مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال ششم، شماره اول، پیاپی بیست و یکم، تابستان ۱۳۹۶ (۸۰-۶۹)

بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهیان (*Capoeta capoeta gracilis*) آلوده به انگل پوستودیپلوستومم کوتیکولا (*Posthodiplostomum cuticola*) نهر زرین گل استان گلستان

زهره مظاهری کوهانستانی[۱*]، عبدالمجید حاجی مرادلو[۲]، رسول قربانی[۳]

۱. دانشجوی دکتری بوم‌شناسی آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. استاد، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان

۳. دانشیار، گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۸/۱۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٦/٥/۲۹)

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر آلودگی به انگل *Posthodiplostomum cuticola* و میزان شدت آلودگی بر پارامترهای خون‌شناسی *Capoeta capoeta gracilis* نهر زرین-گل در کنار تعیین محدوده طبیعی پارامترهای مذکور انجام گرفت. برای این منظور در تابستان ۱۳۸۹ تعداد ۱۳۲ قطعه ماهی شامل ۹۲ ماده و ٤۰ نر در محدوده طولی و وزنی ۱٦/٤-٥/۷ سانتی‌متر و ۳٥/۸٤-۲/٦۹ گرم با استفاده از الکتروشوکر (۱٥۰ ولت و ۱۰ آمپر) از ۹ ایستگاه صید و به‌صورت همزمان پارامترهای کیفی آب اندازه‌گیری شد. خون‌گیری از نمونه‌ها از طریق ورید ساقه دمی انجام شد. ماهیان پس از زیست‌سنجی، با استفاده از فلس تعیین سن و از طریق مشاهده بالینی غدد جنسی تعیین جنسیت شدند. همچنین تعداد لکه‌های انگلی بر روی پوست، باله و آبشش ماهیان آلوده شمارش شد. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای خونی ماهیان در دو جنس وجود ندارد (P> ۰/۰٥). همچنین با افزایش سن، میزان هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافت (P< ۰/۰٥). بیشترین فراوانی انواع گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، نوتروفیل و بازوفیل در سن ۲ سالگی شمارش و بیشترین شاخص خونی MCV و MCH در سن سه سالگی محاسبه شد (P< ۰/۰٥). سیاه ماهیان آلوده به انگل دارای تعداد گلبول قرمز و نوتروفیل بیشتر، MCV بالاتر و لنفوسیت کمتری در مقایسه با ماهیان غیرآلوده بودند (P<۰/۰٥). مقایسه پارامترهای خونی ماهیان در شدت‌های مختلف آلودگی انگلی نشان داد با افزایش شدت آلودگی شمار کل گلبول‌های سفید، قرمز، فراوانی نوتروفیل و بازوفیل افزایش یافت (P< ۰/۰٥). افزایش تعداد گلبول‌های سفید و انواع آن نشان‌دهنده مقابله بدن به حضور انگل از طریق تحریک بافت‌های خونی و سیستم ایمنی است.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای خون‌شناسی، جنسیت، سن، *Posthodiplostomum cuticola*، *Capoeta capoeta gracilis*.

* نویسندهٔ مسئول: زهره مظاهری کوهانستانی
E-mail: zohremazaheri_65@yahoo.com

Study on Hematological Parameters of Infected *Capoeta capoeta gracilis* with *Posthodiplostomum cuticola* in Zaringol Stream-Golestan Province

Zohreh Mazaheri Kohanestani[1*], Abdolmajid Hajimoradloo[2], Rasoul Ghorbani[3]

1. Ph.D. Student of Aquatic Ecology, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Iran

2. Professor of Fishery, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Iran

3. Associate Professor of Fishery, Department of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Iran

(Received: Nov. 9, 2015 - Accepted: Aug. 20, 2017)

Abstract

This study aimed to obtain baseline data on hematological parameters of *Capoeta capoeta gracilis* and investigate the effects of parasite infection with *Posthodiplostomum cuticola* in Zaringol Stream. A total number of 132 fish specimens including 92 females and 40 males (length and weight ranged between 5.7-16.4 cm and 2.69-35.84 g respectively) were collected by electrofishing (150V, 10A) from 9 stations in the summer of 2010. The water quality parameters were measured at the same time. Blood was taken from caudal vein. After biometry, age and gender were determined by the scales and clinical observation of gonads respectively. Also, the black spots on the fin, skin, and opercula were counted. There was no gender effect on hematological parameters (P>0.05). Hematocrit (%) and hemoglobin (g/dL) increased in the older fishes (P<0.05) and the maximum number of Monocyte (%), Neutrophils (%), Basophiles (%), MCV(fl), and MCH (Pg) were in 2^+ and 3^+ ,respectively (P<0.05). Red blood cells (10^6/mm^3), Neutrophils (%) and MCV (fl) were higher in *Capoeta* sp infected with *P. cuticola* while the Lymphocytes were lower significantly (P<0.05). The total number of the white blood cells (10^3/mm^3), Neutrophils (%), and Basophiles (%), increased as intensity index (P<0.05) increased. The results revealed that fish responded to the infection through stimulating erythropoietic cells and immune system.

Keywords: Age, *Capoeta capoeta gracilis*, Hematological Parameters, *Posthodiplostomum cuticola*, Sex.

مقدمه

ماهیان، میزبان طیف وسیعی از انگل‌ها هستند که از نظر سیستماتیک، زیستگاه و چرخه زندگی با یکدیگر تفاوت دارند (Barber *et al*., 2000). انگل پوستودیپلوستومم کوتیکولا (*Posthodiplostomum cuticola*) یک ترماتود دیژن است که گونه‌های زیادی از ماهیان به خصوص خانواده کپور ماهیان را آلوده می‌کند (Schuster *et al*., 2001; Popioleck & Kotusz, 2003; Dzika, 2005; Shukerova, 2005). *P. cuticola* بالغ در روده پرندگان ماهی‌خوار نظیر حواصیل معمولی (*Ardea cinerea*)، ارغوانی (*A. purpurea*) و زرد (*A. ralloides*) زندگی می‌کند (Mierzerjewska *et al*., 2004). تخم انگل از طریق مدفوع پرنده وارد محیط آب شده و به‌صورت لارو آزاد، میراسیدیا[1]، تفریخ می‌شود. سپس میراسیدیا وارد میزبان واسط اول خود حلزون می‌شود که عمدتاً از خانواده Planorbiidae مانند *P. planorbis* و *P. carinatus* است و تولید تعداد زیادی اسپروسیت[2] می‌کند که در چرخه تکاملی خود به فورکوسرکاریا[3] تبدیل می‌شود. سپس فورسرکاریا از میزبان واسط اول خود جدا و با نفوذ به پوست، باله و ماهیچه ماهی وارد میزبان واسط دوم خود می‌شود (Anon, 2010). آلودگی به متاسرکر[4] در بافت‌های میزبان، ایجاد کیست‌هایی تیره می‌کند که ناشی از تولید رنگدانه تیره هوملانین حاصل از تجزیه هموگلوبین خون و تجمع کروماتوفور در محل آسیب انگل است و به همین دلیل این بیماری با نام لکه سیاه[5] در ماهیان آب شیرین شناخته می‌شود. عوارض دیگر این بیماری شامل لاغری، تغییرات پاتولوژیک روی ماهیچه، استخوان، کبد، کلیه و خون است و حتی در بعضی موارد منجر به مرگ آبزی هم می‌شود (Williams & Jones, 1994; Rolbiecki, 2004).

