نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲
۳۵۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱۵

تعیین پروفایل پارامترهای سیتولوژیک خون فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

❖ **رضوان‌اله کاظمی*:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **محمد پوردهقانی:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **ایوب یوسفی جوردهی:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **محمود بهمنی:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **سهراب دژندیان:** مرکز تحقیقات آبزی‌پروری آب‌های داخلی- گیلان، بندر انزلی، ص.پ: ۶۶
❖ **علی حلاجیان:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **مهتاب یارمحمدی:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **محمدعلی یزدانی ساداتی:** مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر- گیلان، رشت، جوار سد سنگر، ص.پ: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵
❖ **بابک تیزکار:** مرکز آموزش کشاورزی میرزا کوچک‌خان گیلان- رشت، روبروی شهر صنعتی رشت، ص.پ: ۱۴۵۶-۴۱۶۳۵

چکیده

این تحقیق با ۲۴ قطعه فیل ماهی پرورشی (۸ نر و ۱۶ ماده)، که در استخرهای مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر پرورش یافته بودند، به مدت ۳ سال انجام شد. نمونه‌برداری و سنجش پارامترهای خونی در ۱۲ تکرار و در مراحل مختلف رسیدگی جنسی انجام شد. نتایج نشان داد که درصد هماتوکریت (PVC)، غلظت هموگلوبین (Hb) و تعداد کل یاخته‌های قرمز (RBC) خون فیل ماهی نر بیش از ماده بود و در هر دو جنس با افزایش رسیدگی جنسی، به ویژه در مرحلهٔ چهارم، افزایش یافتند. میانگین حجم یاختهٔ قرمز (MCV) و میانگین هموگلوبین یاختهٔ قرمز (MCH) خون فیل ماهی نر فاقد اختلاف معنادار با ماهی ماده بود، ولی میانگین درصد غلظت هموگلوبین یاختهٔ قرمز (MCHC) در دو جنس با یکدیگر اختلاف معنادار داشت. تعداد کل یاخته‌های سفید (WBC) خون فیل ماهی نر به طور معناداری کمتر از ماهی ماده بود. این شاخص در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده اختلاف معناداری نداشت. در هر دو جنس نر و ماده، بیشترین میانگین درصد یاخته‌های سفید خون را به ترتیب یاخته‌های لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت تشکیل می‌دادند. در این پژوهش هیچ یاختهٔ بازوفیلی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که دامنهٔ پروفایل فاکتورهای خونی فیل ماهی پرورشی در محدودهٔ سایر تاسماهیان بود و بیشتر پارامترهای خونی فاکتورهای وابسته به جنسیت (نر یا ماده) بودند و کمتر تحت تأثیر مراحل رسیدگی جنسی قرار داشتند.

واژگان کلیدی: پروفایل سیتولوژی، جنسیت، شاخص‌های خونی، فیل ماهی پرورشی، مرحلهٔ جنسی.

* نویسندهٔ مسئول: E-mail:Rezkazemi2000@yahoo.com

۱. مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های مهم تجاری ماهیان خاویاری دریای خزر و گونهٔ اصلی پرورشی تاسماهیان در نقاط مختلف نیم‌کرهٔ شمالی جهان است که جمعیت آنها همانند سایر گونه‌های ماهیان خاویاری به دلایل مختلف زیستی و انسانی (آلودگی، تخریب زیستگاه طبیعی، صید بی‌رویه و غیره) به‌شدت در حال کاهش است (FAO, 2010). مطالعه در زمینهٔ پارامترهای خونی ماهیان به طور عملی از دههٔ ۱۹۸۰ میلادی آغاز شد و اولین کارهای تخصصی در این خصوص عمدتاً روی کپورماهیان (*Cyprinidae*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت پذیرفت (Kazemi *et al*., 2010). در دو دههٔ گذشته پژوهش‌های متنوع و گستردهٔ خون‌شناسی در زمینه‌های مختلف خون از جمله اثر سن و مراحل رسیدگی جنسی و جنسیت (Bahmani, *et al*., 2001؛ Youneszadeh Bahmani *et al*., 2007؛ Fashalemi *et al*., 2007؛ Falahatkar, *et al*., 2002)، نوع گونه (Zexia, *et al*., 2007; Ajani, 2008; Kori-Siakpere *et al*., 2005; Rough *et al*., 2005) و محیط‌های پرورشی و طبیعی (Pourgholam, *et al*., 1996؛ Yousefi Jourdehi, 2006; Bahmani *et al*., 2001; Borges *et al*., 2004; Tavares and Moraes, 2007; Shigdar *et al*., 2007; Jamalzadeh *et al*., 2008; Kazemi *et al*., 2012) در گونه‌های مختلف تاسماهیان انجام گرفت. یافته‌های منتج از پژوهش‌های خون‌شناسی ماهیان می‌تواند پاسخگوی بسیاری از ابهامات در زمینهٔ سلامت، مراحل زندگی، گله‌های مولد مناسب و مراحل مختلف رسیدگی جنسی آنها باشد (Kazemi *et al*., 2010). ماهیان به‌شدت به محیط خود وابسته‌اند و در نتیجه فیزیولوژی بدن آنها تحت تأثیر شرایط محیطی خواهد بود. بنابراین، مقادیر طبیعی فاکتورهای خونی برای هر گروه از ماهیان در یک محیط ممکن است برای گروه دیگر غیرطبیعی باشد. تغییرات پارامترهای خونی، در واقع پاسخ یک گونهٔ مشخص ماهی به تغییرات محیط زیست خود در آن زمان خاص است. ویژگی‌های فیزیولوژیک خون ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ای، فنون نمونه‌برداری، مرحلهٔ رشد و نمو، اندازهٔ نمونه‌ها (Bani and Haghi Vayghan, 2011)، شرایط محیطی و پرورشی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، سن، مرحلهٔ تولید مثلی، جنسیت، تراکم و اکسیژن محلول (Hoseinifar *et al*., 2011) به آسانی تغییر می‌کنند و در مقدار داده‌های هماتولوژی تأثیر دارند. این تحقیق به منظور ایجاد بانک اطلاعاتی خون‌شناسی و نیز تعیین دامنهٔ طبیعی پارامترهای خونی جنسیت‌های نر و ماده فیل ماهی پرورشی، در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، انجام شد.

