

## هیستوفیزیولوژی راس کلیه و ساختار ایمنی خون در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در دو فصل سرد و گرم

علی غلامی<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۲\*</sup>، سولماز شیرعلی<sup>۳</sup>، زهرا بصیر<sup>۴</sup>

۱- کارشناسی ارشد علوم جانوری، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران، پست الکترونیکی: [aligholami@yahoo.com](mailto:aligholami@yahoo.com)

۲- دانشیار، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، پست الکترونیکی: [abdir@kmsu.ac.ir](mailto:abdir@kmsu.ac.ir)

۳- استادیار، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، پست الکترونیکی: [solmazshirali@gmail.com](mailto:solmazshirali@gmail.com)

۴- استادیار، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، پست الکترونیکی: [z.basir@scu.ac.ir](mailto:z.basir@scu.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۵

\* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱

### چکیده

در این تحقیق هیستوفیزیولوژی قسمت راس کلیه به عنوان اندام لنفاوی و ساختار ایمنی خون در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در دو فصل سرد و گرم مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۱۰ قطعه تاسماهی ایرانی سالم و هم اندازه در دو فصل زمستان و تابستان از استخرهای با دمای آب ۷/۳۰ و ۲۷/۹۰ درجه سانتی‌گراد صید و مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌هایی به طول ۰/۵ سانتی‌متر از راس کلیه برداشته شدند و مراحل استاندارد تهیه مقاطع بافتی روی آنها انجام گرفت. پس از خون‌گیری و بررسی‌های خونی شامل گلبول‌های سفید و بررسی‌های ایمنی شامل لیزوزیم و کمپلمان نشان داد که در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید لنفوسیت‌ها بیشترین درصد را دارا بودند و همچنین تراکم آنها در فصل سرد در خون و قسمت راس کلیه بیشتر از فصل گرم بود ( $P < 0.05$ ). همچنین، غلظت لیزوزیم و کمپلمان‌های C3 و C4 در فصل زمستان به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. پایین بودن سطح این سه عامل در سرم در فصل زمستان ممکن است به دلیل کاهش میزان فعالیت سیستم ایمنی و کاهش سلول‌های تولید کننده آنها در محیط سرد باشد. با توجه به مطالب فوق این امر بیانگر تأثیرپذیری سیستم ایمنی از تغییرات دما در فصول سرد و گرم است.

کلمات کلیدی: لنفوسیت، لیزوزیم، تاسماهی ایرانی، فصول سرد و گرم.

### ۱. مقدمه

نداشته و جایی که گلبول‌های سفید ذرات خارجی را به دام می‌اندازند در طحال یا کلیه است. بافت‌های لنفومیلوئیدی ماهیان در کلیه قرار داشته و بر خلاف مهره‌داران عالی بافت بینابینی یا بافت لنفاوی بزرگترین قسمت بافت خون‌ساز بدن است (Vittet, 2014). بر اساس مطالعات مشخص گردید که بافت خون، شاخص مهمی برای بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری و کنترل روند زیستی موجودات

تاسماهی ایرانی یکی از مهم‌ترین ماهیان خانواده خاویاری دریای خزر بوده و به طور عمده در نواحی جنوبی این دریا زیست می‌کند (Khoshkholgh et al., 2013). قسمت راس کلیه در ماهی عمل خون‌سازی را انجام داده و دسته‌ای از لنفوسیت‌ها در بافت کلیه بالغ می‌شوند. ماهی‌ها بر خلاف پستانداران گره لنفاوی