در جریان مطالعه پویایی‌شناسی سیاه ماهیان نهر زرین‌گل، آلودگی به انگل *P. cuticola* در این گونه‌های بومی نهر مشاهده شد (Mazaheri Kohanestani *et al*., 2014a) که در این بین، گونه سیاه ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*) یکی از گونه‌های مستعد به آلودگی به این انگل (در سنین مختلف و با شدت مختلف) بود (Mazaheri Kohanestani *et al*., 2014b). وابستگی تغذیه سیاه ماهی به حضور پریفیتون‌ها از یک سو (Golizadeh *et al*., 2009) و ترجیح زیستگاهی حلزون به حضور در مناطق با پوشش گیاهی بالا و مواد پوسیده گیاهی و چوبی (Warren *et al*., 2000) شانس ابتلای این گونه به انگل را به دلیل افزایش شانس دسترسی متاسرکر به بافت این گونه افزایش می‌دهد (Mazaheri Kohanestani, 2012). شایان ذکر است که آلودگی به این انگل در برخی دیگر از گونه‌های بومی نهر زرین‌گل مانند گاو ماهی شنی خزری (*Neogobius fluviatilis pallasi*) و همچنین سیاه ماهی (*C. c. gracilis*) رودخانه شیرود مازندران گزارش شده است (Karimian *et al*., 2013; Rohi Aminijan & Malek, 20003).

گونه سیاه ماهی *C. c. gracilis* از خانواده کپورماهیان Cyprinidae است. جنس سیاه ماهی در آفریقا، آسیای صغیر، سراسر ناحیه قفقاز در محدوده آسیا، سوریه، ایران، جنوب آسیای مرکزی، شمال هند و جنوب چین پراکنش دارد. پراکنش زیرگونه *C. c. gracilis* در ایران در حوضه جنوب دریای خزر، حوضه دریاچه ارومیه، اطراف اصفهان و در جنوب شرقی خراسان است (Berg, 1949; Abdoli, 1999). سیاه ماهی در منابع آب‌شیرین کشور ما اعم از آبگیرها، دریاچه‌ها، چشمه‌ها، قنات‌ها و رودخانه‌ها حضور گسترده‌ای دارد. عدم گسترش این ماهی در

1. Miracidia
2. Sporocysts
3. Furcocercaria
4. Metacercaria
5. Black spot

قاره‌های اروپا و امریکا سبب شده تا از دسترس بیشتر محققان دور مانده و جنبه‌های زیستی آن تا حدودی به صورت مبهم باقی بماند (Samaee *et al*., 2006; Turkmen *et al*., 2002).

ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از مهمترین شواهد شرایط فیزیولوژیک آنها و منعکس‌کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامت آنها است (Luskova, 1995). این ویژگی‌ها، الگوی ویژه‌ای برای هر گونه دارد و با تغییرات محیطی و شرایط فیزیولوژیک ماهی دستخوش تغییر می‌شوند (Fausch *et al*., 1999). بنابراین، تعیین محدوده طبیعی این پارامترها و ارائه تابلوی تغییرات این پارامترها تحت تأثیر عوامل بیولوژیک و فیزیولوژیک در گونه‌های مختلف ماهی به منظور حفاظت زیست‌محیطی از ذخایر ارزشمند ژنتیکی گونه‌ها ضروری به نظر می‌آید (Khadjeh *et al*., 2010). مطالعات متعددی در زمینه بررسی اثر آلودگی انگلی بر روی پارامترهای خون‌شناسی ماهیان صورت گرفته است. Jamalzadeh *et al*. (2008) آلودگی‌های انگلی به *Tetraonchus Monenteron*، *Eustrongylides exises*، *Rhipdocotyle illense*، *Corynosoma Strumosum* و *Diplostomum Spathaceum* را سبب تغییر مقادیر طبیعی برخی پارامترهای خونی اردک‌ماهی تالاب انزلی *Esox lucius* گزارش کردند. آلودگی به قارچ ساپرولگنیا نیز منجر به تغییر شمار کلی گلبول‌های سفید و فراوانی ائوزینوفیل‌ها در آزادماهی دریای خزر آلوده *Salmo trutta caspius* گزارش شده است (Jamalzadeh *et al*., 2009). مطالعه Soberon *et al*. (2014) بر روی آلودگی انگلی به مونوژن *Anacanthorus spathulatus* را در ماهیان پرورشی *Colossoma macropomum* نشان داد آلودگی به انگل منجر به افزایش مقدار گلوکز سرم خون می‌شود؛ درحالی‌که تغییرات مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، شمار کلی گلبوهای سفید، قرمز و شاخص‌های اریتروسیت متأثر از آلودگی انگلی نیست. کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و فراوانی لنفوسیت ناشی از آلودگی انگلی نیز در کپور ماهیان آلوده به مونوژن‌های داکتیلوژیروس و ژیروداکتیلوس توسط Ali & Ansari (2012) تأیید شد.

از آنجا که تشخیص بیماری و انگل‌ها به‌عنوان عوامل بیماری‌زا در مراحل ابتدایی که عوارض عفونت قابل تشخیص نیست در مدیریت شیلات اهمیت فراوان دارد و پارامترهای خونی یک ابزار مهم در تشخیص و پیش‌بینی بیماری در ماهی و ردیابی استرس‌های محیطی و درونی بدن ماهی است (Tavares Dias *et al*., 2008)، لذا هدف این مطالعه، ابتدا شناسایی و تعیین محدوده طبیعی مشخصه‌های خونی و در گام بعدی مطالعه اثر آلودگی به انگل *P. cuticola* بر روی شاخص‌های خونی سیاه ماهیان *C. c. gracilis* است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در شهریورماه ۱۳۸۹ در نهر زرین‌گل علی‌آباد کتول در استان گلستان انجام گرفت. تعداد ۱۳۲ قطعه سیاه ماهی *C. c. gracilis* شامل ۹۲ ماهی ماده و ۴۰ نر با الکتروشوکر (۱۵۰ ولت و ۱۰ آمپر) از ۹ ایستگاه در طول نهر صید و به آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی انتقال داده شد. اندازه‌گیری پارامترهای کیفی آب نهر زرین‌گل نیز به صورت همزمان با صید ماهیان و استفاده از دستگاه واترچکر[1] و اسپکتوفتومتر[2] انجام گرفت (جدول ۱).

