پاییز دریا	پاییز خلیج	زمستان دریا	زمستان خلیج
گلبول سفید (10^3 میلیون در مترمکعب)	۳۹۱۶۶/۵۰۰۸۵±۶۶/۱۶^{a}	۱۲۱۳۳/۱۵۲±۳۳/۷۵^{b}	۱۰۳۴۵/۳±۰۰/۰۰^{b}	۱۰۷۳۳/۲۵۱±۳۳/۶۶^{b}
گلبول قرمز (10^3 میلیون در مترمکعب)	۱/۰±۳۲/۰۴^{b}	۱/۰±۱۲/۰۵^{c}	۸/۰±۹۰/۲۰^{a}	۱/۰±۱۳/۰۷^{bc}
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۸/۰±۳۳/۱۵^{b}	۷/۰±۳۶/۲۵^{c}	۲۶/۰±۵۳/۸۱^{a}	۷/۰±۹۳/۱۵^{bc}
هماتوکریت (٪)	۲۴/۰±۶۳/۱۵^{a}	۲۲/۰±۳۰/۲۰^{c}	۲۳/۰±۵۶/۵۳^{b}	۲۳/۰±۵۶/۵۰^{b}
میزان متوسط هموگلوبین (پیکوگرم)	۶۲/۱±۹۰/۰۳^{c}	۶۵/۱±۷۵/۸۵^{b}	۲۹/۰±۸۱/۳۹^{d}	۶۹/۱±۸۱/۱۷^{a}
غلظت متوسط هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۳۳/۰±۸۲/۴۰^{b}	۳۳/۰±۰۳/۸۳^{b}	۱۱۲/۲±۵۸/۴۰^{a}	۳۳/۰±۶۶/۰۸^{b}
حجم متوسط گلبول قرمز (میکرومتر مکعب)	۱۸۵/۰±۹۶/۸۲^{c}	۱۹۹/۰±۱۰/۷۷^{b}	۲۶/۰±۴۸/۶۳^{d}	۲۰۷/۳±۳۸/۹۰^{a}
نوتروفیل (٪)	۹۵/۰±۳۳/۵۷^{a}	۹۳/۰±۶۶/۵۷^{a}	۸۵/۷±۳۳/۶۱^{a}	۹۴/۰±۶۶/۵۷^{a}
لنفوسیت (٪)	۴/۰±۶۶/۵۷^{b}	۶/۰±۳۳/۵۷^{a}	۴/۰±۶۶/۵۷^{b}	۵/۰±۳۳/۵۷^{ab}

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی‌دار بودن است (p<۰/۰۵).