۳ساعته با استفاده از پارافین<sup>۱</sup> انجام گرفت (Huggenberger et al., 2006). مراحل آبیگری، شفاف کردن و آغستگی به پارافین توسط دستگاه هیستوکینت مدل Tissue tek-rotary, RX 11B ساخت کشور ژاپن، در آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام شد. بعد از اتمام مرحله قالب‌گیری، برش‌هایی سریالی از کلبه به ضخامت ۶-۴ میکرومتر با استفاده از میکروتوم نیمه دیجیتال LEICA مدل RM2245 ساخت کشور آلمان تهیه گردید. سپس لام‌های تهیه شده با هماآتوکسیلین-اوتوزین رنگ آمیزی شدند. جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بافتی مختلف در مقاطع میکروسکوپی از تبدیل لنز دیجیتال داینولیت مجهز به نرم‌افزار داینوکچر استفاده گردید (Aramli et al., 2014). همچنین خون‌گیری از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه انجام گرفت. بدین منظور تعداد ۱۰ قطعه تاسماهی ایرانی از انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت برای فصول گرم و سرد گرفته شد. بعد از بیهوش کردن ماهیان به وسیله قرار دادن در حمام حاوی پودر گل میخک، خون‌گیری از نمونه‌ها انجام گرفت. بدین منظور ابتدا فلس نامتجانس سمت شکمی ساقه دمی از پایه باله مخرجی در امتداد باله دم برداشته شد. سپس با فرو کردن قسمت مخروطی سوزن با اندازه ۴۵ درجه در سطح مرکزی ناحیه دمی که در حدود ۱ سانتی‌متری عقب باله مخرجی قرار دارد، به فضای داخل ورید دمی خون‌گیری انجام شد. بعد از خون‌گیری سرنگ از بدن ماهی خارج گردید و سپس سوزن از سرنگ جدا شد. سپس به آرامی خون داخل سرنگ به درون لوله آزمایش انتقال یافت و بلافاصله لوله آزمایش در مجاورت یخ قرار گرفت. این مقدار خون به ۲ دسته اپندورف حاوی هپارین برای سنجش فاکتورهای مانند تعداد گلبول‌های سفید و فاقد هپارین برای جداسازی سرم جهت سنجش میزان لیزوزیم و کمپلمان سرم تقسیم‌بندی شد. برای جداسازی سرم از سلول‌های خونی از سانتریفیوژ (مدل Labofuge-200) ساخت ایتالیا به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. همچنین برای برداشتن آن از سمپلر نیز استفاده گردید. سرم جدا شده در میکروتیوپ‌ها ریخته شد و تا زمان بررسی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای شمارش گلبول‌های سفید در ماهی از محلول رقیق‌کننده شاووپروزکا - اسکروبوک با استفاده از لام هموسیتومتر استفاده

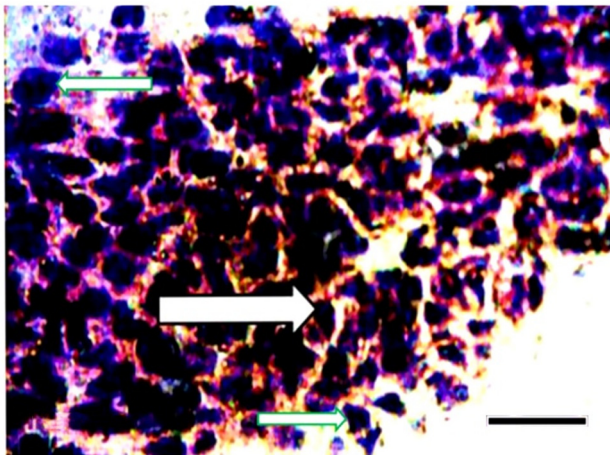
زنده از جمله ماهیان است. هر یاخته‌ی سفید خون دارای ویژگی خاصی می‌باشد که مختص به آن است. بنابراین فراهم کردن توصیف جزئی ویژگی یاخته‌های سفید بدون ارجاع آن‌ها به نوع یاخته سفید، مشکل می‌باشد. در مجموع تعداد یاخته‌های سفید خون ماهیان در نوسان بوده و نسبت به گلبول‌های قرمز از فراوانی کمتری برخوردار هستند و معمولاً تعداد آنها در بیشتر ماهیان کمتر از ۱۵۰ هزار عدد در هر میلی‌متر مکعب خون است (Aramli et al., 2014). لیزوزیم به عنوان مهمترین پارامتر سیستم ایمنی غیر اختصاصی همورال یک پلی‌پپتید با وزن مولکولی بین ۱۴ تا ۱۸ کیلو دالتون است که در طیف وسیعی از مهره داران از جمله گونه‌های آب شیرین و دریایی وجود دارد و از آن به عنوان داروی ضد باکتریایی نام می‌برند. سیستم کمپلمان می‌تواند به وسیله حضور آنتی‌بادی‌ها یا ساختار کربوهیدرات‌ها روی سطح بدن موجود زنده فعال شود. بنابراین می‌تواند از طریق شناخت کربوهیدرات‌های خارجی و به‌وسیله شکل‌گیری آنتی‌بادی‌ها و وسیله‌ای برای ایمنی طبیعی باشد (Nasr et al., 2015). با توجه به اهمیت سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان به عنوان اولین خط دفاعی در آن‌ها و با توجه به اینکه بررسی جامعی مرتبط با مطالعات بافت‌شناسی ساختار لنفاوی و خونی ماهیان خاویاری به ویژه تاسماهی ایرانی در دو فصل سرد و گرم صورت نگرفته است و همچنین به دلیل بومی بودن این گونه‌ی با ارزش در سواحل جنوبی دریای خزر، در این تحقیق ویژگی‌های فیزیولوژی و بافت‌شناسی ساختار لنفاوی و خونی این ماهی مورد مطالعه قرار گرفت تا امکان بهره‌مندی از آن در سایر مطالعات تخصصی مرتبط فراهم گردد.

## ۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌های کلبه پس از جداسازی، در محلول تثبیت کننده به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. سپس به منظور خارج کردن فرمالین، به مدت یک شب در داخل آب جاری قرار گرفتند. نمونه‌ها برای پاساژ بافتی مرحله آبیگری از نمونه‌های بافتی توسط سری‌های افزایشی اتانول (اتانول ۷۰٪، ۸۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪) به داخل دستگاه هیستوکینت انتقال یافتند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه از داخل محلول زایلول - الکل (۵۰٪ - ۵۰٪) عبور داده شدند. برای شفاف‌سازی بافت از گزیلول (دو زمان ۱/۵ ساعته در دو محلول) استفاده شد و سپس عمل پارافین‌دهی در دو مرحله

<sup>۱</sup> Merck

پراکندگی سلول‌های لنفوسیتی با هسته‌ای کروی و تیره که تراکم آن نسبت به فصل تابستان بیشتر است.



شکل ۲: ساختار بافتی رأس کلیه تاسماهی ایرانی در فصل تابستان (H&E, x2900 تصویر یک لنفوسیت (پیکان).

پراکندگی سلول‌های لنفوسیتی با هسته‌ای کروی و تیره که تراکم آن نسبت به فصل زمستان کمتر است.

نتایج بررسی لام‌های تهیه شده از خون تاسماهی ایرانی نشان داد که نه تنها تعداد انواع گلبول‌های سفید خون با هم متفاوت بوده، بلکه شمارش افتراقی آن‌ها در دو فصل گرم و سرد نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند. بر این اساس شمارش افتراقی لنفوسیت‌ها در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). به طوری‌که افزایش میانگین تعداد لنفوسیت‌ها در فصل سرد نسبت به فصل گرم مشاهده گردید. اما نتایج بررسی‌های هیستومتری خون تاسماهی ایرانی نشان داد که در شمارش افتراقی نوتروفیل‌ها در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند ( $P > 0.05$ ). همچنین بررسی خون تاسماهی ایرانی نشان داد که شمارش افتراقی مونوسیت‌ها در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشته به طوری‌که کاهش میانگین تعداد لنفوسیت‌ها در فصل سرد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت خون تاسماهی ایرانی در دو فصل گرم و سرد در سطح (حروف غیرمشابه نشان از اختلاف معنی‌داری بین میانگین تعداد سلول‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ )).

سرد	گرم	فاکتور
۲۰ ± (۱/۸۲ a)	۱۹/۹ ± (۱/۱۹ a)	نوتروفیل
۷۷/۱ ± (۱/۶۶ a)	۷۰/۶ ± (۱/۵۰ b)	لنفوسیت
۴/۰ ± (۱/۱۵ a)	۶/۲ ± (۱/۰۳ b)	مونوسیت