تعیین جنسیت ماهیان، با کالبدگشایی و مشاهده بالینی غدد جنسی صورت به‌صورت چشمی و در صورت نیاز با مشاهده زیر لوپ و تعیین سن به روش

1. Water checker u-10 (Wagtech Ltd, United Kingdom)
2. Spectrophotometer Libra S12 (Biochrom Ltd, United Kingdom)

خوانش حلقه‌های سالیانه بر روی فلس صورت گرفت. طول کل با کولیس دیجیتال با دقت ۱ میلی‌متر و وزن کل بدن با ترازوی با دقت ۰/۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

قبل از خون‌گیری، به‌منظور کاهش استرس، ماهیان به مدت ۱۰ دقیقه در ظرف حاوی عصاره گل میخک با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار گرفت. خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ استریل ۵ سی‌سی با سرسوزن شماره ۱ آغشته به هپارین و در ماهیان کوچک‌تر به روش قطع ساقه دمی انجام گرفت (Stolen *et al*., 1997). بلافاصله نمونه‌های خون به‌منظور تعیین مشخصه‌های خون‌شناسی بررسی شدند.

جدول ۱. پارامترهای کیفی آب در محل نمونه‌برداری نهر زرین‌گل- استان گلستان

پارامتر کیفی آب	میانگین ± انحراف معیار	پارامتر کیفی آب	میانگین ± انحراف معیار
دما (°C)	۲۳±۰/۲۸	pH	۸/۳۳±۰/۰۵
اکسیژن محلول (mg/L)	۸/۹±۰/۰۱	فسفات (mg/L)	۰/۲۹±۰/۰۱۴
شوری (g/L)	۰/۰۶±۰	سولفات (mg/L)	۷۶/۵±۲/۱۲
هدایت الکتریک (µmos/cm)	۱/۶۷±۰/۰۳	نیترات (mg/L)	۰/۰۱۱±۰/۰۰۱
کدورت (FTU)	۸۶±۱/۴۱	نیتریت (mg/L)	۲/۶۴±۰/۵

به‌منظور اندازه‌گیری هماتوکریت، از لوله‌های میکروهماتوکریت هپارینه و میکروسانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) و خط‌کش مخصوص استفاده و سنجش شد. اندازه‌گیری میزان هموگلوبین نمونه‌ها با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین، با استفاده از محلول درابکین و قرائت میزان جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام گرفت.

شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون نمونه‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و محلول رقیق‌کننده دایس[1] صورت گرفت. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، پس از تهیه گسترش خونی و رنگ‌آمیزی گسترش با استفاده از رنگ گیمسا، به صورت خوانش تصادفی ۱۰۰ گلبول سفید و محاسبه درصد فراوانی نسبی انواع خوانش شده گلبول سفید انجام گرفت.

ندیس‌های خونی MCV، MCH و MCHC با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (RBC در مخرج کسر بر حسب میلیون آورده شود):

$$MCV\ (fl) = \frac{HCT \times 10}{RBC}$$

$$MCH\ (Pg) = \frac{Hb \times 10}{RBC}$$

$$MCHC\ (\%) = \frac{Hb \times 100}{HCT}$$

به‌منظور بررسی اثر شدت آلودگی به انگل *P. cuticola* بر پارامترهای خون‌شناسی ماهیان از نظر تعداد نقاط انگلی در سه سطح کیفی کم، متوسط و زیاد گروه‌بندی شدند؛ به‌طوری‌که در سطح کم ماهیان دارای ۱۵-۱ نقطه آلودگی، در سطح متوسط ماهیان دارای ۳۰-۱۵ نقطه و در سطح زیاد ماهیان با تعداد نقاط آلودگی بیش از ۳۰ نقطه قرار دارند.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آزمون‌های آماری t، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد (α=۰/۰۵) در محیط نرم‌افزار SPSS 17 استفاده شد.

نتایج

دامنه طولی و وزنی سیاه ماهیان به‌ترتیب ۱۶/۴-۵/۷ سانتی‌متر و ۳۵/۸۴-۲/۶۹ گرم بود. سیاه ماهیان در دامنه سنی ۱^{+}-۳^{+} سال قرار داشتند. از بین ماهیان

1. Dacies

مورد بررسی تعداد ۹۲ سیاه‌ماهی، نر، تعداد ۳۸ عدد دارای جنسیت ماده و ۲ قطعه سیاه ماهی نیز جنسیت نامشخص داشتند. همچنین بررسی وضعیت بافت‌های بدن از قبیل سطح پوست، باله، سرپوش آبششی و چشم‌ها از نظر وجود یا عدم وجود لکه‌های سیاه ناشی از حمله متاسرکر انگل نشان داد که از تعداد ۹۸ ماهی، آلوده یا دارای لکه انگلی و ۳۲ قطعه، غیرآلوده یا فاقد انگل بودند.

به منظور تعیین محدوده طبیعی پارامترهای خون‌شناسی سیاه ماهی، ابتدا مقادیر پارامترهای آن در دو جنس نر و ماده مورد مقایسه قرار گرفت (جدول۲). متوسط طولی و ورنی ماهیان ماده غیرآلوده به‌ترتیب ۱/۹۲±۱۱/۱۵ سانتی‌متر و ۷/۶۱±۱۴/۰۳ گرم و متوسط طولی وزنی ماهیان نر غیرآلوده به‌ترتیب ۲/۳۶±۱۰/۵۲ سانتی‌متر و بر اساس ۸/۹±۱۲/۴ گرم بود. براساس آزمون t دو طرفه، بین طول و وزن ماهیان غیرآلوده در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P=۰/۱۳۹ و P=۰/۱۹۱). متوسط تعداد گلبول‌های قرمز ۲/۲۵ میلیون عدد در میلی‌متر مکعب و گلبول‌های سفید ۷/۷ هزار عدد در میلی‌متر مکعب بود که از این مقدار بیشترین درصد فراوانی را لنفوسیت‌ها (۷۹/۱۹ درصد) و کمترین مقدار را بازوفیل‌ها (۲/۱۵ درصد) داشتند. متوسط مقدار هماتوکریت و هموگلوبین بترتیب ۴۱/۵ درصد و ۹/۹۸ گرم بر دسی-لیتر اندازه‌گیری شد. مطابق این جدول، پارامترهای خونی اختلاف معنی‌داری در دو جنس نشان ندادند (P> ۰/۰۵)، لذا در مرحله بررسی تأثیر آلودگی انگلی بر پارامترهای خون، تأثیر جنسیت مدنظر قرار نگرفت.

در گام بعدی، برای بررسی تأثیر انگل بر پارامترهای خونی ماهیان آلوده و غیرآلوده به انگل، پارامترهای خون‌شناسی ماهیان مذکور به تفکیک سن مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت (جدول ۳).

