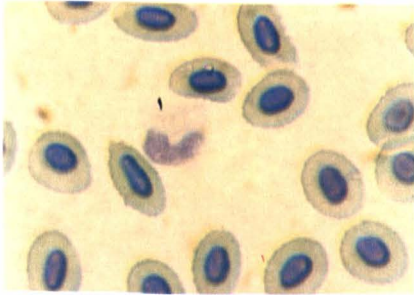
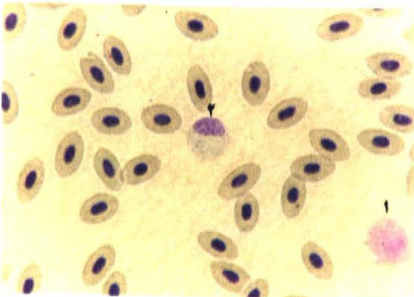


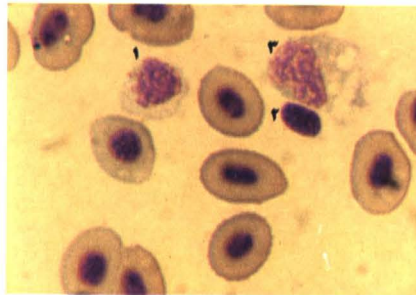
تصویر شماره ۵ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی رنگ آمیزی گیمسا، ۱- نوتروفیل باند



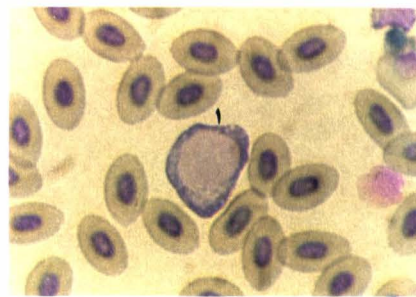
تصویر شماره ۶ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی رنگ آمیزی گیمسا، ۱- گلبول قرمز دژنه شده ۲- منامیلوسیت



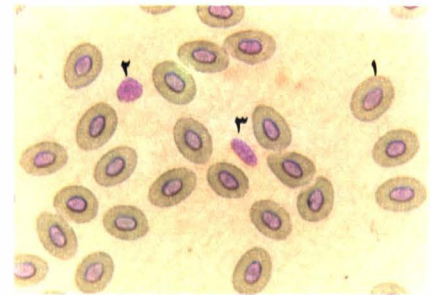
تصویر شماره ۳ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی می کرانوالد ۱- لنفوسیت ۲- ترمبوسیت ۳- مونوسیت



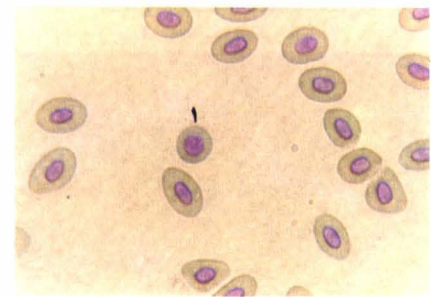
تصویر شماره ۴ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی رنگ آمیزی گیمسا، ۱- میلو بلاست



تصویر شماره ۱ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی رنگ آمیزی گیمسا، ۱- گلبول قرمز بالغ ۲- لنفوسیت ۳- ترمبوسیت



تصویر شماره ۲ - گسترش خونی ماهی کپور معمولی رنگ آمیزی گیمسا، ۱- گلبول قرمز نابالغ (پلی کروماتوسیت)



بررسی مرفولوژی سلولهای خونی، تعیین درصد گلبولهای سفید ماهی کپور معمولی، کپور علفخوار و کپور نقره‌ای در استان خوزستان

● رحیم پیغان، عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ● فریبا داودی و سیاوش عباسی، کارشناسان مرکز تحقیقات شیلاتی خوزستان