بحث

از آن‌جاکه ویژگی‌های بیوشیمیایی خون به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های وضعیت سلامت ماهی محسوب می‌شود، شاخص‌های آنزیم کبدی و بیوشیمیایی سرم ماهی کفال طلایی مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج به‌دست آمده‌در این تحقیق، بیش‌ترین میزان ALT (۹/۳۳±۱/۷۰ واحد در هر لیتر) در فصل پاییز در دریا و کم‌ترین میزان (۱/۰±۶۳/۲۰ واحد در هر لیتر) در فصل زمستان در خلیج دیده شده است. هم‌چنین در خصوص تغییرات مربوط به معیار AST بیش‌ترین میزان (۱۸۸/۶۶±۲۹/۴۸ واحد در هر لیتر) در پاییز دریا و کم‌ترین میزان (۴۷/۵۰±۸/۵۴ واحد در هر لیتر) در زمستان خلیج مشاهده شده است. AST (SGOT) به‌طور طبیعی در انواع مختلف بافت‌ها از قبیل کبد، قلب، ماهیچه، کلیه و مغز قرار دارد. قسمت عمده ALT (SGPT) برعکسAST به‌طور طبیعی آن در کبد یافت می‌شود. اگرچه نمی‌توان گفت که این آنزیم منحصراً در کبد قرار دارد اما کبد جایی است که در برگیرنده بیش‌ترین غلظت این آنزیم است (Di Giulio و Hinton، ۲۰۰۸). اگرچه آنالیز آنزیم‌های سرمی به‌عنوان ابزاری کارآمد و سریع در ردیابی‌اثر آلاینده‌ها بر اندام‌های مشخص ماهیان است، برای ردیابی اختصاصی اثرات آلاینده‌ها بر اندام‌های‌مشخص،علاوه بر سنجش سرم، آنالیز ایزوآنزیم‌های اختصاصی هر اندام در بافت نیز ضروری به‌نظر می‌رسد. در مجموع بررسی شاخص‌های آنزیمی نشان داد که دما تأثیرات زیادی بر عملکرد سلول‌های کبد و نهایتاً ترشح و فعالیت آنزیم‌های کبدی‌می‌گذارد و کاهش دما با تخریب بافت‌کبدی منجر به کاهش آنزیم‌های عملکرد کبد نظیر ALT و AST می‌شود و از طرف دیگر با تخریب نفوذپذیری غشاء و اختلال در‌عملکرد‌غشاء باعث کاهش ALK می‌شود(DiGiulio و Hinton، ۲۰۰۸).براین‌اساس‌نتایج تحقیق حاضر همانند تحقیقات مشابه کبیریان و همکاران (۱۳۹۱) و عضدی و همکاران (۱۳۹۳)، تاثیرپذیری آنزیم‌های کبدی در اثر تغییر شرایط محیطی برماهیان را تایید می‌کند. در ماهیان استخوانی، افزایش سطح گلوکز و کورتیزول سرم به‌عنوان شاخصی در پاسخ به استرس در نظر گرفته می‌شود (Gad، ۲۰۰۷). به‌طورکلی افزایش سطح گلوکز پلاسما در ماهی می‌تواند‌در اثر محرک‌های استرس‌آور ایجاد شود. محرک‌های استرس‌آور می‌تواند در اثر تغییر دمای آب یا تغییر جیره و غیره ایجاد شود. هم‌چنین می‌توان این‌گونه بیان کرد که میزان گلوکز به فعالیت تغذیه‌ای، استرس و سایرعوامل ناشناخته ارتباط دارد.کبد اندام مصرف کننده، تولیدکننده و ذخیره کننده گلوکز محسوب می‌شود، از این‌رو آسیب کبدی بیش‌تری تأثیر را در مقدار گلوکز خون گذاشته و گلوکز می‌تواند نشانگر مناسبی برای آلاینده‌های مخربی کبدی در نظر گرفته شود (Van der Oost و همکاران، ۲۰۰۳). نگه‌داری گلوکز اضافی خون در‌کبدماهیان‌استخوانی‌ناکافی‌است،زیرا‌انسولین‌و‌گیرنده‌های انسولین در کبد ماهیان بسیار کم بوده و قدرت ذخیره گلوکز را کاهش می‌دهد (DiGiulio و Hinton، ۲۰۰۸).هم‌چون یافته‌های پیشین (حافظ‌امینی و همکاران، ۱۳۸۲)،در‌تحقیق‌حاضرنیز شاخص‌های گلوکز و کورتیزول سرم به‌خوبی در‌شرایط محیطی متفاوت تغییرات معنی‌داری‌نشان داد. به‌هرحال شرایط محیطی متفاوتی در طول دوره نمونه‌برداری برای کفال ماهی طلایی در دریای خزر و خلیج گرگان در تمامی دوره نمونه‌برداری یکسان نبوده و مجموعه این عوامل نقش زیادی را در تغییرات معیارهای خون‌شناسی این ماهی ایفا می‌نماید. عواملی چون تغییرات دما، شوری آب، عمق آب و آلودگی‌های وارده به خلیج گرگان ونوع و مقادیر آن و دیگر شرایط موجود در آب‌های دریای خزر مجموعاً به‌صورت کمپلکسی از شرایط موجود، بر فیزیولوژی و هماتولوژی این ماهی تاثیر گذار می‌باشد. هنگامی‌که ماهی تحت استرس است نیاز به انرژی افزایش یافته و پروتئین نیز به‌عنوان منبع انرژی کاهش می‌یابد (DiGiulio و Hinton، ۲۰۰۸). کاهش پروتئین کل می‌تواند به‌دلیل