مقایسه پارامترهای خونی ماهیان غیرآلوده در سنین مختلف نشان داد که میزان هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش سن افزایش معنی‌داری دارد. این روند افزایشی، به‌صورت غیرمعنی‌دار (P> ۰/۰۵)، در تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شده در هر میلی‌متر مکعب خون نیز قابل مشاهده است، به طوری‌که با افزایش سن از ۱ سالگی به ۳ سالگی متوسط تعداد آن از۲/۰۳ به ۲/۷۲ میلیون عدد افزایش می‌یابد. بیشترین فراوانی انواع گلبول‌های سفید شامل مونوسیت، نوتروفیل و بازوفیل در سن ۲ سالگی و بیشترین شاخص خونی MCV و MCH در سن سه سالگی محاسبه شد (P<۰/۰۵).

جدول ۲. پارامترهای خونی دو جنس نر و ماده سیاه ماهیان غیرآلوده

پارامتر/جنسیت	ماده (n=۱۰)	نر(n=۲۰)	P value	کل
هماتوکریت (٪)	۴۱/۲۶± ۶/۳۸	۴۱/۲۳±۵/۱۵	۰/۷۰۳$^{n.s}$	۴۱/۵± ۵/۶
هموگلوبین (g/dL)	۱۰/۰۷±۰/۲۵	۹/۹۶±۰/۲۲	۰/۸۴۰$^{n.s}$	۹/۹۸±۰/۲۲
گلبول قرمز (میلیون/mm^3)	۲/۵۸±۰/۷۵	۲/۲±۰/۵۸	۰/۸۹۵$^{n.s}$	۲/۲۵±۰/۶۳
گلبول سفید (هزار/mm^3)	۶/۸±۴/۲۷	۸/۰۶±۲/۴۹	۰/۱۳۱$^{n.s}$	۷/۷±۲/۷
لنفوسیت (٪)	۷۹/۴۵±۳/۲۹	۷۹±۴۲/۷۲	۰/۷۰۴$^{n.s}$	۷۹/۱۹±۲/۹۳
مونوسیت (٪)	۴/۸۱±۱/۷۲	۵/۷۳±۱/۶۲	۰/۱۷۹$^{n.s}$	۵/۳۴±۱/۷
نوتروفیل (٪)	۱۳/۹۰±۲/۷۷	۱۲/۸۶±۲/۳۸	۰/۳۱۴$^{n.s}$	۱۳/۳۱±۲/۵۶
بازوفیل (٪)	۱/۸۲±۱/۲۵	۲/۴±۱/۰۶	۰/۲۱۱$^{n.s}$	۲/۱۵±۱/۵۶
MCV (fl)	۱۶۶/۴۴±۷۰/۴۷	۱۹۳/۶۳±۴۶/۹۳	۰/۳۸۸$^{n.s}$	۱۸۶/۸±۵۲/۵
MCH (Pg)	۴۱/۰۷±۱۵/۵۶	۴۷/۹۷±۱۲/۵۷	۰/۳۸۳$^{n.s}$	۴۶/۲۵±۱۳/۱۹
MCHC (٪)	۲۵/۰۵±۱/۹۴	۲۴/۷۶±۲/۱۶	۰/۸۱۶$^{n.s}$	۲۴/۷۲±۲/۰۴

n.s: نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی بین دو جنس است (α=۰/۰۵).

مقایسه پارامترهای خونی در ماهیان آلوده و غیرآلوده بیمار (با گروه سنی یکسان) نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان آلوده بیشتر از ماهیان مشابه بدون آلودگی انگلی بود (P<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده نیز در همه گروه‌های سنی در ماهیان آلوده افزایش نشان داد؛ اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نشان داد فراوانی نسبی نوتروفیل در گروه آلوده به‌صورت معنی‌داری افزایش و در مقابل، فراوانی لنفوسیت‌های آن با کاهش همراه بود (P<۰/۰۵). همچنین شمار تعداد مونوسیت و بازوفیل‌ها نیز در گروه ماهیان آلوده نسبت به غیرآلوده بیشتر بود (P>۰/۰۵). از میان شاخص‌های گلبول قرمز، شاخص MCV در ماهیان غیرآلوده بیشتر از ماهیان آلوده محاسبه شد (P<۰/۰۵).

نتایج حاصل از بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهیان آلوده به انگل دیپلوستومم در شدت‌های مختلف آلودگی نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش شدت آلودگی انگلی افزایش معنی‌دار داشت. به‌طوری‌که متوسط تعداد آن از ۲/۷۳ میلیون در شدت آلودگی کم به ۳/۰۸ میلیون در میلی‌متر مکعب در ماهیان به شدت آلوده افزایش یافت (P<۰/۰۵). شمارش تعداد گلبول‌های سفید نیز با افزایش، همراه بود (P<۰/۰۵). فراوانی نسبی انواع گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل و بازوفیل نیز با افزایش شدت آلودگی، افزایش نشان داد. افزایش شدت آلودگی منجر به کاهش شاخص خونی MCV می‌شود (جدول ۴).

جدول ۳. پارامترهای خونی در ماهیان آلوده و غیرآلوده به انگل دیپلوستومم در سنین مختلف سیاه ماهی