۲. مواد و روش کار

عملیات اجرایی این پژوهش به مدت ۳ سال (۱۳۸۷–۱۳۹۰) در بخش‌های فیزیولوژی و بیوشیمی و تکثیر و پرورش مؤسسهٔ تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر به انجام رسید. این تحقیق با ۲۴ قطعه فیل ماهی ($^{+}$۶ سال) پرورش‌یافته در استخرهای خاکی مؤسسه (۱۶ قطعه ماده و ۸ قطعه نر به ترتیب با میانگین وزن کل اولیهٔ ۷/۲±۱۶/۴۲ و ۵/۱۰±۲۰/۲۶ کیلوگرم و میانگین طول کل اولیهٔ ۸/۷±۱۴۹/۷۸ و ۱۴/۳±۱۵۴/۵۶ سانتی‌متر) انجام شد. ماهی‌ها پس از تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی، از طریق بیوپسی، به ۳ حوضچهٔ بتنی دوار سرپوشیده (هر حوضچه حاوی ۸ ماهی)، به قطر ۴ و ارتفاع ۱/۵ متر،

مجهز به سیستم هوادهی و برخوردار از آب رودخانهٔ سفیدرود و چاه انتقال یافتند. شرایط زیستی (اکسیژن محلول، دما و pH آب) در دورهٔ آزمایش برای همهٔ ماهیان یکسان و به ترتیب ۰/۳۵±۶/۱۴ میلی‌گرم در لیتر، ۱/۲۳±۱۷/۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد و ۰/۰۲±۷/۶۵ بود. مقدار غذا (ساخت مؤسسه با ترکیب شیمیایی؛ ۳۸-۴۰ درصد پروتئین، ۱۳-۱۵ درصد چربی و ۱۹/۵-۲۰ مگاژول بر کیلوگرم انرژی) طی دورهٔ آزمایش بین ۲-۳ درصد زیتوده در هر وان تعیین و هر ۶ ماه یک بار محاسبه شد و طی ۲۴ ساعت در ۲ نوبت به صورت دستی به ماهیان داده شد. در آغاز و پایان آزمایش و هر ۶ ماه یک بار، به منظور کنترل مراحل رسیدگی جنسی گناد فیل ماهیان مورد بررسی، از طریق بیوپسی و لاپاراسکوپی (شرکت Stema، مدل M-CAM1700 و تلسکوپ ۳۰ درجه، ۴ میلی‌متری، به طول ۱۷/۵ سانتی‌متر، منبع نوری سرد هالوژن W 250 آلمان) جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی آنها تعیین شد. خون‌گیری و مطالعات خون‌شناسی نیز در ۱۲ تکرار پیاپی به فاصلهٔ هر ۳ ماه یک بار انجام شد (از هر مرحلهٔ جنسی و از هر جنسیت ماده و نر ۱۲ بار نمونه‌برداری شد). خون‌گیری با استفاده از سرنگ 5cc و از طریق سیاهرگ دمی پشت بالهٔ مخرجی انجام شد. در هر مرحله مقدار 3cc خون از هر ماهی دریافت و برای انجام‌دادن مطالعات بعدی به آزمایشگاه خون‌شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی مؤسسه منتقل شد.

۱.۲. روش‌های بررسی پارامترهای خونی

شمارش یاخته‌های قرمز (RBC) و سفید خون (WBC) با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار دو حجره‌ای بر حسب میلی‌متر مکعب خون برای هر نمونه در دو حجره محاسبه شد. رقت انجام‌شده برای یاخته‌های قرمز خون ۱:۲۰۰ و برای یاخته‌های سفید خون ۱:۲۰ بود. یاخته‌های قرمز با لنز ۴۰ و یاخته‌های سفید با لنز ۲۰ میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 شمارش شدند.

درصد هماتوکریت خون (PVC) با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت (مدل D-78532 Tuttlingen. شرکت Hettich آلمان) با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه (Houston, 1990) محاسبه شد سپس، از خط‌کش مخصوص محاسبه استفاده شد. مقدار هموگلوبین (Hb) خون نیز به روش کالریمتریک سیانو هموگلوبین و به وسیلهٔ محلول معرف در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، انگلیس) و با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد.

گسترش خونی برای شمارش افتراقی یاخته‌های سفید خون به روش دو لامی تهیه و با گیمسای ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شد. برای محاسبهٔ درصد فراوانی هر گروه از یاخته‌ها (یاخته‌های مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و لنفوسیت)، از خون هر ماهی دو اسلاید و از هر اسلاید ۲۰۰ یاخته به روش زیگزاگ شمارش شد (Gao *et al*., 2007).

برای محاسبهٔ شاخص‌های گلبول قرمز از روابط ریاضی زیر استفاده شد (Stoskopf, 1993).

میانگین حجم یاختهٔ قرمز (Mean Corpuscular Volume) بر حسب فمتولیتر (fl) از رابطهٔ $MCV = \frac{Hct \times 10}{RBC}$، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (Mean Corpuscular Hemoglobin) بر

$$MCH = \frac{Hb \times 10}{RBC}$$

حسب پیکوگرم (pg) از رابطهٔ و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) بر حسب درصد از رابطهٔ

$$MCHC = \frac{Hb \times 100}{Hct}$$

به دست آمد.