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

شکستن پروتئین به واحدهای اسید آمینه تحت استرس باشد. کاهش پروتئین می‌تواند به‌دلیل سرکوب متابولیسم پروتئین در کبد یا استفاده از پروتئین در ساخت سلول‌های جدید یا آنزیم‌ها برای کاهش استرس باشد. در مجموع شاخص‌های بیوشیمیایی نشان دادند که تحت تأثیر فصل و محل زیست دارای تغییرات گسترده‌ای هستند و استرس ناشی از آلودگی‌ها و دما منجر تغییرات گسترده‌ای می‌گردد. به‌طورکلی محققین معتقد هستند که فاکتورهای خونی ماهیان در گونه‌های مختلف متفاوت و ارتباط زیادی با شرایط محیطی دارند، بنابراین باید برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. اکولوژی ماهی روی فاکتورهای خونی تاثیر می‌گذارد (سعیدی و همکاران، ۱۳۷۸). نکته مهم در مطالعه پارامترهای خون شناسی ماهی این است که پارامترهای خون‌شناسی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مجموعه‌ای از فاکتورهای محیطی و بیولوژیک قرار دارند. لذا ضرورت دارد که تفسیر نتایج حاصل از مطالعه پارامترهای خونی، از اثر فاکتورهای مذکور بر پارامترهای خون‌شناسی آگاهی داشت. بیش‌ترین مقدار هموگلوبین (۵۳/۸۱±۲۶/۰ گرم/دسی‌لیتر) در زمستان دریا و کم‌ترین مقدار (۳۶/۲۵±۷/۰گرم/دسی‌لیتر) در پاییز خلیج مشاهده شد. غلظت هموگلوبین و تعداد اریتروسیت‌ها بسته به گونه ماهی متفاوت است. این تفاوت می‌تواند فصلی نیز باشد. مخصوصاً تغییر دما و اکسیژن اشباع بر پارامترهای خونی موثر است. یافته‌های برخی از محققین نیز نشان می‌دهد در خون ماهی در معرض استرس، اغلب میزان غلظت هموگلوبین و گلبول‌های قرمز و سطح هماتوکریت افزایش نشان می‌دهد (Evans، ۲۰۰۹). با توجه به وجود مقادیر متفاوت شاخص‌های خون شناسی ماهی کفال در شرایط مختلف محیطی (مکانی-زمانی) تحقیق حاضر و روند یکسان همه شاخص‌های خونی می‌توان نتیجه گرفت که تغییر در سایت‌های مختلف رشد و فصول مختلف می‌تواند بر تمام شاخص‌های خون‌شناسی تاثیرگذار باشد که این امر مشابه یافته‌های پیشین نظیر Baker و همکاران (۲۰۰۵)، Van der Oost و همکاران (۲۰۰۳) و Evans (۲۰۰۹) می‌باشد. در مجموع بررسی شاخص‌های هماتولوژیک و ایمنولوژیک نشان داد که شرایط محیطی تأثیرات زیادی بر عملکرد و مقدار سلول‌های خونی گذاشته و اکثر این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان دادند هرچند شاخص‌های هماتولوژیک به‌دلیل عدم همسانی روند تغییرات و همبستگی کم‌تر، کارایی کم‌تری نسبت به شاخص‌های ایمنی داشتند. هم‌چنین بررسی شاخص‌های آنزیمی نشان داد که میزان تمامی شاخص‌ها در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. نشان‌دهنده تاثیر دما بر فعالیت آنزیمی کبد بوده و با کاهش دما این فعالیت کاهش می‌یابد. بررسی نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی نشان داد که این شاخص‌ها روند یکسانی نداشته و از یک خصوصیت واحد تبعیت نمی‌کنند و هر شاخص در شرایط محیطی و فصول مختلف پاسخ های متفاوتی نشان می‌دهند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی دریا دانشگاه گنبد کاووس و با حمایت‌های مادی و معنوی آن دانشگاه صورت گرفته است.

منابع

۱. **پازوکی، چ.؛ ابطحی، ب. و رضایی، ف.، ۱۳۸۸.** سنجش میزان فلزات سنگین (Cd, Cr) در بافت پوست و عضله کفال طلایی دریای خزر منطقه انزلی. علوم محیطی.دوره ۷،شماره ۱،صفحات ۲۱ تا ۳۲.

۲. **حافظامینی، پ.؛ عریان، ش. و پریور، ک.، ۱۳۸۲.** بررسی اثرات ناشی از استرس کلر و سدیم روی قند خون و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران. سال ۱۲، شماره ۳، صفحات ۳ تا ۴۲.

۳. **سعیدی، ع. و پورغلام، ر.، ۱۳۷۸.** بررسی و مقایسه سلول‌های خونی سفید و شمارش افتراقی آن‌ها در ماهیان قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴. صفحات ۱۰ تا ۱۶.