پارامتر/سن	۱+سالم	۱+ بیمار	P	۲+سالم	۲+ بیمار	P	۳+سالم	۳+بیمار	P
هماتوکریت (٪)	۳۲/۳۳±۴/۵۱^{a}	۳۲/۴۱±۴/۹	۰/۹۸۶	۴۱/۰۴±۴/۷۷^{ab}	۴۲/۵ ±۷/۱	۰/۳۶	۴۶ ±۱/۴۱^{b}	۴۱/۷ ±۷/۸	۰/۴۶۱
هموگلوبین (g/dL)	۸/۶۶±۱/۶۱ ^{a}	۸/۵۲±۲/۶	۰/۹۳۱	۹/۹۴±۱/۲۹ ^{ab}	۱۰/۴۴±۲/۷	۰/۳۲	۱۱/۲۵±۱/۷۶^{b}	۱۳/۰۶±۰/۷۹	۰/۳۱۲
گلبول قرمز (میلیون/mm^3)	۲/۰۳±۰/۵۴	۳/۸±۰/۱۵	۰/۰۰*	۲/۲۸±۰/۵۴	۲/۶۱±۰/۶۴	۰/۳۴	۲/۷۲±۰/۲۵	۲/۴۹±۰/۱۵	۰/۲۸۲
گلبول سفید (هزار/mm^3)	۸/۲۳±۲/۶۲	۹/۰۵±۱/۸۴	۰/۵۷۲	۷/۸۲±۳/۰۱	۱۱/۱۱±۳/۹۳	۰/۱۹۱	۸/۶۲±۰/۴	۸/۸۵±۱/۷	۰/۸۷
لنفوسیت(٪)	۸۰/۸۳±۱/۱۷	۷۷/۱۷±۱/۷۶	۰/۰۰۰*	۷۷/۲±۲/۵۳	۷۶/۴±۲/۶۳	۰/۴۹۷	۷۸/۸۱±۲/۶۹	۷۶/۶۷±۲/۸۲	۰/۲۵۳
مونوسیت (٪)	۴/۶۷±۰/۸۷^{ab}	۶/۳۳±۲/۰۶	۰/۰۹۶	۵/۸±۱/۰۳^{b}	۵/۸±۰/۶۳	۱/۰۰۰	۴/۴±۱/۱۴^{a}	۵±۱/۳۳	۰/۴۴۶
نوتروفیل (٪)	۱۲/۵±۱/۲^{a}	۱۴±۱/۵۵	۰/۰۴۹*	۱۴/۹±۲/۱۳^{b}	۱۵/۵±۱/۹۶	۰/۵۲۰	۱۴/۱۴±۱/۸۵^{b}	۱۵/۶±۴/۳۹	۰/۶۳۱
بازوفیل (٪)	۱/۸۳±۰/۷۵	۲/۵±۱/۵۲	۰/۳۵۸	۲/۱±۰/۹۹	۲/۳±۱/۳۳	۰/۷۰۹	۱/۸±۰/۹	۲/۸±۱/۶۴	۰/۲۹۰
(fl) MCV	۱۹۸/۲۲±۵۳/۹^{ab}	۱۸۰/۶±۶۴/۲	۰/۵۶۱	۱۶۹/۱±۳۳/۷۴^{a}	۱۵۲/۹±۴۶/۴	۰/۵۵۲	۲۶۹/۶۸±۰/۴۵^{b}	۱۷۹/۱۹±۱/۴	۰/۰۰*
(Pg) MCH	۵۰/۷۷±۱۲/۷۷^{ab}	۴۵/۱۴±۱۳/۷۹	۰/۴۰۷	۳۹/۲۴±۶/۳۳^{a}	۴۴/۱۵±۱۶/۲۳	۰/۵۸	۶۴/۵۹±۰/۵۷^{b}	۴۹/۴۸±۱۱/۲۸	۰/۱۶۹
MCHC (٪)	^{b}۲۵/۷۹±۱/۴۸	۲۵/۶۶±۶/۰۳	۰/۹۵۷	۲۳/۲۴±۱/۰۳^{a}	۲۹/۲۷±۸/۳۱	۰/۱۸۸	۲۳/۹۱±۰/۱۲^{ab}	۲۷/۸۲±۶/۶۳	۰/۴۸۷

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی بین ماهیان آلوده و غیرآلوده است. حروف متفاوت، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی در سنین متفاوت است (α=۰/۰۵).

جدول ٤. پارامترهای خونی در سیاه ماهیان سالم و آلوده به انگل دیپلوستومم در شدت‌های مختلف

پارامتر/ شدت	سالم (n=۳۰)	آلودگی کم (n=۶۷)	آلودگی متوسط (n=۲۵)	آلودگی شدید (n=۱۰)
هماتوکریت (٪)	۴۱/۵± ۵/۶	۳۸/۸۶±۷/۶۷	۴۳/۸ ±۷/۶۴	۴۰/۹ ±۶/۹۱
هموگلوبین (g/dL)	۹/۹۸±۰/۲۲	۱۰/۷۳±۲/۶۶	۱۰/۱±۳/۱۵	۱۱/۷۵±۲/۸۶
گلبول قرمز (میلیون/mm^3)	۲/۲۵±۰/۶۳	۲/۷۳±۰/۰۷^{ab}	۲/۸۳±۰/۶۸^{ab}	۳/۰۸±۰/۶۲^{b}
گلبول سفید (هزار/mm^3)	۷/۷±۲/۷^{a}	۱۰/۲۵±۳/۵۷^{b}	۱۰/۰۸±۲/۳۴^{b}	۱۰/۰۸±۳/۵۲^{b}
لنفوسیت (٪)	۷۹/۱۹±۲/۹۳^{c}	۷۹/۱۴±۱/۷۹^{c}	۷۷/۴۴±۱/۷۶ ^{b}	۷۳/۵±۳/۵ ^{a}
مونوسیت (٪)	۵/۳۴±۱/۷^{ab}	۴/۴۱±۰/۸۹^{a}	۴/۸۹±۰/۹^{ab}	۵/۵۸±۰/۶۷^{b}
نوتروفیل (٪)	۱۳/۳۱±۲/۵۶	۱۴/۴۴±۱/۱۹^{ab}	۱۵/۴۴±۰/۸۶^{ab}	۱۷/۱۶±۲/۵۹^{b}
بازوفیل (٪)	۲/۱۵±۱/۵۶^{a}	۲/۰۵±۰/۹۸^{a}	۲/۲۲±۱/۱۷^{a}	۳/۷۵±۱/۱۴^{b}
(fl) MCV	۱۸۶/۸±۵۲/۵^{b}	۱۶۷/۸±۵۰/۲^{ab}	۱۴۱/۷±۲۷/۶^{ab}	۱۲۸/۱±۳۸/۷ ^{a}
(Pg) MCH	۴۶/۲۵±۱۳/۱۹	۴۴/۹۹±۱۴/۶۷	۳۳/۰۳±۱۰/۸۴	۳۷/۱۴±۱۲/۱۷
MCHC (٪)	۲۴/۷۲±۲/۰۴	۲۷/۶۵±۷/۰۶	۲۶/۴۴±۱۰/۱۸	۲۹/۰۶±۳/۱۱

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار پارامتر خونی در سنین متفاوت است (α=۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

پارامترهای خون‌شناسی، ابزار بسیار مهمی در شناسایی و تشخیص سریع بیماری شناخته می‌شود که نسبت به دیگر صفات اندازه‌گیری‌شده، شاخص بهتری در ردیابی استرس‌های محیطی و درونی بدن ماهی است. با این وجود، تغییرات تعداد سلول‌های خون در ماهیان آلوده به انگل بسیار مشکل است؛ زیرا عملکرد دقیق هر یک از آنها به طور کامل شناسایی نشده است (Tavares Dias *et al*., 2008).

تعیین مشخصه‌های طبیعی خون در دو جنس نر و ماده نشان داد که پارامترهای خونی در دو جنس، تفاوت معنی‌داری نداشتند. مطالعات پیشین نشان داده است که در برخی گونه‌ها، پارامترهای خونی متأثر از جنسیت (Orun & Erdemli, 2003, 2002; Danabas *et al*., 2010) و در برخی گونه‌ها مقادیر پارامترها در دو جنس، تفاوت معنی‌داری ندارند (Darvish Bastami *et al*., 2008; Gabriel *et al*., 2004; Al Hassan *et al*., 1993). Yousefzadeh & Khara (2015) تفاوت در میزان پارامترهای خون‌شناسی در دو جنس را بیشتر به نیاز اکسیژن‌خواهی آنها که مربوط به فعالیت‌های تولیدمثلی است، مرتبط دانست. در مطالعه حاضر، میزان هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در جنس ماده بیشتر از نر بود؛ اگرچه این تفاوت در سطح α=۰/۰۵ معنی‌دار نبود. با توجه به این که غالب گروه سنی سیاه ماهیان در مطالعه حاضر در گروه سنی ۲^{+} قرار داشتند (Mazaheri Kohanestani *et al*., 2014b) به‌نظر می‌رسد اثرات ناشی از تغییر شرایط فیزیولوژیک ماهیان ماده بالغ در ارتباط فعالیت‌های تولیدمثلی منجر به تغییرات یاد شده در مشخصه خونی شده است. Yousefzadeh & Khara (2015) مشخصه‌های خونی دو جنس *C. c. gracilis* را بدون تفاوت ناشی از جنسیت گزارش کردند. نتایج مشابهی نیز از عدم تفاوت پارامترهای خونی در دو جنس نر و ماده *C. c. gracilis* توسط Yousefzadeh *et al*. (2012) مشاهده شد. نویسندگان، این امر را ناشی از عدم وابستگی این پارامترها به جنسیت و عدم اثرگذاری تفاوت غدد جنسی و سوماتیک جنس نر و ماده بر میزان پارامترهای خونی عنوان کردند.