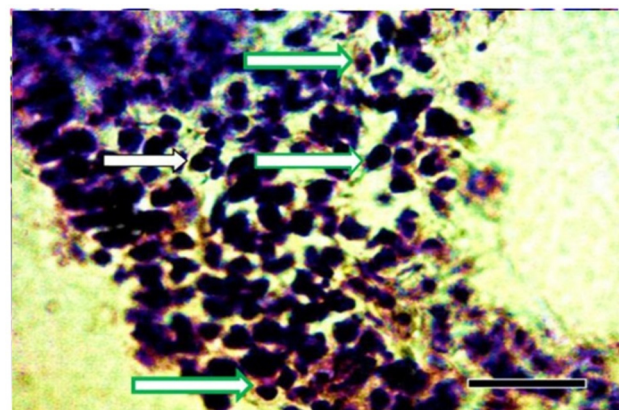
شد. همچنین شمارش تفریقی انواع گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا صورت پذیرفت. تعداد گلبول‌های سفید در چهار مربع در چهار گوشه لام نئوبار و به کمک ملانژور شمرده شدند و در عدد ۲۰ ضرب شدند. همچنین فعالیت لیزوزیم بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم *Micrococcus lyzodeikticus* اندازه‌گیری گردید. جهت اندازه‌گیری هر کدام از کمپلمان‌های C3 و C4 از روش کدورت سنجی استفاده شد. همچنین میزان هرکدام از آن‌ها بر مبنای کدورت حاصل از اتصال هر کدام با آنتی‌بادی ضد آن سنجش شد. برای کالیبره کردن دستگاه از کالیبراتورهای تجاری استفاده گردید (Arslan et al., 2015).

### ۳. نتایج و بحث

نتایج بررسی‌های هیستومتری بافت رأس کلیه تاسماهی ایرانی نشان داد که تعداد لنفوسیت‌ها در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ). به طوری‌که میانگین تعداد لنفوسیت‌های بدست آمده از شمارش میکروسکوپی با استفاده از لنز داینولیت در فصل سرد افزایش یافته و می‌تواند نشان‌دهنده فعالیت بیشتر سیستم ایمنی این بخش در فصل سرد باشد (جدول ۱، شکل‌های ۱ الی ۲).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تعداد سلول‌های لنفوسیتی بافت رأس کلیه تاسماهی ایرانی در طول ۱۰۰ میکرومتر از ضخامت آن در دو فصل گرم و سرد در سطح (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین تعداد سلول‌ها است ( $P < 0.05$ )).

بافت مورد مطالعه	فصل گرم	فصل سرد
رأس کلیه	۲۴/۸ ± (۲/۵۲ b)	۲۷/۵ ± (۲/۷۹ a)



شکل ۱: ساختار بافتی رأس کلیه تاسماهی ایرانی در فصل زمستان (H&E, x2900 تصویر یک لنفوسیت (پیکان).

نتایج بررسی‌های مقدار آنزیم لیزوزیم نشان داد که مقدار این آنزیم بر مبنای کدورت‌سنجی در تاسماهی ایرانی در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشته ( $P < 0.05$ ) به طوری که مقدار آن در فصل سرد کاهش یافته است. همچنین در بررسی نتایج مقدار کمپلمان‌های C3 و C4 مشخص گردید که بر مبنای کدورت‌سنجی در تاسماهی ایرانی در دو فصل گرم و سرد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشته ( $P < 0.05$ ) به طوری که مقدار آن در فصل سرد کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار مقادیر لیزوزیم، کمپلمان‌های C3 و C4 در خون تاسماهی ایرانی در دو فصل گرم و سرد در سطح (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین آنزیم‌ها است ( $P < 0.05$ )).

نوع فاکتور	گرم	سرد
لیزوزیم	۳۲/۵± (۱/۵۰ a)	۲۳/۸± (۱/۹۳ b)
C3	۴۲/۱± (۲/۴۲ a)	۳۵/۹± (۰/۸۷ b)
C4	۲۸/۵± (۰/۷۰ a)	۲۵/۱± (۱/۸۵ b)

نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر این است که ساختار بافت‌شناسی قسمت رأسی کلیه به صورت بخشی از ساختار ایمنی و خون‌ساز متشکل از سلول‌های لنفوسیت و لنفوبلاست است. Bly و Clem (۱۹۹۲) تغییرات دما و ایمنی را در ماهی‌ها و سخت‌پوستان بررسی نموده و گزارش دادند که فعالیت ایمنی و تجمع سلول‌های لنفوئیدی در طحال و قسمت رأسی کلیه در دماهای بالای محل زندگی حداقل و در دماهای پایین حداکثر است که با نتیجه بدست آمده در مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Dixon و Stet (۲۰۰۱) روی میزان بافت لنفوئیدی پرونفروز ماهی کپور علفخوار در طول فصول مختلف سال انجام شد، مشخص گردید که متوسط مساحت بافت لنفوئیدی در فصل سرد بیشتر از فصل گرم است و این امر نشان‌دهنده نقش مهم این اندام در سیستم ایمنی ماهی در فصل سرد در برابر تغییرات فصلی می‌باشد. (Vittet, 2014) گزارش نمود که چگونگی ساختار خون به عنوان بهترین فاکتور جهت بررسی وضعیت تعادل موجود زنده با محیط پیرامون خود است و برای دستیابی به وضعیت خونی ماهیان در شرایط خاص زندگی به تصویر کشیدن تنوع سلول‌های خونی به تناسب گونه، سن و فصل سال امری ضروری است. به طوری که محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر درجه حرارت، مواد غذایی، آلودگی و صید بر سلول‌های خونی تاثیرگذار هستند (Vittet, 2014).

خون‌شناسی ماهیان خاویاری از جنبه تکاملی و به عنوان عامل مهم در تعیین و کنترل وضعیت ماهیان جوان در طی دوره پرورش بچه تاسماهیان اشاره نمودند. این محققین در تجزیه و تحلیل‌های مقایسه‌ای خود تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای را در برخی مقادیر نشان دادند که ناشی از شرایط مختلف پرورش نظیر تغییرات دما، کمبود مواد غذایی و کاهش غلظت اکسیژن است. تقویت سیستم ایمنی ذاتی یا غیراختصاصی برای ماهیان پرورشی بسیار حائز اهمیت است. زیرا ماهی‌ها تحت شرایط پرورشی در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی فرصت طلب، گرما، سرما و دیگر تنش‌ها آسیب پذیر هستند. به طور کلی در مطالعه اخیر تعداد سلول‌های لنفوسیتی خون و تراکم آن‌ها در فصل سرد بیشتر از فصل گرم گزارش گردید. هر چند گزارشات بسیار متنوعی از اثر دما یا تغییرات فصلی روی سیستم ایمنی ماهی وجود دارد اما اکثر محققین بر تاثیر شوک حرارتی روی سیستم ایمنی ماهی تاکید دارند (Coteur et al., 2004). در این مطالعه افزایش مقادیر لنفوسیت‌ها در فصل سرد سال حاکی از سیر طبیعی شرایط پرورشی و عدم حضور حالات بیماری و تنش مداوم در تاسماهیان است. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در فصل سرد نسبت به فصل گرم به دلیل نقش ایمنی اختصاصی آن جهت بالا بردن مقاومت ایمونولوژیک تاسماهی در برابر عوامل محیطی است. در بحث شمارش تفریقی گلبول‌های سفید در ماهیان، لنفوسیت‌ها بیشترین درصد را به خود اختصاص می‌دهند (Ellis et al., 1990). نوسان سطوح لنفوسیت‌ها در ماهیان در پاسخ به تنش، هورمون‌های کورتیکواستروئیدی و تغییرات دما مشابه پستانداران هستند. در مطالعه حاضر بین فصول مختلف سال از نظر شمارش کلی و تفریقی گلبول‌های سفید اختلاف معنی‌داری وجود داشت که عوامل مختلف مانند مواجه شدن با عوامل عفونی، آلرژی و تغییرات فصول باعث به وجود آوردن این تغییرات می‌شوند (Schalm and Jain, 1975). همچنین Bayane و Gerwick (۲۰۰۱) در مطالعه روی گربه ماهی *Capoeta damascina* بیشترین درصد لنفوسیت را در فصل زمستان گزارش کردند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تعداد منوسیت‌ها و تراکم آن‌ها در فصل سرد کمتر از فصل گرم است که بر اساس گزارش محققین افزایش تعداد منوسیت‌ها