۲.۲. آنالیزهای آماری

از آمار توصیفی برای بیان حداقل، حداکثر، میانگین، واریانس و خطای استاندارد مربوط به شاخص‌های خون‌شناسی استفاده شد. همچنین، به منظور مقایسهٔ دو گروه با یکدیگر از آزمون‌های تجزیهٔ واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای آزمون تفکیکی از آزمون جداساز دانکن و برای تعیین یکنواختی واریانس از آزمون Levene و برای تعیین اختلاف بین شاخص‌های خونی جنسیت‌های نر و ماده از آزمون Independent-Sample T-test استفاده شد. با نرم‌افزارهای Excel 2007 و SPSS17 داده‌ها آنالیز شدند. همهٔ داده‌ها به صورت Mean±SE (میانگین±خطای استاندارد) ارائه شده‌اند. نبود یک حرف مشابه روی داده‌های جدول نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنادار بین آنهاست (P<0/05).

۳. نتایج

نتایج شاخص‌های خونی فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در مراحل مختلف جنسی (جدول ۱) و مقایسهٔ شاخص‌های خونی در دو جنس نر و ماده (جدول ۲) نشان داد که میانگین درصد هماتوکریت (PVC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۲۳/۴۲±۰/۲۸، ۲۳/۶۴±۰/۵۲ و ۲۶/۸۸±۱/۵۰ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۵/۲۳±۱/۷۱، ۲۷/۶۷±۰/۵۶ و ۳۰/۴۱±۰/۷۳ درصد بود. در هر دو جنس بین مراحل دوم و سوم با مرحلهٔ چهارم رسیدگی جنسی همچنین، بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار بود (P<0/05).

میانگین غلظت هموگلوبین خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۶/۵۴±۰/۱۳، ۶/۷۱±۰/۲۴ و ۶/۹۹±۰/۳۴ گرم در دسی‌لیتر و در فیل ماهی نر به ترتیب ۷/۰۲±۰/۲۳، ۷/۱۰±۰/۲۳ و ۷/۷۹±۰/۲۰ گرم در دسی‌لیتر بود. در هر دو جنس غلظت هموگلوبین بین همهٔ مراحل رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنی‌دار (P>0/05) بود، ولی بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار وجود داشت (P<0/05).

میانگین تعداد کل یاخته‌های قرمز (RBC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۱۸۰۴۰/۲۳±۷۷۰۵۵۸/۱۰، ۲۲۹۱۰/۳۵±۷۲۰۷۱۰/۲۹ و ۶۰۹۴۰/۱۱±۸۲۶۲۵۰ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۵۶۳۹۰/۱۹±۸۰۰۷۷۰/۲۳، ۳۲۰۴۰/۱۷±۸۸۵۲۴۰/۱۰ و ۲۶۵۰۰/۹۸±۹۳۵۸۸۰/۳۵ عدد در میلی‌لیتر مکعب خون بود. در ماهی ماده تعداد RBC بین همهٔ مراحل جنسی فاقد اختلاف معنادار بود (P>0/05). همچنین، اختلاف تعداد این شاخص خونی بین مراحل دوم و سوم با مرحلهٔ چهارم رسیدگی جنسی ماهی نر همچنین، بین دو جنس نر و ماده معنادار بود (P<0/05).

همچنین، نتایج نشان داد که میانگین تعداد کل یاخته‌های سفید (WBC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۱۰۳۰/۵۲±۳۳۵۷۰/۷۹، ۱۵۰۰±۲۹۹۸۰ و ۳۷۱۰/۷۰±۳۴۷۵۰ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۷۶۰/۳۶±۲۹۶۱۰/۳۸، ۱۹۵۰/۹۰±۲۸۳۵۰/۵۷ و

۲۹۷۰۶/۸۰±۱۸۰۰/۴۰ عدد در میلی‌لیتر مکعب خون بود. در هر دو جنس، اختلاف تعداد یاخته‌های سفید بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی معنادار (P>0/05) نبود، اما بین دو جنس نر و ماده این اختلاف معنادار بود (P<0/05).

در خصوص حجم یاختهٔ قرمز (MCV)، نتایج نشان داد که میانگین این شاخص خونی در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۳۱۲/۳۳±۷/۰۶، ۳۳۳/۹۳±۹/۵۹ و ۳۳۲/۸۲±۲۰/۷۶ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۳۰۵/۳۳±۱۴/۵۰، ۳۱۹/۲۴±۱۰/۱۴ و ۳۲۷/۲۱±۸/۵۰ فمتولیتر بود. در هر دو جنس اختلاف میانگین حجم یاختهٔ قرمز بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی و نیز بین ماهیان نر و ماده معنادار نبود (P>0/05).

میانگین هموگلوبین یاختهٔ قرمز (MCH) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۸۶/۸۹±۲/۳۳، ۹۴/۷۲±۳/۷۰ و ۸۶/۹۲±۵/۴۰ و در ماهیان نر به ترتیب ۸۳/۵۰±۱/۸۷، ۸۳/۰۶±۳/۲۲ و ۸۴/۲۵±۲/۱۵ پیکوگرم بود. اختلاف این شاخص بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی در هر دو جنس و نیز بین ماهیان نر و ماده معنادار نبود (P>0/05).

بر اساس نتایج، درصد غلظت هموگلوبین یاخته‌های قرمز (MCHC) در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۲۷/۹۱±۰/۵۰، ۲۸/۴۹±۰/۹۲ و ۲۶/۲۳±۰/۹۶ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۲۷/۰۱±۱/۸۷، ۲۵/۵۸±۰/۶۲ و ۲۵/۷۵±۰/۶۳ درصد بود. درصد این شاخص خونی بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی نر و ماده فاقد اختلاف معنادار (P>0/05) بود، ولی بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنادار (P<0/05) وجود داشت.