چکیده

در این بررسی اشکال طبیعی گلبولهای قرمز و سفید سه گونه ماهی پرورشی استان خوزستان مورد مطالعه قرار گرفت و درصد گلبولهای سفید هر گونه اندازه گیری شد. برای این کار از ۱۹۵ کپور معمولی، ۱۸۵ کپور علفخوار و ۱۷۳ کپور نقره‌ای خونگیری به عمل آمد. گلبولهای قرمز هر سه گونه بیضی شکل هستند و یک هسته بیضی شکل نیز در مرکز دارند. تعداد کمی گلبول قرمز نابالغ (پلی کروماتوسیت) نیز به طور طبیعی در گسترش خونی ماهیان مورد مطالعه مشاهده شد. این سلولها نسبت به گلبولهای قرمز بالغ حالت مدور تری دارند و سیتوپلاسم آنها نیز کمی بازوفیلی است. در شمارش تفریقی گلبولهای سفید، در هر سه گونه لنفوسیتها بیشترین درصد را داشته‌اند. بطوریکه در ماهی کپور معمولی متوسط ۸۷/۱۱، کپور علفخوار ۸۰/۲۲ و کپور نقره‌ای ۹۱/۷۷ درصد گلبولهای سفید، لنفوسیت بوده‌اند. متوسط نوتروفیلها در ماهی کپور معمولی ۱، علفخوار ۲ و نقره‌ای ۳ پتر تیب ۵/۸۸، ۶/۱۱ و ۲ درصد بوده‌است. متوسط مونسیت‌های کپور معمولی ۲/۷۷، کپور علفخوار ۴/۵۵ و کپور نقره‌ای ۲/۵۵ بوده‌است. گلبولهای سفید نابالغ نیز که شامل میلو بلاست، میلو سیت، منامیلوسیت و پرومونسیت بوده‌اند، در کپور معمولی، علفخوار و نقره‌ای به ترتیب ۳/۱۱، ۷/۱۱ و ۲/۳۳ درصد گلبولهای سفید را تشکیل داده بودند. شکل طبیعی گلبولهای سفید نیز شرح داده شده است.

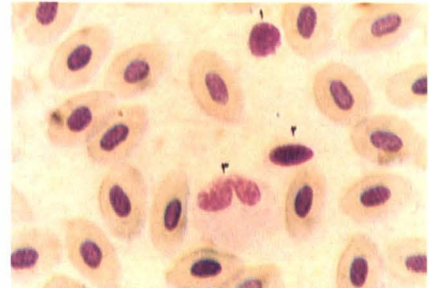
علیرغم اهمیت خون‌شناسی خصوصاً تعیین درصد گلبولهای سفید و مرفولوژی آنها، تاکنون در این رابطه گزارشی در مورد به دست آوردن موارد یاد شده در کشورمان وجود ندارد. نظر به گسترش روز افزون پرورش ماهی در خوزستان و دیگر استانهای کشور و اهمیت بهداشت و سلامتی ماهی در رشد و افزایش تولید، استفاده از روشهای مختلف تشخیص از جمله خون‌شناسی بسیار ضروری است. به طور کلی هدف این تحقیق بدست آوردن مقادیر طبیعی درصد گلبولهای سفید و تعیین شکل طبیعی گلبولهای قرمز و سفید کپور ماهیان

تحقیقات Lamas و همکاران (۱۹۹۴) تزریق داخل صفاقی باکتری *Vibrio anguillarum* به ماهی قزل‌آلای رنگین کمان باعث تغییراتی در خون گردیده است. در این حالت کاهش درصد لنفوسیتها، افزایش درصد نوتروفیلها و مونسیتها و افزایش درصد نوتروفیل‌های نابالغ در خون محیطی مشاهده شده است. Wlasow و همکاران (۱۹۹۰) با بررسی تاثیرات مسمومیت با آمونیاک بر فاکتورهای خونی، نشان دادند که مسمومیت غیرکننده با آمونیاک باعث افزایش ترمبوسیتها و آنوزیونوفیلها و کاهش میزان هموگلوبین و درصد لنفوسیت‌های کوچک شده‌است.

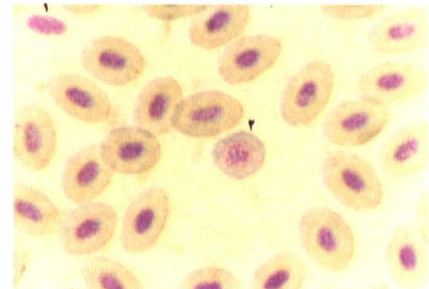
مقدمه

خون به عنوان یک بافت حیاتی سیال، شاخص مهم و خوبی از وضعیت طبیعی و غیر طبیعی بدن می‌باشد و اندازه گیری فاکتورهای خونی و توجه به تغییرات گلبولهای سفید و قرمز خون همواره از ابزارهای مهم تشخیص بسیاری از بیماریهای انسان و دام بوده است. در رابطه با ماهی نیز قدمهای اولیه در استفاده از خون‌شناسی در تشخیص بیماریها و حالات غیر طبیعی برداشته شده‌است. تحقیقاتی نیز راجع به تاثیرات بیماریها، عوامل استرس‌زا، تغذیه، سموم و عوامل محیطی بر فاکتورهای خونی صورت گرفته‌است. طبق