نتایج بررسی پارامترهای خونی سیاه ماهی در سنین مختلف نشان داد با افزایش سن، میزان هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان افزایش معنی‌داری دارد که مطابق با نتایج Hrubec *et al*. (2001) همسو است. میزان اکسیژن مصرفی در ماهیان وابسته به ویژگی‌های فیزیولوژیک نظیر بلوغ و رسیدگی جنسی، سن و اندازه ماهی و همچنین تحت تأثیر پارامترهای محیطی از قبیل دما و تغذیه است. با توجه به این که سیاه ماهی در سن ۲ سالگی بالغ می‌شود، افزایش میزان هموگلوبین در کنار افزایش غیرمعنی‌دار گلبول‌های قرمز را شاید بتوان ناشی از شرایط فیزیولوژیک ماهی در این سن دانست که در پاسخ به نیاز به جذب بیشتر اکسیژن است. با افزایش سن، میزان هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز، حجم گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین در سلول‌های قرمز خون نیز افزایش می‌یابد که راندمان تبادلات گازی را افزایش می‌دهد تا نیاز بدن ماهی را مرتفع سازد. نتایج به دست آمده همسو با نتایج Orun & Erdemli (2003) است. افزایش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها در کنار انواع دیگر گلبول‌های سفید (بازوفیل) سطح مقاومت بدن را در مقابل استرس‌های محیطی افزایش می‌دهد (Tavares Dias *et al*., 2008) گواهی بر شرایط حساس فیزیولوژیک ماهی در دوره تخم‌ریزی و بلوغ است. مطالعه روی پارامترهای خونی *Cyprinus carpio* نشان داد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش اندازه ماهی افزایش می‌یابد. این بدین معنا است که همگام با افزایش وزن، حجم خون به عنوان یک سازگاری برای تولید تعداد بیشتر گلبول‌های قرمز خونی افزایش می‌یابد (Yeganeh, 2012). Ranzani Paiva

(1995) در مطالعه روی پارامترهای خونی *Mugil platanus* متوسط پارامترهای هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC را در ماهیان با طول بیشتر، بالاتر گزارش کرد. Yousefzadeh *et al.* (2012) فراوانی لنفوسیت در ماهیان مسن‌تر *C. c. gracilis* را به‌علت متوقف شدن توسعه بافت هماتوپرکنتر لنفوئیدی که در تولید لنفوسیت‌ها نقش دارد کمتر گزارش کرد. همچنین شمار کل گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های اریتروسیتی در مقایسه با ماهیان جوان‌تر بیشتر مشاهده کرد.

بررسی اثر آلودگی به انگل *P. cuticola* بر پارامترهای خونی سیاه ماهیان، افزایش گلبول قرمز و نوتروفیل را در ماهیان بیمار نشان داد. این روند به‌صورت غیرمعنی‌دار در گلبول‌های سفید، فراوانی مونوسیت و بازوفیل هم قابل مشاهده بود. Shah *et al.* (2009) افزایش تعداد گلبول‌های سفید از مقدار ۱۵/۸ هزار به ۳۹/۳ هزار عدد در میلی‌مترمکعب در *Cyprinus spp* و افزایش شمار گلبول‌های سفید از مقدار ۱۵/۶ هزار به ۲۷/۶ هزار عدد در میلی‌متر مکعب در *Schizothorax spp* آلوده به چند نوع انگل از نوع سستود، ترماتود و اکانتوسفال گزارش کرد. همچنین فراوانی ائوزینوفیل‌ها نیز در ماهیان آلوده به انگل بیشتر بود. آلودگی به انگل *Lernaea cyprinacea* در *Schizodon intermedius* نیز منجر به کاهش معنی‌دار فراوانی لنفوسیت‌ها (لنفوسیت‌پنیا) و افزایش معنی‌دار نوتروفیل‌ها در ماهیان بیمار شد (Silva Souza *et al.*, 2000).

انگل‌ها مانند بسیاری از عوامل استرس‌زا، منجر به آزاد شدن مواد تحریک‌کننده تولید گلبول‌های قرمز نظیر کته‌کول آمین‌ها[1] تحت تأثیر تغییرات هماتوکریت در خون می‌شوند (Wells & Weber, 1990). با توجه به انگل *P. cuticola* بافت آبشش را نیز به عنوان یکی از بافت‌های هدف انتخاب می‌کند. به نظر می‌رسد افزایش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از پرخونی به علت آسیب بافت آبشش توسط انگل باشد که با نتایج Lebelo *et al.* (2001) نیز همسو است. گلبول‌های سفید به‌خصوص گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها توانایی تخریب عوامل بیماری‌زا را دارند. نوتروفیل‌ها نیز به علت توانایی فاگوسیتوز عوامل خارجی، اولین لوکوسیت‌هایی هستند که به محل آسیب‌دیده مهاجرت می‌کنند. افزایش تعداد گلبول‌های سفید و نوتروفیل نشان‌دهنده مقابله بدن به حضور انگل است. مطالعات زیادی افزایش تعداد انواع گلبول‌های سفید را در ماهیان بیمار همزمان با افزایش شدت آلودگی تأیید کرده‌اند (Jamalzadeh *et al.*, 2009; Movahed, 2009; Jamalzadeh *et al.*, 2014).