نتایج درصد افتراقی یاخته‌های سفید خون نیز نشان داد که میانگین درصد یاختهٔ لنفوسیت خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۷۵/۵۹±۱/۱۰، ۷۶/۸۹±۱/۷۷ و ۸۲/۶۹±۱/۶۴ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۶۷/۱۵±۳/۹۹، ۷۴/۷۱±۱/۶۳ و ۷۶/۰۶±۲/۲۲ بود. اختلاف درصد یاخته‌های لنفوسیت خون بین مراحل مختلف جنسی فیل ماهی ماده معنادار (P>0/05) نبود، اما بین مرحلهٔ دوم با مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی فیل ماهی نر، و نیز بین دو جنس نر و ماده، این اختلاف معنادار بود (P<0/05).

میانگین درصد ائوزینوفیل خون نیز در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۸/۹۰±۰/۵۰، ۹/۶۱±۰/۷۶ و ۷±۱/۵۰ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۱۲/۶۲±۱/۹۰، ۷/۱۷±۰/۶۰ و ۷/۳۵±۱/۵۰ بود. اختلاف میانگین درصد یاختهٔ ائوزینوفیل در بین مراحل مختلف جنسی فیل ماهی ماده، و نیز بین دو جنس نر و ماده، معنادار (P>0/05) بود، اما در ماهی نر اختلاف بین دو مرحلهٔ جنسی سوم و چهارم معنادار (P>0/05) نبود؛ بین دو مرحلهٔ فوق و مرحلهٔ دوم اختلاف معنادار آماری (P<0/05) وجود داشت.

میانگین درصد نوتروفیل خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۱۲/۵۶±۰/۹۲، ۱۰/۴۱±۱/۴۷ و ۸/۱۳±۱/۱۸ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۱۶/۷۰±۳/۰۶، ۱۴/۷۶±۱/۵۱ و ۱۳/۰۳±۱/۸۴ بود. اختلاف میانگین درصد یاختهٔ نوتروفیل در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده معنادار (P>0/05) نبود، اما بین دو جنس نر و ماده این اختلاف معنادار بود (P<0/05).

جدول ۱. مقایسهٔ نتایج شاخص‌های خونی فیل ماهی نر و مادهٔ پرورشی مورد مطالعه (میانگین±SE) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در یک دورهٔ ۳ ساله

جنسیت	مراحل رسیدگی جنسی	PVC (%)	Hbdl (g/)	RBC (mm^3*10^3)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC (mm^3*10^3)	لنفوسیت (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)	نوتروفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)
نر	II	۲۵/۲۳±۱/۷۱^{a}	۷/۰۲±۰/۲۳^{a}	۸۰۰/۷۷±۵۶/۳۹^{a}	۳۰۵/۳۳±۱۴/۵۰^{a}	۸۳/۵۰±۱/۸۷^{a}	۲۷/۰۱±۱/۸۷^{a}	۲۹/۶۱±۲/۷۶^{a}	۶۷/۱۵±۳/۹۹^{a}	۱۲/۶۲±۱/۹۴^{a}	۱۶/۷۰±۳/۰۶a	۳/۵۴±۰/۷۲^{a}
	III	۲۷/۶۷±۰/۵۶^{a}	۷/۱۰±۰/۲۳^{a}	۸۸۵/۲۴±۳۲/۰۴^{a}	۳۱۹/۲۴±۱۰/۱۴^{a}	۸۳/۰۶±۳/۲۲^{a}	۲۵/۵۸±۰/۶۲^{a}	۲۸/۳۵±۱/۹۵^{a}	۷۴/۷۱±۱/۶۲^{b}	۷/۱۷±۰/۶۰^{b}	۱۴/۷۶±۱/۵۱a	۳/۳۶±۰/۵۰^{a}
	IV	۳۰/۴۱±۰/۷۳^{b}	۷/۷۹±۰/۲۰^{a}	۹۳۵/۸۸±۲۶/۵۰^{b}	۳۲۷/۲۱±۸/۵۰^{a}	۸۴/۲۵±۲/۱۵^{a}	۲۵/۷۵±۰/۶۳^{a}	۲۹/۷۰۶±۱/۸۰^{a}	۷۶/۰۶±۲/۲۲^{b}	۷/۳۵±۰/۷۰^{b}	۱۳/۰۳±۱/۸۴a	۳/۵۶±۰/۹۲^{a}
ماده	II	۲۳/۴۲±۰/۲۸^{a}	۶/۵۴±۰/۱۳^{a}	۷۷۰/۵۸۸±۱۸/۰۴^{a}	۳۱۲/۳۳±۷/۰۶^{a}	۸۶/۸۹±۲/۳۳^{a}	۲۷/۹۱±۰/۵۰^{a}	۳۳/۵۷±۱/۰۳^{a}	۷۵/۵۹±۱/۱۰^{a}	۸/۹۱±۰/۵۰^{a}	۱۲/۵۶±۰/۹۲a	۲/۸۸±۰/۲۷^{a}
	III	۲۳/۶۴±۰/۵۲^{a}	۶/۷۱±۰/۲۴^{a}	۷۲۰/۷۱±۲۲/۹۱^{a}	۳۳۳/۹۳±۹/۵۹^{a}	۹۴/۷۲±۳/۷۰^{a}	۲۸/۴۹±۰/۹۲^{a}	۲۹/۹۸±۱/۵۰^{a}	۷۶/۸۹±۱/۷۷^{a}	۹/۶۱±۰/۷۶^{a}	۱۰/۴۱±۱/۴۷a	۲/۷۳±۰/۴۰^{a}
	IV	۲۶/۸۸±۱/۵۰^{b}	۶/۹۹±۰/۳۴^{a}	۸۲۶/۲۵±۶۰/۹۴^{a}	۳۳۲/۸۶±۲۰/۷۶^{a}	۸۶/۹۲±۵/۴۰^{a}	۲۶/۲۳±۰/۹۶^{a}	۳۴/۷۵±۳/۷۱^{a}	۸۲/۶۹±۱/۶۴^{a}	۷±۱/۵۰^{a}	۸/۱۳±۱/۱۸a	۱/۹۴±۰/۶۳^{a}

نبود حروف مشابه روی داده‌های هر شاخص خونی در مراحل مختلف جنسی بیانگر وجود اختلاف معنادار آماری بین آنهاست (P<0/05).