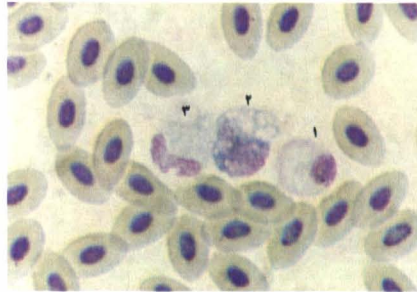
تصویر شماره ۷- گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی می گرانوالد ۱- لنفوسیت ۲- ترمیوسیت ۳- نوتروفیل



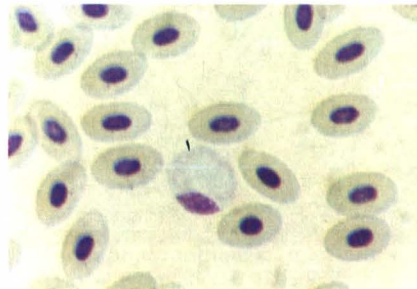
تصویر شماره ۸- گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی می گرانوالد، ۱- ترمیوسیت ۲- گلبول قرمز نابالغ (پلی کروماتوسیت)



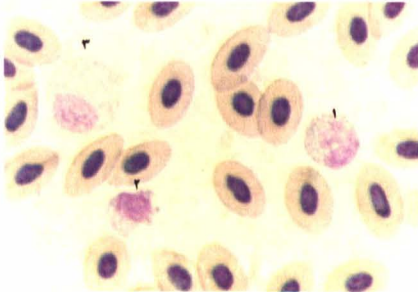
تصویر شماره ۹- گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی گیمسا، ۱- میلویت ۲- مونوسیت ۳- نوتروفیل



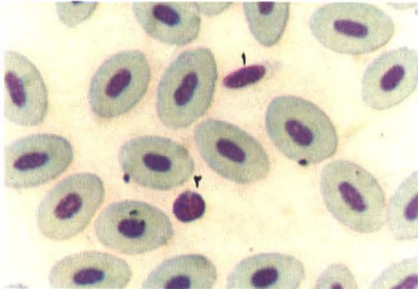
تصویر شماره ۱۰- گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی گیمسا، ۱- نوتروفیل



تصویر شماره ۱۱، گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی گیمسا، ۱- انوزینوفیل ۲- لنفوسیت ۳- متامیلوسیت



تصویر شماره ۱۲- گسترش خونی ماهی کپور علفخوار رنگ آمیزی گیمسا، ۱- لنفوسیت فعال ۲- مونوسیت (ماکروفاژ)



پرورشی استان خوزستان بوده است که این می تواند نقطه شروعی در راستای تهیه شناسنامه خونی کپور ماهیان در ایران باشد.

روش کار

سد کارگاه پرورش ماهی را به طور تصادفی انتخاب کرده و از آنها طی چندین بار نمونه گیری ۵۴ قطعه ماهی گرفته شد (۱۹۵ کپور معمولی، ۱۸۵ کپور علفخوار و ۱۷۳ کپور نقره ای). این ماهیها از لحاظ ظاهری سالم بوده و الودگی انکلی قابل توجهی در آنها مشاهده نکردید. نمونه گیری در طی دو فصل تابستان و پاییز بوده است. لازم به ذکر است که در این کارگاهها سیستم پرورشی به صورت نیمه متراکم است که در آن حدود ۳۰۰۰ قطعه ماهی در هر هکتار پرورش داده می شود و اواخر پاییز ماهیها به بازار عرضه می گردند.

ماهیها توسط تورچتری یا سالیک صید شده و بلافاصله با وارد کردن ضربه به سر بیهوش می گردیدند. سپس خونگیری از ورید دمی، توسط سرنگ ۲ یا ۵ میلی لیتری انجام شده و خون به بطریهای حاوی هیپارین خشک منتقل می شد (حدود ۲۰۰ واحدین میلی هیپارین به ازاء هر میلی لیتر خون). بطریها را بایستی به آرامی تکان داد تا از انعقاد خون جلوگیری شود.

سپس از هر نمونه دو گسترش خشک تهیه و پس از تثبیت با متانل با روش گیمسا و روش می گرانوالد - گیمسا^۴ رنگ آمیزی گردید.