بررسی تأثیر شدت آلودگی به انگل *P. cuticola* بر روی مشخصه‌های خونی سیاه ماهی نشان داد که با افزایش شدت آلودگی، شمار گلبول‌های قرمز خون، فراوانی نوتروفیل و بازوفیل افزایش و درصد فراوانی لنفوسیت‌ها با کاهش همراه بود. این در حالی است که شمار کلی تعداد گلبول‌های سفید در ابتدای آلودگی نسبت به ماهیان سالم افزایش داشت، اما بین ماهیان آلوده با شدت‌های مختلف آلودگی تغییرات زیادی نشان نداد. Witeska *et al.* (2010) پارامترهای خونی کپور ماهیان *Cyprinus carpio* آلوده به قارچ ایکتیوفتریوزس را مورد مطالعه قرار دادند. بر اساس مطالعه مذکور، آلودگی به قارچ ایکتیوفتریوزس باعث تغییرات پارامترهای خونی در سطوح مختلف شدت آلودگی انگلی می‌شود؛ به‌طوری که در سطح کم، شاهد افزایش شمار کلی گلبول‌های سفید بدون تغییر در فراوانی انواع لکوسیت‌ها و در سطح شدید آلودگی همراه با لینفوپنیا و افزایش جمعیت نوتروفیل و مونوسیت بود. مطالعه پارامترهای خون‌شناسی کپور معمولی آلوده به انگل ایک نشان داد که تعداد

1. Catecholamine

لوکوسیت‌ها در اوایل بیماری تغییرات شدید و قابل توجهی داشته، اما در طول دوره عفونت، تعداد تغییرات زیادی ندارد. این تغییرات همزمان با کاهش تعداد لنفوسیت و افزایش درصد نوتروفیل همراه بود (Hines *et al*., 1973). Soleimani *et al*. (2008) گزارش کردند که در هفته اول آلودگی کپور معمولی به انگل ایک، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز درصد ائوزینوفیل و نوتروفیل دارای اختلاف معنی‌دار با ماهیان فاقد آلودگی بود در حالی که در هفته دوم تعداد کل گلبول‌های سفید، درصد نوتروفیل و بازوفیل‌ها بدون اختلاف معنی‌دار و تعداد لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها با اختلاف معنی‌دار همراه بود. گلبول‌های سفید نقش مهمی در طول عفونت از طریق تحریک بافت‌های خونی و سیستم ایمنی در تولید مواد شیمیایی و آنتی‌بادی‌های مؤثر در دفاع سلول‌ها در مقابل عامل عفونت هستند. پاسخ پاتولوژیک بدن به صورت افزایش شمار تعداد گلبول‌های سفید و یا انواع آن است (Sabri *et al*., 2009).

سپاسگزاری

از آقای مهندس مسعود مولائی، کارشناس آزمایشگاه محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت همکاری‌های آزمایشگاهی و گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که همکاری‌های لازم را در تأمین امکانات آزمایشگاهی این تحقیق داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

Abdoli, A.; (1999). Inland Fishes of Iran, 2nd ed: Tehran, Natural museum and wild environment of Iran. 377p.

AL-Hassan, L.A.J.; Ahmed, H.K.; Majeed, S.A.; (1993). Some hematological parameters in relation to the biology of the fish *Acanthopagrus latus*. J Environ Sci: Health Part A; 28: 599-1611.

Ali, H.; Ansari, K.K.; (2012). Comparison of Haematological and Biochemical indices in healthy and Monogenean infected Common Carp, *Cyprinus carpio*, Ann Biol Res; 3(4): 1843-1846.

Anon, B. S.; (2010). National Fisheries Technical Team Fish Health, Aging and Species. 1st ed.: Huntingdon, Environment Agency Bromholme Lane, Brampton; 2010:1-2.

Barber, I.; Hoare, D.; Krause, J.; (2000). Effects of parasites on fish behavior: a review and evolutionary perspectives, Rev Fish Biol Fisher; 10:131-165.

Berg, L.S.; (1949). Freshwater fishes of Iran and adjacent countries, Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk SSSR; 8: 783-858.

Danabas, D.; Cikcikoglu Yildirim, N.; Kucukgul Gulec, A.; (2010). An Investigation on some hematological and biochemical parameters in *Capoeta trutta* from Munzur River, J Anim Vet Adv; 9(20): 2578-2582.

Darvish Bastami, K.; Hajimoradloo, A.; Mohammadi Zaragabadi, S.V.; Salehi Mir, M.; Shakiba, M.; (2008). Measurement of some hematological characteristics of the wild carp, Comp Clin Path; 18(3): 321-323.

Dzika, E.; (2005). Changes in the parasitic fauna of Rudd *Scardinius erythrophthalmus* (L.) from Lake Warniak, Poland, Helminthologia; 42: 219-222.

Fausch, K.D.; Lyons, J.R.; Karr, J.R.; Angermeier, P.L.; (1990). Fish communities as indicators of environment degradation, Am Fish Soc Symp; 8:123-144.

Gabriel, U.; Ezeri, G.N.O.; Opabunmi, O.O.; (2004). Influence of sex, source, health status and acclimation on the hematology of *Clarias gariepinus*, Afr J Biotechnol; 3(9): 463-467.

Gholizadeh, M.; Ghorbani, R.; Salman Mahini, A.R.; Hajimoradloo, A.; Rahmani, H.; Mollaei, M.; Nemati, M.;

(2009). Food habits of *Capoeta capoeta gracilis* in Zaringol Stream, Golestan Province, J Agric Sci Natur Resour; 16(2): 70-76. (in Persian)

Hines, R.S.; Spira, D.T.; (1973). Ichthyophtiriasis in the mirror carp, Leucocyte response, J fish Biol; 26: 527-234.

Hrubec, T.C.; Smith, S.A.; Robertson, J.L.; (2001). Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*), Vet Clin Path; 30: 8-15.

Jamalzadeh, F.; Khara, K.; Daghygh Rohi, J.; Sayad Borani, M.; (2014). Effects of parasitic infections on some hematological parameters of pike (*Esox lucius* linnaeus, 1785) in the Anzali wetland, J Anim Res; 27(1): 22-36. (in Persian)

Jamalzadeh, H.R.; Keyvan, A.; Ghomi, M.R.; Gherardi, F.; (2009). Comparison of blood indices in healthy and fungal infected Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*), Afr J Biotechnol; 8(2): 319-322.

Khadjeh, G.H.; Mesbah, M.; Nikmehr, S.; Sabzevarizadeh, M.; (2010). Effect of sex on the hematological parameters of reared Shirboat fish (*Barbus grypus*), J Vet Res; 65(3): 217-224. (in Persian)

Lebelo, S.L.; Saunders, D.K.; Crawford, T.G.; (2001). Observations on Blood Viscosity in Striped Bass, *Morone saxatilis* Associated with Fish Hatchery Conditions, Trans Kans Acad Sci; 104: 183-194.

Luskova, V.; (1995). Determination of normal values in fish, Acta Univ Carol Biol; 39:191-200.

Mazaheri Kohanestani, Z.; (2012). Seasonal dispersion of infected fishes with parasite, Posthodiplostomum, in relation to environmental factors in Zaringol stream, Golestan Province [dissertation]- Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources; 106-108.