جدول ۲. مقایسهٔ نتایج شاخص‌های خونی فیل ماهی نر و مادهٔ پرورشی مورد مطالعه (میانگین±SE) در یک دورهٔ ۳ ساله

جنسیت	PVC (٪)	Hb (g/dl)	RBC (mm^3*10^3)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (٪)	WBC (mm^3*10^3)	لنفوسیت (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)	نوتروفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)
نر	۲۷/۸۸±۰/۵۱^{a}	۷/۲۵±۰/۱۵^{a}	۸۸۱/۹۴±۲۲/۵۱^{a}	۳۱۸/۶۱±۶/۷۵^{a}	۸۳/۴۲±۲/۱۵^{a}	۲۵/۸۸±۰/۵۱^{a}	۲۸/۹۰±۱/۳۰^{a}	۷۳/۶۷±۱/۳۳^{a}	۸/۱۹±۰/۵۷^{a}	۱۴/۷۰±۱/۱۲^{a}	۳/۴۴±۰/۳۷^{a}
ماده	۲۳/۶۷±۰/۲۵^{b}	۶/۶۰±۰/۱۱^{b}	۷۷۲/۴۴۶±۱۴/۶۷^{b}	۳۱۷/۸۶±۵/۷۳^{a}	۸۸/۴۷±۱/۹۱^{a}	۲۷/۹۳±۰/۴۲^{b}	۳۲/۹۲±۰/۸۶^{b}	۷۶/۲۶±۰/۹۰^{b}	۸/۹۴±۰/۴۳^{a}	۱۱/۸۷±۰/۷۵^{b}	۲/۸۰±۰/۲۲^{a}

نبود یک حروف مشابه روی داده‌های هر شاخص خونی در دو جنس نر و ماده بیانگر وجود اختلاف معنادار آماری بین آنهاست (P<0/05).

همچنین، میانگین درصد مونوسیت خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهی ماده به ترتیب ۰/۲۷±۲/۸۸، ۰/۴۰±۲/۷۳ و ۰/۶۳±۱/۹۴ و در فیل ماهی نر به ترتیب ۰/۷۲±۳/۵۴، ۰/۵۰±۳/۳۶ و ۰/۹۲±۳/۵۶ بود. اختلاف این شاخص خونی بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی در هر دو جنس، و نیز بین ماهیان نر و ماده، معنادار (P>0/05) نبود. در این مطالعه، خون فیل ماهیان مورد بررسی (نر و ماده و در همهٔ مراحل رسیدگی جنسی) فاقد یاخته‌های بازوفیل بود.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مقادیر درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین سرم خون فیل ماهی پرورشی در این تحقیق با درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون تاسماهی پوزه کوتاه جوان (Beyea *et al*., 2005; Knowles *et al*., 2006; Jeffrey *et al*., 2010)، تاسماهی آتلانتیک (Baker *et al*., 2005)، بچه فیل ماهی (Ahmadifar *et al*., 2011; Mohammadi Zarejabad *et al*., 2010; Hoseinifar *et al*., 2011, Yousefi *et al*., 2012; Hoseini and Ghelichpour, 2012)، تاسماهی ایرانی وحشی (Kazemi *et al*., 2010)، ماهیان استخوانی تیلاپیا، *Sarotherodon melanotheron* (Gabriel *et al*., 2007)، کله ماری افریقایی، *Parachanna obscura* (Kori-Siakpere *et al*., 2005) و ماهی اسکار انگشت قد، *Astronotus ocellatus* (Firouzbakhsh *et al*., 2011) در یک محدوده قرار داشت، اما نسبت به هر ۵ گونه ماهی استخوانی دریایی مورد مطالعه در سواحل جنوب شرق هند (Satheeshkumar *et al*., 2012a; 2011)، ماهیان استخوانی *Rhamdia quelen* (Borges *et al*., 2004)، *Clarias gariepinus* (Ajani, 2008)، لای ماهی، *Tinca tinca* (Collazos *et al*., 1998)، ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum* (Bani and Haghi Vayghan, 2011)، ماهی استخوانی کله ماری *Channa argus* (Gul *et al*., 2011)، گربه‌ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* (Tavares-Dias and Moraes, 2007)، ماهی سیامی جنگنده، *Betta splendens* (Pouralimotlagh *et al*., 2012) و رفتگرماهی دوجو *Misgurnus anguillicaudatus* (Zhou *et al*., 2009) از درصد و غلظت پایین‌تری برخوردار بود.

تعداد RBC خون فیل ماهیان پرورشی نیز نسبت به تعداد این یاخته در خون تاسماهیان یادشده و تاسماهی ایرانی جوان (*Acipeser persicus*) و فیل ماهی جوان پرورشی بیشتر یا نزدیک به آنها بود (Bahmani *et al*., 2001). در حالی که، تعداد RBC فیل ماهیان مورد مطالعه از تعداد کل یاختهٔ قرمز همهٔ ماهیان استخوانی مورد اشاره بسیار کمتر بود. بر اساس منابع مذکور، میانگین درصد هماتوکریت فیل ماهیان مورد مطالعه، با توجه به گونه، در محدودهٔ مناسبی قرار داشت، زیرا درصد هماتوکریت مهره‌داران بسته به گونه بسیار متغیر (۱۰–۳۵) است (Baker *et al*., 2005) به طوری که، در ماهیان عموماً در محدودهٔ ۲۰ – ۴۵ درصد قرار دارد.