روند پیشرفت یا بهبود اختلالات، مفید می‌باشند. Hernandez و Tort (۲۰۰۳) تغییرات سالیانه لیزوزیم و کمپلمان پلازما را در ماهی شانک (*Sparusa urata*) بررسی نمودند. نتایج نشان داد که لیزوزیم و کمپلمان در زمستان حداقل مقدار را دارند ولی با افزایش دما، افزایش یافته و بیشترین مقدار این فاکتورها در تابستان و پاییز هستند. جزء سوم سیستم کمپلمان C3، مرکزی مهم برای فعال شدن تمام مسیرهای سیستم کمپلمان است که تحریک تولید آن سبب فعال شدن راه اندازی دیگر مسیرهای این سیستم می‌شود (Lambris, 1993). به نظر می‌رسد افزایش بارز مقدار C3 در تحقیق حاضر نشان‌دهنده‌ی فعال شدن تولید این جزء در مواجهه با بالا رفتن دمای محیط در فصل تابستان و در نتیجه فعال شدن تولید دیگر اجزاء این سیستم از جمله C4 است. جزء C3 متعلق به پروتئین‌های فاز حاد سلولی بوده که شرایط نامساعد محیطی منجر به فعال شدن این فاز می‌گردند و بدین وسیله تحریک رونویسی این جزء به وسیله‌ی سیتوکین‌های پیش التهابی صورت می‌گیرد، بنابراین جزء C3 اولین جزء از سیستم کمپلمان است که فعال شده و شروع به افزایش می‌یابد (Bayane and Gerwick, 2001). همچنین کاهش میزان کمپلمان C3 و C4 در فصل سرد می‌تواند ناشی از کاهش درصد سلول‌های تولیدکننده آن نظیر مونوسیت‌ها و به ویژه ماکروفاژها در این فصل باشد (Seemab and Mukhtar, 2014).

#### ۴. نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعه حاضر مشخص گردید که ساختار سیستم ایمنی در تاسماهی ایرانی شامل اندام‌ها و سلول‌های متفاوت بوده که در مقایسه با سایر گونه‌ها دارای تشابهات و اختلافاتی می‌باشد. همچنین این سیستم متأثر از تغییرات دما به ویژه در فصول سرد و گرم بوده که با اندازه‌گیری فاکتورهای مختلف در بدن موجود قابل اندازه‌گیری می‌باشد.

#### ۵. سپاسگزاری

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه تحصیلات تکمیلی می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان از همکاری و مساعدت محققین انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت و تمامی

در فصل گرم نسبت به فصل سرد را به دلیل نقش ماکروفاژی و بیگانه‌خواری آن جهت بالا بردن مقاومت ایمنولوژیک در برابر عوامل محیطی ذکر کردند. همچنین مشخص گردید که همانند مطالعه اخیر منوسیت‌ها از نظر شکل بزرگ‌ترین عناصر خونی هستند. Stoskopf (1993a) گزارش نمود که در پاسخ به تنش عفونت‌های باکتریایی و تغییرات دما میزان منوسیت‌ها نیز تغییر می‌کند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میانگین تعداد نوتروفیل‌ها و تراکم آن‌ها در فصل سرد و گرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد که نشان‌گر عدم تأثیر تغییرات دما نسبت به تعداد نوتروفیل‌ها باشد. این یافته با مطالعه سایر محققین روی گونه‌های متعدد در فصول مختلف سال هم‌خوانی دارد (Bayane and Gerwick, 2001). همچنین کاهش میزان لیزوزیم در فصل سرد می‌تواند ناشی از کاهش درصد سلول‌های تولیدکننده آن نظیر مونوسیت‌ها و ماکروفاژها در این فصل باشد (Aramli et al., 2014). در مطالعه‌ای که توسط Swain و همکاران (۲۰۰۷) به منظور بررسی میزان پارامترهای ایمنی غیراختصاصی در فصول مختلف سال بر کپور بزرگ هندی (*Labeo rohita*) صورت گرفت بیان کردند میزان سطح لیزوزیم در این ماهی در فصل زمستان در مقایسه با دیگر فصل‌ها در پایین‌ترین حد خود قرار دارد. همچنین Nikoskelainen و همکاران (۲۰۰۴) با مطالعه روی قزل‌آلای رنگین کمان نیز خبر از کاهش فعالیت سطح سیستم ایمنی با کاهش دما دادند. عوامل متعددی از جمله فصل، مراحل رسیدگی جنسی، جنس، دمای محیط و تنش بر میزان لیزوزیم ماهی موثر است. به طور کلی همبستگی مثبت بین فعالیت لیزوزیم و دمای آب در بسیاری از گونه‌ها همچون ماهی آزاد دریایی (*Salmo trutta*) گزارش شده است (Ellis, 1990). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که غلظت کمپلمان‌های C3 و C4 در فصل زمستان و ماه‌های سرد سال به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابند. پایین بودن سطح کمپلمان‌های C3 و C4 در سرم در فصل زمستان و آغاز فصل سرما به نظر می‌رسد به دلیل کاهش میزان فعالیت بدن و همچنین کاهش عوامل پاتوژن و بیماری‌زا در محیط سرد آب باشد (Seemab and Mukhtar, 2014). سیستم کمپلمان از اجزاء مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی هستند که باعث افزایش فعالیت فاگوسیتوزی علیه باکتری‌ها یا سایر سلول‌های بیگانه می‌شوند. بررسی تغییرات غلظت این اجزاء در سرم خون برای تعیین

