

بررسی برخی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم ماهی کفال طلایی (*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 ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۸

چکیده

ماهی کفال طلایی (*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 ۱۳۹۴ 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 ۳۰ قطعه ماهی کفال طلایی که در هر دو فصل به صورت تصادفی از دریای خزر و خلیج گرگان با تور پره صید شدند، مورد مطالعه قرار گرفت. 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 می‌تواند بيومارک‌های مناسبی محسوب شوند.

کلمات کلیدی: دریای خزر، ماهی کفال طلایی، بيومارکر، خون‌شناسی



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 (دنا توره 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 پر مصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند. آن‌ها اسپاراتات 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 نشانه‌ای 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) در عضله 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 و نمونه‌های خون در مجاورت یخ جهت تهیه سرم و انجام مطالعات خون‌شناسی به آزمایشگاه هماتولوژی دانشگاه گنبد کاووس 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 دریای 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 (۳۰ ppm) (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 گل‌میخک، 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 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

اپندرف، ای پی او اس ساخت کشور آلمان اندازه گیری شدند (کبیریان و همکاران، ۱۳۹۱). شیوه نمونه برداری به صورت سیستماتیک تصادفی بوده و در قالب کاملاً تصادفی اجراء گردید. نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ولیک استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۰ و از طریق طرح فاکتوریل دو متغیره و به صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. همه نتایج به دست آمده به وسیله میانگین $\pm$ انحراف معیار محاسبه شدند. معنی داری شاخص ها در سطح ۰/۰۵ بیان گردید. هم چنین نمودارها در برنامه اکسل ۲۰۱۰ رسم شد.

نتایج

در این فصل بر مبنای داده های به دست آمده، معیارهای خون شناسی و معیارهای ایمنی شناسی تعیین گردیدند. تمامی داده ها 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 شاخص های

بیوشیمیایی سرم: بررسی تاثیر فصل و موقعیت ایستگاه بر برخی شاخص های بیوشیمیایی سرم ماهی کفال در جدول ۱ آمده است. آنالیز آماری نتایج نشان داد که تمامی شاخص ها دارای تغییر معنی دار بوده ($p < 0.05$) و فصل و مکان نمونه برداری بر این شاخص ها موثر بوده است.

با دور rpm ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا سرم از خون جدا شود (هدایتی و همکاران ۱۳۸۷). سپس اندازه گیری شاخص های سرمی در نمونه های منجمد صورت گرفت. تعداد گلبول های قرمز خون و تعداد گلبول های سفید خون پس از رقیق سازی خون به ترتیب به نسبت ۲۰۰ و ۵۰ برابر با استفاده از لام هموسیتمومتر شمارش گردید. شمارش کلی گلبول های 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 نات-هرویک با ترکیب اشاره شده در ذیل استفاده شد. هموگلوبین به روش 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 به روش متداول برای پستانداران و پرندگان یعنی روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله های میکروهماتوکریت و سانتریفیوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت صورت پذیرفت. سایر شاخص های خونی با استفاده از فرمول های استاندارد محاسبه گردید: مثلاً شاخص MCHC با فرمول $MCHC (mg\ l^{-1}) = Hb (mg\ dl^{-1}) / Ht (ratio)$ ، $MCH = HB * 10 / RBC$ (سعیدی و پورغلام، ۱۳۷۸). شاخص بیوشیمیایی گلوکز سرم و آنزیم های کبدی آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکانین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه آنالیزر مدل

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

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

در هر ردیف حروف لاتین غیرمشترک نشانه معنی دار بودن است ($p < 0.05$).

فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آلانین آمینوترانسفراز سرم تاثیر معنی داری داشت ($p < 0.05$)، به طوری که میزان آلانین آمینوترانسفراز سرم در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و زمستان خلیج پایین ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش تر فصل بر محل نمونه برداری بوده است. آلانین آمینوترانسفراز سرم ماهیان در پاییز مقدار بیشتری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آسپارات آمینوترانسفراز سرم تاثیر معنی داری داشت ($p < 0.05$)، به طوری که میزان آسپارات آمینوترانسفراز

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص آلکانین فسفاتاز سرم تاثیر معنی داری داشت ($p < 0.05$)، به طوری که میزان آلکانین فسفاتاز سرم در فصل پاییز خلیج بالاترین میزان (۴۴/۱۷±۰۶/۰۱) و زمستان خلیج پایین ترین میزان (۱۳/۱۳±۱۳/۳۳) را داشت که حاکی از تاثیر بیش تر فصل بر محل نمونه برداری بوده است، هر چند بررسی دو سایت دریا و خلیج در بازه زمانی پاییز حاکی از تاثیر بیش تر محل نمونه برداری در زمان پاییز می باشد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که در مجموع