گونه‌های فعال‌تر، مانند ماهیان استخوانی عالی، به علت نیاز به اکسیژن بیشتر درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین بیشتری نسبت به ماهیان تنبل‌تر، مانند ماهیان خاویاری، دارند (Satheeshkumar *et al*., 2012a)، زیرا در اغلب موارد درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون می‌تواند بیانگر منبع اصلی اکسیژن در پاسخ به مطالبات سوخت و ساز بالاتر باشد و چون ماهیان خاویاری تنبل‌ترند، بنابراین، به

اکسیژن و ظرفیت حمل اکسیژن کمتری (درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین به مراتب کمتر) نسبت به ماهیان استخوانی عالی فعال نیاز دارند (Baker *et al*., 2005).

محققان نشان داده‌اند که یکی از عوامل افزایش‌دهندهٔ درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین و تعداد RBC خون، روند رشد گناد در ماهیان، به علت افزایش استرس به ویژه در مراحل بالاتر رسیدگی جنسی است، زیرا این شرایط سبب آزادشدن کاتکولامین‌ها، تحریک و بسیج یاخته‌های قرمز خون از طحال (که معمولاً با تأخیر صورت می‌گیرد) و در نتیجه متورم‌شدن یاخته‌های قرمز می‌شود (Beyea *et al*., 2005) و طحال یاخته‌های قرمز جدید را به داخل خون آزاد می‌کند (Wendelaar Bonga, 1997). با افزایش تعداد و حجیم‌ترشدن یاخته‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون نیز افزایش می‌یابند. همهٔ این تغییرات سبب افزایش ظرفیت حمل اکسیژن محلول خون در تنظیم ذخیرهٔ تقاضای منابع اکسیژن در شرایط استرس‌زا (مانند قرارگرفتن ماهی در مراحل بالاتر رسیدگی جنسی) می‌شود (Ajani, 2008; Hoseini and Ghelichpour, 2012).

برخی از مطالعات نیز نشان دادند که در شرایط استرس‌زا (مانند افزایش شوری) از تعداد RBC، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین کاسته می‌شود و این کاهش ناشی از کاهش تعداد RBC خون است (Mohammadi *et al*., 2010; Zarejabad,). آنها این اختلاف نتیجهٔ خود را با دیگر محققان در پارامترهای یادشده، اندازهٔ بدن و سن ماهی (بچه‌ماهی) مورد مطالعه بیان کردند. در تحقیق حاضر نیز درصد هماتوکریت خون فیل ماهی از درصد هماتوکریت خون بچه فیل ماهی مطالعه‌شدهٔ دیگر محققان، بیشتر بود که بیانگر متغیربودن درصد هماتوکریت با سن و اندازهٔ ماهی است (Ziegeweid and Black, 2010).

پارامترهای MCV، MCH و MCHC عوامل وابسته به تعداد RBC، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون و تابع تغییرات آنها هستند. سن، مراحل رسیدگی جنسی و شرایط محیطی فاکتورهای اصلی پاسخگویی به تغییرات شاخص‌های یاختهٔ قرمز خون در ماهیان‌اند (Tavares-Dias and Moraes 2007). کاهش تعداد RBC و افزایش MCV می‌تواند رشد و نمو یاخته‌های قرمز خون را توجیه کند، زیرا MCV بیانگر اندازه و بازتاب وضعیت طبیعی یا غیرطبیعی تقسیمات یاخته در چرخهٔ ساخت یاخته‌های قرمز خون است. بنابراین، افزایش MCV منتج از یاخته‌های بزرگ و بالغ قرمز در چرخهٔ گردش خون است. همچنین، کاهش هماتوکریت سبب کاهش MCV و افزایش MCHC می‌شود که با یافته‌های ما مطابقت دارد. مقدار پارامترهای وابسته به یاخته‌های قرمز خون فیل ماهی پرورشی بسیار بیشتر از خون ماهیان استخوانی عالی بود. گمان بر این است که تفاوت ساختار فیزیولوژیک حرکت و سوخت و ساز، بین ماهیان خاویاری و ماهیان استخوانی عالی، عامل اصلی این تفاوت‌ها باشد، زیرا این پارامترها عوامل وابسته به یاخته‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین‌اند.

در این بررسی، میانگین WBC خون فیل ماهی نر به طور معناداری کمتر از تعداد یاخته‌های سفید خون فیل ماهی ماده بود، اما در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده اختلاف معناداری مشاهده نشد. این یافته با نتایج Collazos و همکاران

در سال ۱۹۹۸ مطابقت داشت. همچنین، میانگین تعداد WBC فیل ماهی پرورشی از میانگین تعداد WBC ماهیان مورد اشاره در آغاز بحث، بالاتر بود. به نظر می‌رسد ارتباط معکوسی بین تعداد RBC و WBC وجود داشته باشد. به عبارت دیگر، تعداد بالای RBC نیاز بیشتر به تعداد WBC را کاهش می‌دهد (Satheeshkumar *et al*., 2012b). تعداد یاخته‌های سفید و قرمز خون تاسماهی اوزون‌برون پرورشی نیز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در فصول مختلف فاقد اختلاف معنادار بود (Yousefi Jourdehi, 2007). آنها علت عمدهٔ این امر را ناشی از سیر طبیعی سوخت و ساز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و یکسان‌دانستن نیاز اکسیژنی طی دورهٔ رسیدگی جنسی اعلام کردند، اما برخلاف نظر مذکور، در ماهی سفید مولد تعداد یاخته‌های سفید در زمستان (پیش از تخم‌ریزی) در بالاترین مقدار خود بود (Bani and Haghi Vayghan, 2011). علت این افزایش وابسته‌بودن تعداد یاخته‌های سفید خون به فعالیت‌های تولید مثلی اعلام شد، زیرا تعداد یاخته‌های سفید علاوه بر اینکه تحت تأثیر دما، گرسنگی، استرس و بیماری است، به‌شدت از چرخهٔ تولید مثلی نیز تأثیر می‌پذیرد (Bani and Haghi Vayghan, 2011) که با نتایج پژوهش حاضر نیز مطابقت دارد.