- Huggenberger, S.; Ridgway, S.H.; Oelschlager, H.A.; Kirschenbauer, I.; Vogl, T.J.; Lima, M., 2006. Histological analysis of the nasal roof Cartilage in neonate Sperm Whale (*Physeter macrocephalus*-Mammalia.Odontoceti). *Zoologischer Anzeiger*, 244: 229-238.
- Khoshkholgh, M.R.; Nazari, S.B.; Pourkazemi, M.C., 2013. Population structure of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) in the southern part of Caspian Sea. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*, 9(1): 29-39.
- Lambris, D., 1993. Expression of EBV/C3d receptors on T cells: biological significance. *Immunology Today*, 37-39.
- Nasr, E.; Pourkazemi, M.; Hovhannisyan, H.M., 2015. *Acipenser persicus* Growth Hormone gene Sequencing and its structures. *Journal of Cell And Molecular Research*, 7(1): 47-52.
- Nikoskelainen, S.; Goran, B.; Lilius, E., 2004. Effect of environmental temperature on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) innate immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, 28(6): 581-92.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C., 1975. *Veterinary Hematology*, 3rd ed. Philadelphia, 487-489P.
- Seemab, Z.; Mukhtar, A., 2014. Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Catla catla* (Hamilton) estimated by growth, protein retention efficiency, threonine deposition, haematological parameters and carcass composition. *Aquaculture Research*, 47(1): 253-265.
- Stoskopf, M.K., 1993. *Fish Medicine*. Saunders Company, 882P.
- Swain, P.; Behura, A.; Dash, S.; Nayak, S.K., 2007. Serum antibody response of Indian major carp, *Labeo rohita* to three species of pathogenic bacteria; *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* and
- عزیزانی که در این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.
- منابع**
- Alyakrinskyay, I.O.; Dolgova S.N., 1984. Hematological feature of young sturgeon. *Voprosy Ichtiologiy*, 4: 135-139.
- Aramli, M.; Kalbassi M.; Nazari, R., 2014. Selected biochemical parameters in plasma of blood and semen of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Comparative Clinical Pathology*, 23(5): 1241-1245.
- Arslan, O.; Boyacioglu, M.; Parlak, H., 2015. Assessment of micronuclei induction in peripheral blood and gill cells of some fish species from Aliaga Bay Turkey. *Marine Pollutant Bulltine*, 94 (1-2): 48-54.
- Bayane, C.J.; Gerwick, L., 2001. The acute phase response and innate immunity of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25: 725-743.
- Bly, J.E.; Clem, L.W., 1992. Temperature and teleost immune functions. *Fish & Shellfish Immunology*, 2: 159-171.
- Coteur, G.; Corriere, N.; Dubois, P.h., 2004. Environmental factors influencing the immune responses of the common european starfish (*Asterios rubens*). *Fish and Sellfish immunology*, 16: 51-55.
- Dixon, B.; Stet, R.J., 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8-9): 683-699.
- Ellis, A.E.; Stolen, J.S.; Fletcher, D.P.; Anderson, B.S.; Van, W.B., 1990. *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publication, USA, 101-103PP.
- Hernandez, A.; Tort, L., 2003. Annual variation of complement, lysozyme and haemagglutinin levels in serum of the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Fish & Shellfish Immunology*, 15: 479-481.

and valve morphogenesis. *Microvascular Research*, 11:  
16-21.

*Pseudomonas fluorescens*. *Veterinary Immunology and  
Immunopathology*, 117(1-2):137-41.

Vittet, D., 2014. Lymphatic collecting vessel maturation