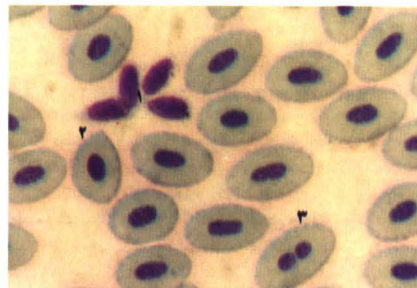
در هر گسترش ۱۰۰ عدد گلبول سفید شمارش گردید و تعداد هر نوع گلبول به صورت درصد محاسبه شد. تصاویری نیز از شکل طبیعی گلبولهای قرمز و سفید تهیه گردید.

نتایج

۱- درصد گلبولهای سفید

در تمامی ماهیان مورد مطالعه لنفوسیتها بیشترین درصد را داشته اند بطوریکه در ماهی کپور معمولی ۸۷/۱۱، کپور علفخوار ۸۰/۲۲ و کپور نقره ای ۹۱/۷۷ درصد گلبولهای سفید، لنفوسیت بوده است. متوسط نوتروفیلها در ماهی کپور معمولی، علفخوار و نقره ای به ترتیب ۵/۸۸، ۶/۱۱ و ۲ درصد بوده است. مونوسیتها، انوزینوفیلها و بازوفیلها نیز درصد کمی از گلبولهای سفید را تشکیل داده بودند که مقادیر آن در جدول ذکر شده است. گلبولهای سفید نابالغ نیز که شامل میلویتها، میلویتها، متامیلوسیت، پرومونوسیت بودند در ماهی کپور معمولی متوسط ۳/۱۱، در کپور علفخوار ۷/۱۱ و در کپور نقره ای ۲/۳۳ درصد گلبولهای سفید را تشکیل داده بودند.

تصویر شماره ۱۳- گسترش خونی ماهی کپور نقره ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- ترمیوسیت ۲- گلبول قرمز فطره اشکی ۳- گلبول قرمز باشکستگی هسته

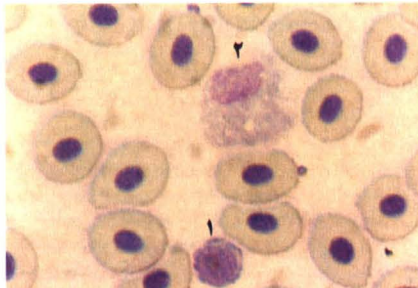


۲- شکل گلبولهای خونی

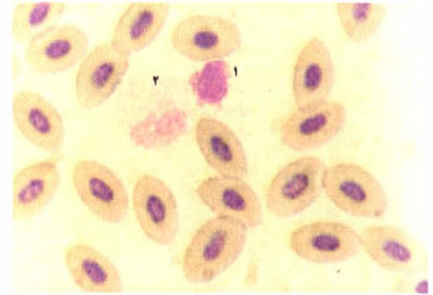
تصاویری از شکل طبیعی گلبولهای قرمز ماهیان مورد مطالعه نشان داده شده است. گلبول قرمز بالغ بیضی شکل و دارای سیتوپلاسم صورتی رنگ فراوانی می باشد. هسته آن بیضی شکل و در مرکز سلول قرار گرفته است و محور طولی آن موازی محور طولی گلبول است. کروماتین آن متراکم بوده و به رنگ بنفش پررنگ دیده می شود. به طور طبیعی تعدادی گلبول قرمز نابالغ (پلی کروماتوسیت) نیز در گسترشها دیده می شود. این سلولها نسبتاً گرد بوده و دارای سیتوپلاسم بازوفیلی کم رنگ هستند (تصاویر ۲ و ۸). تصاویری از گلبولهای قرمز غیرطبیعی که حالتی از حذف هسته، شکسته شدن هسته و دژنه شدن گلبول را نشان می دهند نیز ارائه شده است (تصاویر ۶، ۱۳ و ۱۶).