در این مطالعه، بین درصد یاخته‌های مختلف سفید خون (به جز نوتروفیل) در جنس‌های نر و ماده اختلاف معناداری وجود نداشت، اما با افزایش مرحلهٔ رسیدگی جنسی درصد آنها نیز افزایش یافت. همچنین، در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، به ویژه در ماهیان نر، اختلاف درصد یاخته‌های سفید خون بارز بود. مطالعات مختلف نشان داد که یاخته‌های لنفوسیت وابسته به گروهی از یاخته‌های سیستم ایمنی‌اند که عوامل مختلف استرس‌های طبیعی سریع‌ترین واکنش را به معرفی اجسام خارجی درون موجود زنده، به منظور تعدیل فشار، انجام می‌دهند (Mikryakov *et a*l., 2009). این یاخته‌ها، با تولید آنتی‌بادی‌های ویژه و افزایش آن در ماکروفاژها، سیستم دفاعی و ایمنی بدن ماهی را در برابر شرایط نامساعد و بد محیطی ارتقا می‌بخشند (Jalali *et al*., 2009).

Youneszadeh Fashalemi در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ کاهش درصد یاخته‌های لنفوسیت را در استرس حاد و مزمن اثبات‌شده می‌داند و بیان می‌کند که درصد یاختهٔ لنفوسیت در ماهیان نر اوزون‌برون نسبت به ماهیان ماده بیشتر است که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد، اما Pourali Motlagh و همکاران در سال ۲۰۱۲ درصد یاخته‌های لنفوسیت را پارامتری وابسته به جنس اعلام کردند، زیرا درصد یاختهٔ لنفوسیت در ماهیان ماده به مراتب بیشتر از نر بود که تا حدی با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت.

در تاسماهیان یاخته‌های نوتروفیل با افزایش استرس زیاد می‌شوند. افزایش استرس سبب افزایش نوتروفیل و کاهش یاخته‌های لنفوسیت می‌شود. مقدار طبیعی یاخته‌های ائوزینوفیل، که عمل فاگوسیتوز باکتری‌ها را در بدن بر عهده دارند، در ماهیان بین ۲-۳ درصد است که حداکثر می‌تواند به ۱۰ درصد مجموع یاخته‌های سفید خون برسد (Stoskopf, 1993; Kazemi *et al*., 2010) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

بر اساس نتایج این پژوهش، برخی از شاخص‌های خونی فیل ماهی پرورشی، به ویژه تعداد

یاختـه‌هـای قرمـز و سـفید و درصـد هماتوکریـت و غلظت هموگلوبین، پارامترهای وابسته بـه جنسـیت و مراحل رسیدگی جنسی‌اند که مقدار آنها از گونه‌هـای فعال‌تر مانند ماهیان استخوانی و نیز ماهیان خاویـاری وحشی کمتر است. همچنین، پروفایـل دامنـهٔ طبیعـی این شاخص‌های فوق در دو جنسیت نر و ماده و نیـز در مراحل مختلف جنسی متفـاوت از یکـدیگر اسـت که می‌تواند به‌منزلهٔ شاخص مطالعات خون‌شناسی بـه کار رود، اما شاخص‌های یاختهٔ قرمز خـون و درصـد افتراقی یاخته‌های سفید خون از پارامترهای غیروابسته به جنسـیت و تـابعی از شـرایط محیطـی و وضـعیت فیزیولوژیکی ماهی‌اند.

تقدیر و تشکر

از مـدیریت بخـش آبـزی‌پـروری مؤسسـهٔ تحقیقـات شـیلات ایـران و مـدیریت وقـت مؤسسـهٔ تحقیقـات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر بـرای حمایـت‌هـای مالی و اجرایی و از همهٔ همکاران مؤسسهٔ تاسـماهیان (به ویژه همکاران دو بخش فیزیولوژی و بیوشـیمی و تکثیر و پرورش) برای همکاری‌های صمیمانه‌شـان در اجرای این پژوهش، سپاسگزاری می‌شود.

References

[1]. Ahmdifar, A., Akrami, R., Ghelichi, A., Mohammadi Zarejabad, A., 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Comparative Clinical Pathology. 20, 447-451.

[2]. Anderson, D., Klontz, G.W., 1965. Basic Haematology for the fish culturist. Proceeding of Annual Northway Fish Culture Conference. 16: 38 – 41.

[3]. Ajani, F., 2008. Hormonal and haematological responses of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) to ammonia toxicity. African Journal of Biotechnology. 7(19), 3466-3471.

[4]. Ates, B., Orum, I., Talas, Z.S., Durmaz, G., Yilmaz, I., 2008. Effects of sodium selenit on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb and Cu. Fish Physiology and Biochemistry. 34, 53-59.

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

[6]. Bahmani, M., Kazemi, R., Hallajian, A., Mohseni, M., Pourdehghani, M., Jamily, Sh. and Jamalzadeh, F. 2007. Study of the artificial propagation possibility in reared Stellate sturgeon, *Acipenser stallatus*. Iranian fisheries research organization. 130 p.

[7]. Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K., Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. Journal of Fish Biology. 66, 208-221.

[8]. Bani, A., Haghi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research. 58(2), 126-133.

[9]. Beyea, M.M., Benfey, T.J., Kieffer, J.D., 2005. Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Fish Physiology and Biochemistry. 31, 303-313.

[10]. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry. 30, 21-25.

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

[12]. Gabriel, U.U., Ezeri, G.N.O., Opabunmi, O.O., 2004. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). African Journal of Biotechnology. 3(9), 463-467.