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، به‌نحوی که در برخی نمونه‌ها تاثیر فصل معنی‌دار بوده و در برخی تاثیر محل موثرتر بوده است. آسپارات 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که 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 ($p > 0.05$)، به‌طوری که 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که 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 سفید خون ماهیان در پاییز دریا مقدار بیش‌تری را نشان داد. بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که در مجموع فصل و موقعیت ایستگاه بر شاخص تعداد گلبول‌های قرمز خون تاثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان تعداد گلبول‌های قرمز خون در فصل زمستان دریا بالاترین میزان و پاییز خلیج 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان هموگلوبین خون

در فصل زمستان دریا بالاترین میزان و سایر تیمارها پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. هموگلوبین 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 هماتوکریت خون تاثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان هموگلوبین خون در فصل پاییز دریا بالاترین میزان و پاییز خلیج پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان متوسط هموگلوبین 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. 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان غلظت متوسط هموگلوبین خون 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 نشان داد. 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که 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 قرمز 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 نوتروفیل خون تاثیر معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$)، به‌طوری که میزان نوتروفیل خون در همه تیمارهای مورد بررسی یکسان بود. هرچند از نظر عددی فصل زمستان خلیج بالاترین میزان و زمستان دریا 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 ($p < 0.05$)، به‌طوری که میزان لنفوسیت خون در فصل پاییز خلیج بالاترین میزان و زمستان دریا پایین‌ترین میزان را داشت که حاکی از تاثیر بیش‌تر محل نمونه‌برداری بر فصل بوده است. لنفوسیت خون ماهیان در خلیج مقدار بیش‌تری را نشان داد.

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

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

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

بحث

از آن جاکه ویژگی های بیوشیمیایی خون به عنوان یکی از مهم ترین شاخص های وضعیت سلامت ماهی محسوب می شود، شاخص های آنزیم کبدی و بیوشیمیایی سرم ماهی کفال طلایی مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده در این تحقیق، بیش ترین میزان ALT (۹/۳۳±۱/۷۰) واحد در هر لیتر در فصل پاییز در دریا و کم ترین میزان (۱/۰±۶۳/۲۰) واحد در هر لیتر در فصل زمستان در خلیج دیده شده است. هم چنین در خصوص تغییرات مربوط به معیار AST بیش ترین میزان (۱۸۸/۶۶±۲۹/۴۸) واحد در هر لیتر در پاییز دریا و کم ترین میزان (۴۷/۵۰±۸/۵۴) واحد در هر لیتر در زمستان خلیج مشاهده شده است. AST (SGOT) به طور طبیعی در انواع مختلف بافت ها از قبیل کبد، قلب، ماهیچه، کلیه و مغز قرار دارد. قسمت عمده ALT (SGPT) برعکس AST به طور طبیعی آن در کبد یافت می شود. اگرچه نمی توان گفت که این آنزیم منحصرأ در کبد قرار دارد اما کبد جایی است که در برگزیده بیش ترین غلظت این آنزیم است (Hinton و Di Giulio، ۲۰۰۸). اگرچه آنالیز آنزیم های سرمی به عنوان ابزاری کارآمد و سریع در ردیابی اثر آلاینده ها بر اندام های مشخص ماهیان است، برای ردیابی اختصاصی اثرات آلاینده ها بر اندام های مشخص، علاوه بر سنجش سرم، آنالیز ایزوآنزیم های اختصاصی هر اندام در بافت نیز ضروری به نظر می رسد. در مجموع بررسی شاخص های آنزیمی نشان داد که دما تأثیرات زیادی بر عملکرد سلول های کبد و نهایتاً ترشح و فعالیت آنزیم های کبدی می گذارد و کاهش دما با تخریب بافت کبدی منجر به کاهش آنزیم های عملکرد کبد نظیر ALT و AST می شود و از طرف دیگر با تخریب نفوذپذیری غشاء و اختلال در عملکرد غشاء باعث کاهش ALK می شود (Hinton و Di Giulio، ۲۰۰۸). بر این اساس نتایج تحقیق حاضر همانند تحقیقات مشابه کبیریان و همکاران (۱۳۹۱) و عضدی