لنفوسیت های ماهیان مورد مطالعه معمولاً مدور

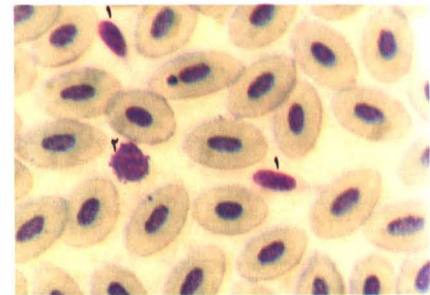
تصویر شماره ۱۴- گسترش ماهی کپور نقره ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- ترمیوسیت ۲- لنفوسیت



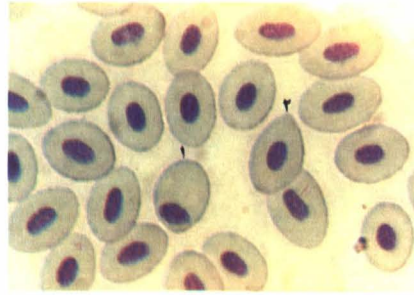
تصویر شماره ۱۵- گسترش خونی ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- لنفوسیت ۲- مونوسیت (ماکروفاز)



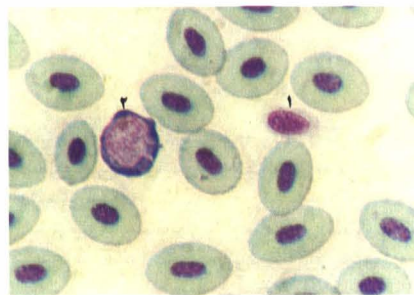
تصویر شماره ۱۸- گسترش خونی ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- تر موبوسیت ۲- لنفوسیت فعال



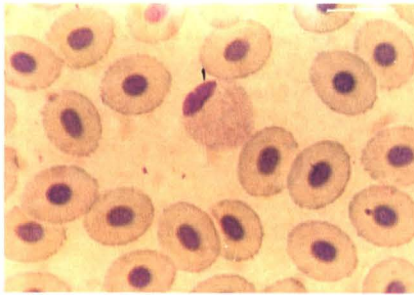
تصویر شماره ۱۶- گسترش ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- گلبول قرمز در حال حذف هسته ۲- گلبول قرمز قطره اشکی



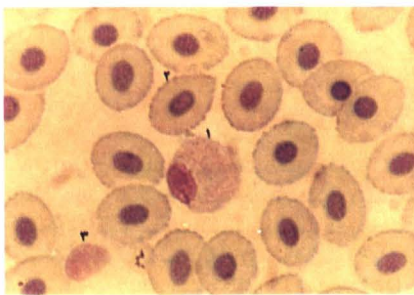
تصویر شماره ۱۹- گسترش خونی ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی گیمسا، ۱- تر موبوسیت ۲- اریتروبلاست



تصویر شماره ۱۷- گسترش خونی ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی می گرانوالد، ۱- انوزینوفیل



تصویر شماره ۲۰- گسترش خونی ماهی کپور نقره‌ای رنگ آمیزی می گرانوالد، ۱- انوزینوفیل ۲- گلبول قرمز دژنره شده ۳- گلبول قرمز قطره اشکی



منابع مورد استفاده

- Blaxhall, P.C. and Diasley, K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of fish biology. 5. 771-781.
- Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assessment of the health of fresh water fish. J. of fish biol. 4. 593-604.
- Campbell, T.W. 1988. Fish cytology and hematology. Veterinary clinics of North America. Small Animal practice. 18. 349-364.
- Costillas, E. and Smith, L.S. 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of fish biology. 10. 481-491.
- Hamers, R. 1995. Granulation staining and cytochemistry of peripheral blood leukocytes in healthy carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Applied Ichthyology. 11. 88-99.
- Lamas, J. 1994. Non-specific cellular responses of rainbow trout to *Vibrio anguillarum* and its extracellular products (ECPS). Journal of Fish Biology. 45. 839-854.
- Mccarthy, D.H., Stevenson, J.P. and Roberts, M.S. 1973. Some blood parameters of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Fish Biology. 5. 1-8.
- Roberts, R.J. 1989. Fish pathology. Baillier Tindall, second edition.
- Svobodova, Z. and Vykusova, B. 1991. Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. Manual for international training course on fresh water fish diseases and intoxication. 156-157.
- Wlaso, T., Dobrowska, H. and Ziomk, E. 1990. Haematology of carp in prolonged sublethal ammonia intoxication. polskie Archiwum Hydrobiologii. 37. 429-438.