Mazaheri Kohanestani, Z.; Ghorbani, R.; Hajimoradloo, A.; Yelghi, S.; Hosseini, S.; (2014b). Effect of parasite infection with Posthodiplostomum cuticola (Nordmann, 1832) on fish growth rate in Zaringol Stream in Golestan Province, Iran J Fish Sci: 22(3): 128-134. (in Persian)

Mazaheri Kohanestani, Z.; Hajimoradloo; A.; Ghorbani, R.; Hosseini, S.; Yelghi, S.; (2014a). Relationships of the host and pathogen: Emphasizing the Posthodiplostomum *cuticola* (Nordmann, 1832) of fish species in the Zaringol Stream, Golestan Province, J Appl Ichthyol Res; 1(4): 65-80. (in Persian).

Mierzerjewska, K.; Wlasow, T.; Kapusta, A.S.K.; (2004). Fish digeneans from the seven islands ornithological reserve at Oswin lake Poland. Part I. *Posthodiplostomum cuticola* von Nordmann, 1832, Acta Ichthyol; 34: 73-84.

Movahed, R.; (2009). Effect of parasite infection on some hematological parameters of *Sander lucioperca*, Caspian Sea, J Biol Sci; 7(2): 61-72. (in Persian)

Ondrackova, M.; Reichard, M.; Jurajda, P.; Gelnar, M.; (2004). Seasonal dynamics of *Posthodiplostomum cuticola* (Digenea, Diplostomatidae) metacercariae and parasite-enhanced growth of juvenile host fish, Parasitol Res; 93: 131-136.

Orun, I.; Erdemil, U.; (2002). A study on blood parameters of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). J Biol Sci; 2(8): 508-511.

Orun, I.; Erdemil, U.; (2003). A study on blood parameter of *Capoeta capoeta* umbla (Heckel, 1834). Captured from Karakaya Dam Lake, Fen ve muhendislik bilimleri dergisi; 15(2): 17-25.

Popioleck, M.; Kotusz, J.; Endoparasitic helminths of fishes of the genus Cobitis from Poland, Folia Biol; 51: 173-178.

Ranzani-Paiva, M.J.T.; (1995).

Caracterı'sticas hematolo'gicas de tainha Mugil platanus Gu¨ nther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da regiao estuarino-lagunar de Cananeia–SP (Lat. 25_000S–Long. 47_550W), Bol Inst de Pesca; 1: 1-22.

Rohi Aminijan, A.; Malek, M.; (2003). Ecological study on helminths parasites of *Capoeta capoeta gracilis* in Shiroud River (Mazandaran Province), Iran J Fish Sci; 13(2): 73-82. (in Persian)

Rolbiecki, L.; (2004). Distribution of *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) (Digenea; Diplostomidae) metacercariae in Cyprinids of the Vistula lagoon, Poland, Arch Pol Fish; 12: 93-98.

Sabri, D.M.; El-Dansoury, M.E.H.; Eissa, I.A.E.M.; Khouraiba, H.M.; (2009). Impact of Henneguyosis infestation on hematological parameters of catfish (*Clarias garipienus*), Int J Agri Biol; 11(2): 228-230.

Samaee, S.M.; Mojazi Amiri, B.; Hosseini Mazinani, S.M.; (2006). Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers, Folia Zool; 55(3): 323-335.

Schuster, R.; Wanjek, K.; Schein, E.; (2001). Investigations on the occurrence of muscle metacercariae in the roach (*Rutilus rutilus*) from Berlin waters, Arch Lebensm Hyg; 52: 102-104.

Shah, A.W.; Parveen, M.; Mir, S.H.; Sarwar, S.G.; Yousuf, A.R.; (2009). Impact of helminths parasitism on fish hematology of Anchar Lake, Kashmir, Pak J Nutr; 8(1): 42-45.

Silva Souza, A.T.; Almedia, S.C.; Machado, P.M.; (2000). Effect of the infestation by *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda, Lernaeidae) on the leucocytes of *Schizodon intermedius* Garavello & Britski, 1990 (Osteichthyes, Anostomidae), Rev Brasil Biol; 60(2): 217-220.

Shukerova, S.; (2005). Helminths fauna of the Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), from the Srebarna biosphere reserve, Trakia J Sci; 3: 33-40.

Soberon, L.; Mathews, P.; Malherios, A.; (2014). Hematological parameters of *Colossoma macropomum* naturally parasitized by *Anacanthorus spathulatus* (Monogenea: Dactylogiridae) in fish farm in the Peruvian Amazon, Int Aquat Res; 6: 251-255.

Soleimani, N.; Hajimoradloo, A.; Ghorbani, R.; Khoshbavar Rostami, H.; (2008). Study on hematological parameters of infected carp with *Ichthyophthrius Multifilis*. Proceeding of the 1th national conference on fishery science and aquatic animals of Iran; 2008; May 8-9, Lahijan, Iran. Lahijan: Azad University–Lahijan branch; 134-138.

Stolen, J.S.; Flecther, T.C.; Rowley, A.F.; Zelikoff, J.T.; Kattari, S.L.; Smith, S.A.; (1997). Techniques in fish Immunology-no 3, 2nd ed: Fairhaven USA, SOS Publication. 222p.

Tavares Dias, M.; Moraes, F.R.; Martins, M.L.; (2008). Hematological assessment in four Brazilian teleost fish with parasitic infection, collected in Fee-fishing from Franca, Brazila. Instituto de pesca, Sao Paulo; 34(2): 189-196.

Turkmen, M.; Erdogan, O.; Yildirim, A.; Akyurt, I.; (2002). Reproduction tactics, age and growth of *Capoeta capoeta umbla* Heckle, 1843 from the Askale Region of the Karasu River, Turk Fish Res; 54: 317-324.

Warren, G.L.; Holt, D.A.; Cichra, C.; Van Genecten, D.; (2000). Fish and Aquatic Invertebrate Communities of the Wekiva and Little Wekiva Rivers: A Baseline Evaluation in the Context of Florida Minimum Flows and Levels Statues, 1d ed: Florida, St Johns River Water Management District Special Publication SJ2000-SP4. 271p.

Wells, R.M.G.; Weber, J.; (1990). The spleen in hypoxic and exercised rainbow trout, J Exp Biol; 150: 461-466.

Williams, H.; Jones, A.; (1994). Parasitic worms of Fish, 1d ed: London, Taylor and Francis. 593p.

Witeska, M.; Kondera, E.; Lugowska, K.; (2010). The effects of ichthyophthiriasis on some haematological parameters in common carp, Turk J Vet Anim Sci; 34(3): 267-271.

Yeganeh, S.; (2012). Seasonal changes of blood serum biochemistry in relation to sexual maturation of female common carp (*Cyprinus carpio*), Comp Clin Path; 21(5): 1059-1063.

Yousefzadeh, F.; Khara, H.; (2015). Changes in blood chemistry and hematological indices of *Capoeta capoeta gracilis* in relation to age, sex, and geographic location, Comp Clin Path; 24: 791-795.

Yousefzadeh, F.; Nezami, S.; Khara, H.; (2012). Study on hematological parameters of *Capoeta capoeta gracilis* in Talar River, Mazandaran province, Aquatic Science and Fishery; 11: 67-75. (in Persian)