و همکاران (۱۳۹۳)، تأثیرپذیری آنزیم های کبدی در اثر تغییر شرایط محیطی بر ماهیان را تأیید می کند. در ماهیان استخوانی، افزایش سطح گلوکز و کورتیزول سرم به عنوان شاخصی در پاسخ به استرس در نظر گرفته می شود (Gad، ۲۰۰۷). به طور کلی افزایش سطح گلوکز پلاسما در ماهی می تواند در اثر محرک های استرس آور ایجاد شود. محرک های استرس آور می تواند در اثر تغییر دمای آب یا تغییر جیره و غیره ایجاد شود. هم چنین می توان این گونه بیان کرد که میزان گلوکز به فعالیت تغذیه ای، استرس و سایر عوامل ناشناخته ارتباط دارد. کبد اندام مصرف کننده، تولیدکننده و ذخیره کننده گلوکز محسوب می شود، از این رو آسیب کبدی بیش تری تأثیر را در مقدار گلوکز خون گذاشته و گلوکز می تواند نشانگر مناسبی برای آلاینده های مخربی کبدی در نظر گرفته شود (Van der Oost و همکاران، ۲۰۰۳). نگهداری گلوکز اضافی خون در کبد ماهیان استخوانی ناکافی است، زیرا انسولین و گیرنده های انسولین در کبد ماهیان بسیار کم بوده و قدرت ذخیره گلوکز را کاهش می دهد (Hinton و Di Giulio، ۲۰۰۸). هم چون یافته های پیشین (حافظ امینی و همکاران، ۱۳۸۲)، در تحقیق حاضر نیز شاخص های گلوکز و کورتیزول سرم به خوبی در شرایط محیطی متفاوتی در طول دوره نمونه برداری برای کفال ماهی طلایی در دریای خزر و خلیج گرگان در تمامی دوره نمونه برداری یکسان نبوده و مجموعه این عوامل نقش زیادی را در تغییرات معیارهای خون شناسی این ماهی ایفا می نماید. عواملی چون تغییرات دما، شوری آب، عمق آب و آلودگی های وارد به خلیج گرگان و نوع و مقادیر آن و دیگر شرایط موجود در آب های دریای خزر مجموعاً به صورت کمیلکسی از شرایط موجود، بر فیزیولوژی و هماتولوژی این ماهی تأثیر گذار می باشد. هنگامی که ماهی تحت استرس است نیاز به انرژی افزایش یافته و پروتئین نیز به عنوان منبع انرژی کاهش می یابد (Hinton و Di Giulio، ۲۰۰۸). کاهش پروتئین کل می تواند به دلیل



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 پاسخ‌های 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، ج.؛ 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.؛ عربان، ش. و پرور، 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 اقیانوس‌شناسی. سال ۵، شماره ۱۹، صفحات ۵۳ تا ۵۹.
۵. عقیلی، ک. و محمدی، ف.، ۱۳۸۹. بررسی میزان صید ماهی کفال پوزه باریک (*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 شماره ۲، صفحات ۲۲۵ تا ۲۳۹.
۸. هدایتی، س.ع.؛ باقری، ط.؛ یآوری، 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 Fishes. 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 in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 13, pp: 57-149.

شکستن پروتئین به واحدهای اسید آمینه تحت استرس باشد. کاهش پروتئین می‌تواند به دلیل 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. به‌طور کلی 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 تأثیر می‌گذارد (سعیدی و همکاران، ۱۳۷۸). نکته مهم در مطالعه پارامترهای خون شناسی ماهی این است که پارامترهای خون‌شناسی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر 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 ($53/81 \pm 26/0$ گرم/دسی‌لیتر) در زمستان دریا و کم‌ترین مقدار ($36/25 \pm 7/0$ گرم/دسی‌لیتر) در پاییز خلیج مشاهده شد. غلظت هموگلوبین و تعداد اریتروسیت‌ها بسته به گونه‌های 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, 2009). 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 تأثیرگذار باشد که این امر مشابه یافته‌های پیشین نظیر Baker و همکاران (2005)، Van der Oost و همکاران (2003) و Evans (2009) 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 به دلیل 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 تأثیر بیش‌تر فصل بر محل نمونه‌برداری بوده است. نشان‌دهنده تأثیر دما بر فعالیت آنزیمی کبد بوده و با کاهش دما این فعالیت کاهش می‌یابد. بررسی نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، خون‌شناسی و

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