[13]. Falahatkar, B., Pourkazemi, M. Soltani, M., 2002. A study on relationship between haematological factors and broodstock quality in Russia sturgeon, *Acipenser gueldenstaeti*. Journal of Pajouhesh-va-Sazandegi. 53, 26-31.

[14]. F.A.O. 2010. Fish StatPlus statistical database.

[15]. Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.Kh., Jani-Khalili, K., 2011. Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry. 37(4), 833-842.

[16]. Gabriel, U.U., Anyanwu, P.E., Akinrotimi, A.O., 2007. Comparative effects of different acclimation media on haematological characteristics of brackishwater Tilapia, *Sarotherodon*

mellanotheron (Rupell, 1852). Journal of Fisheries International 2(3), 195-199.

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

[18]. Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E.M., Moraes, F.R., Martins, M.L., 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture. 271, 39-46.

[19]. Gul, Y., Gao, Z.X., Qian, X.Q., Wang, W.M., 2011. Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). Journal of Applied Ichthyology. 27, 122–128.

[20]. Hoseini, S.M., Ghelichpour, M., 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). Fish Physiology and Biochemistry. 38(2), 493-498.

[21]. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., 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.

[22]. Houston, C.B., 1990. Blood & Circulation. In: Shreck, C.B, Moyle, P.B., (Ed.), Methods for fish biology. American fisheries society, USA. pp. 273-322.

[23]. Katharios, P., Iliopoulou-Georgudaki, J., Kapata-Zoumbos K. and Spiropoulos S. 2002. Toxcicity of intraperitoneally injected ivermectin in sea bream, Fish Physiology and Biochemistry. 25, 99-108.

[24]. Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M. and Nasri Tajan, M. 2010. Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology. Bazorgan Press, Rasht, Iran, 194 p.

[25]. 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.

[26]. Kebus. S.J., Collins, M.S., Amondsen, C.H., Kayes, T.B., Malison, J.A., 1992. Effects of rearing density on stress response and growth of rainbow trout. Journal of Aquatic Animal Health 4, 1-6.

[27]. Knowles, S., Hrubec, T.C., Smith, S.A., Bakal, R.C., 2006. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). American Society for Veterinary Clinical Pathology. 35, 434–440.

[28]. Kori-Siakpere, O., Ake, J.E.G., Idoge, E., 2005. Haematological characteristics of the African snakehead, *Parachanna obscura*. African Journal of Biotechnology. 4(6), 527-530.

[29]. Jamalzadeh, H.R., Oryan, Sh., Ghomi, M.R., 2008. Hematological characteristic and correlations of diploid and triploid Caspian salmon *Salmo trutta caspicus* in juvenile stage. Journal of Cell and Animal Biology. 2 (12), 195-198.

[30]. Mohammadi Zarejabad, A., Jalali, M.A., Sudagar, M., Pouralimotlagh, S., 2010a. Hematology of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile exposed to brackish water environment. Fish Physiology and Biochemistry. 36, 655–659.

[31]. Padash-Barmchi, Z., Safahieh, A., Bahmani, M., Savari, A., Kazemi, R., 2010. Immune responses and behavior alterations of Persian sturgeon fingerlings *Acipenser persicus* exposed to sublethal concentrations of diazinon. Journal of Toxicological & Environmental Chemistry. 92 (1),

159-167.

[32]. Pouralimotlagh, S., Mohammadi Zarejabad, A., Ghorbani Nasrabadi, R., Ahmadifar, E., Molaee, M., 2012. Haematology, morphology and blood cells characteristics of male and female Siamese fighting fish (*Betta splendens*). Comparativ Clincal Pathology. 21(1), 15 – 21.

[33]. Pourgholam, R., Saeidi, A., Lotfinezhad, H. 1996. Differential cont of leukocyte cells in Russia sturgeon, Persian sturgeon and Beluga on physiological natural condition. Abzian monthly magazine. 6(12), 48-49.

[34]. Rough, K.M., Nowak, F.B., Reuter, R.E., 2005. Haematology and leukocyte morphology of wild caught *Thunnus maccoyii*. Journal of Fish Biology. 66, 1649-1659.

[35]. Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D., Basheer Khan, A., Jevanantham, K., 2012a. Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. Comparative Clinical Pathology. 21(3), 275-281.

[36]. Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthil kumar, D., Jagadeesan, L., 2012b. Haematology and biochemical parameters of different feeding behavior of teleost fishes from Vellar estuary, India. Comparative Clinical Pathology. 21(6), 1187-1191.

[37]. Shigdar, S., Cook, D., Jones, P., Harford, A., Ward, C., 2007. Blood cells of Murray cod *Maccullochella peelii peelii*. Journal of Fish Biology. 70, 973-980.

[38]. Stoskpofe, M.A., 1993. Fish Medicine. Sounders Company. USA. 882 p.

[39]. Tavares-Dias, M., Mpraes, F.R., 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. Journal of Fish Biology. 71, 383-388.

[40]. Youneszadeh Fashalemi, M., 2007. Investigation relationship between stress indices and sexual maturity development in farmed Stellate sturgeon breeders. M.Sc Thesis. Ocean and Marine science faculty. Khorramshahr Marin technology and science University, Iran, 146 p.

[41]. Yousefi, M., Abtahi, B., Abdian Kenari, A., 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. Comparative Clinical Pathology. 21(5), 1043-1048.

[42]. Yousefi Jourdehi, A., 2006. Evaluation of some haemotological and osmotic indices relation with sexual maturity development in *Acipenser stellatus* during different seasons. M.Sc. Thesis. Natural Resources Faculty. Islamic Azad University, Iran, Lahijan branch. 158 p.

[43]. Zexia, G., Weimin, W.Yi Y., Abbas, Kh., Dapeng, Li., Guiwei, Z., Diana, J.S., 2007. Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinesis*. Fish Physiology and Biochemistry. 33, 213-222.

[44]. Zhou, X.Li.M., Abbas, Kh., Wang, W., 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Fish Physiology Biochemistry. 35, 435–441.