۴. **عضدی، م.؛ ابراهیمی، ع.؛ متقی، ا. و مرشدی، و.، ۱۳۹۳.** بررسی برخی عوامل بیوشیمیایی پلاسمای خون ماهی انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره‌های گرسنگی کوتاه مدت. مجله علمی اقیانوس شناسی. سال ۵، شماره ۱۹، صفحات ۵۳ تا ۵۹.

۵. **عقیلی، ک. و محمدی، ف. ۱۳۸۹.** بررسی میزان صید ماهی کفال پوزه‌باریک (*Liza saliens*) در خلیج گرگان. مجله علوم زیستی لاهیجان. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۴۷ تا ۵۶.

۶. **کبیریان، م.؛ شاهسونی، د. و کازرانی، ح.، ۱۳۹۱.** تعیین میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های سرم خون مولدین ماهی سفید. مجله علمی پزشکی ایران. دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۷۴ تا ۶۲.

۷. **مهری، ز.؛ تقوی، ل.؛ ولی‌نسب، ت. و پورغلام، ر.، ۱۳۹۵.** سنجش غلظت فلزات سنگین (سرب، کادمیوم و جیوه) در عضله ماهی کفال پوزه باریک و ارزیابی خطر ناشی از مصرف آن. علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره ۱۸، ویژه نامه شماره۲، صفحات ۲۲۵ تا ۲۳۹.

۸. **هدایتی، س.ع.؛ باقری، ط.؛ یاوری، و.؛ بهمنی، م. و علیزاده، م.، ۱۳۷۸.** بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی (*Husohuso*) در آب لب‌شور. مجله زیست‌شناسی ایران. دوره ۲۱، شماره ۴، صفحات ۹ تا ۱۹.

۹. **Baker, D.W.; Wood, A.M.; Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005.** Haematology of juvenile (*Acipenser oxyrinchus*) and (*Acipenser brevirostrum*) at rest and following forced activity. Journal of Fish Biology. Vol. 66, pp: 208-221.

۱۰. **Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E., 2008**. The Toxicology of Fishese. Taylor & Francis Group. 1101 p.

۱۱. **Evans, G.O., 2009.** Animal Hematotoxicology. CRC Press. 204 p.

۱۲. **Gad, S.C., 2007.** Animal Models in Toxicology. CRC Press. 950 p.

۱۳. **Van der Oost, R.; Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers inenvironmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 13, pp: 57-149.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.126837

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 4, Winter 2020

Evaluation of some hematological and biochemical indices of Golden gray mullet, *Liza aurata* in Gorgan Bay, Caspian Sea

- **Fataemeh Mahmoodi*:** Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
- **Sakineh Alijanpoor:** Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
- **Hojatillah Jafaryan:** Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
- **Eisa Jorjani:** Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
- **Seyed Mostafa Aghilinejad:** Department of sturgeon affairs of Golestan province, Agricultural services specialized Holding company, Gorgan, Iran

Received: August 2019 Accepted: November 2019

Key words: Biomarker, Caspian Sea, Haematology, *Liza aurata*

Abstract

Golden gray mullet, *Liza aurata* is one of the most valuable and sensitive species in the Caspian Sea. Given the possibility of catching Caspian bony fish only in the second six months of each year, the present study was conducted from autumn to winter 2015 in the Caspian Sea and Gorgan Bay to investigate the effect of season and habitat on hematological and biochemical analysis of golden mullet fish serum. 30 golden mullet fish that were caught in both seasons randomly from the Caspian Sea and Gorgan Bay with a blade net were studied. The blood study was divided into two sections: blood serum studies (liver enzymes, cortisol, glucose and protein) and hematological indices (blood and differential cells). The results of enzymatic indices showed that all indices had the highest amount in the autumn seasons and the lowest in the winter, indicating a greater influence of the season on sampling location. The results of hematological, immunological and biochemical indices showed that these indices did not follow the same trend and did not adhere to a single characteristic and each index showed different responses under different environmental conditions and seasons. Overall, the results of this study confirm that the blood and serum parameters of mullet fish in different environmental and time conditions have different responses and among these parameters, the enzymatic parameters showed significant trend and could be suitable biomarkers.

* Corresponding Author's email: Mahmoodif1990@gmail.com