درصد گلبولهای سفید در ماهیان مورد مطالعه (متوسط ± انحراف از معیار)

نوع گلبول نوع ماهی	نوتروفیل	لنفوسیت	مونوسیت	انوزینوفیل	بازوفیل	نایالغ
کپور معمولی	۵/۸۸ ± ۲	۸۷/۱۱ ± ۲	۲/۷۷ ± ۱	۱/۷۷ ± ۱	۰/۱۱	۳/۱۱ ± ۳
کپور علف‌خوار	۶/۱۱ ± ۲	۸۰/۲۲ ± ۸	۴/۵۵ ± ۳	۱/۸۸ ± ۱	۰	۷/۱۱ ± ۲
کپور نقره‌ای	۲ ± ۱	۹۱/۷۷ ± ۶	۲/۵۵ ± ۲	۱/۲۲ ± ۱	۰	۲/۳۳ ± ۱

دیگر محققین مطابقت دارد. طبق تحقیقات Mc carthy و همکاران (۱۹۷۳) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان متوسط ۹۳/۵ درصد گلبولهای سفید، لنفوسیت بوده‌اند. Wlasow و همکاران (۱۹۹۰) درصد گلبولهای سفید ماهی کپور معمولی را بدین ترتیب ذکر کرده‌اند: لنفوسیت‌ها ۹۳/۹۹ درصد، نوتروفیل‌ها ۴/۴ درصد، انوزینوفیل‌ها ۱/۱ تا ۳/۳ درصد، و مونوسیت‌ها ۲/۲ درصد. در ماهی طلایی نیز لنفوسیت‌ها بیشترین درصد را داشته‌اند (۲).

در ارتباط با وجود سلولهای بلاست در خون محیطی ذکر این نکته ضروری است که در ماهی به دلیل ناکامل بودن سد خونی یافت خونساز، تعداد کمی سلول بلاست ممکن است به طور طبیعی در خون محیطی دیده شود. همچنین در ماهیان، به طور طبیعی حدود ۱٪ پلی کروماتوسیت در بین گلبولهای قرمز وجود دارد (۸). این سلولها حالت گرد و مدوری دارند و سیتوپلاسم آنها بازوفیلی کم رنگ است. دلیل بازوفیلی بودن این سلولها، وجود ارگانل‌هایی است که در آنها وجود دارد (اجسام گلژی، میتوکندری و واکسولهای کوچک). در بعضی حالات غیر طبیعی از قبیل کم خونی‌های حیران‌شونده، دیده می‌شود (۳).

پاورقی‌ها

- Cyprinus carpio*
- Ctenpharyngodon idella*
- Hypophthalmichthys molitrix*
- May-Grünwald-Giemsa
- Goldfish

هستند و گاهی پاهای کاذب در آنها دیده می‌شود که در این حالت به آنها لنفوسیت‌های فعال گفته می‌شود (تصاویر ۱۲ و ۱۸).

نسبت هسته به سیتوپلاسم آنها زیاد است و دارای هسته مترآکم و به رنگ بنفش پر رنگ می‌باشند. در لنفوسیت‌های کوچک سیتوپلاسم کمی هسته را احاطه کرده است در حالیکه لنفوسیت‌های متوسط و بزرگ، سیتوپلاسم بیشتری دارند (تصاویر ۱۱، ۱۲ و ۱۴). نوتروفیل‌های بالغ در ماهیان مورد مطالعه دارای هسته یک لوبی، دو لوبی و یا سه لوبی هستند. نوتروفیل‌های باند هسته نعل اسبی شکل دارند. سیتوپلاسم آنها خاکستری کم رنگ بوده که اغلب دارای دانه‌های ریزی هستند که به رنگ صورتی یا آبی کم رنگ دیده می‌شود (تصاویر ۵، ۷، ۹ و ۱۰).

مونوسیت‌ها، انوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌های ماهیان مورد مطالعه شباهت زیادی با گلبولهای مورد نظر در پستانداران دارند (تصاویر ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۷ و ۲۰). ترومبوسیت‌ها نیز سلولهایی هستند که در آنها هسته تقریباً تمامی سلول را پر کرده‌است. در گسترش‌های مورد مطالعه ترومبوسیت‌ها به سه فرم مشاهده گردیدند: گرد، بیضی و دوکی شکل. ترومبوسیت‌های نارس گرد و مدور هستند (شبه به لنفوسیت‌های کوچک). در حالیکه ترومبوسیت‌های بالغ به فرم کشیده و یا دوکی شکل دیده می‌شوند (در صورتی که واکنش نشان دهند و در عمل انعقاد شرکت کنند به صورت دوکی شکل. و در صورتی که واکنش نشان ندهند، بیضی شکل خواهند بود) (تصاویر ۱۸، ۲۰ و ۲۱).

بحث

در تمامی ماهیان مورد مطالعه لنفوسیت‌ها بیشترین درصد را داشته‌اند. این موضوع با یافته‌های