

## تأثیر رنگ نور و دوره نوری بر پارامترهای هماتولوژیک مولدین ماده استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

فاطمه نادری<sup>۱\*</sup>، علی بانی<sup>۲</sup>، محمدعلی یزدانی<sup>۳</sup>، رضوان الله کاظمی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت

۳- عضو هیأت علمی و کارشناس مؤسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر رنگ نور و دوره ی نوری بر پارامتر های خونی در ماهی مولد ماده استرلیاد انجام گرفت. در مجموع تعداد ۳۶ عدد ماهی به مدت ۶ ماه تحت تاثیر چهار تیمار، دو رنگ نور (آبی و قرمز) و دو دوره ی نوری (18L:6D) و (6L:18D) با شدت ۱۵۰ لوکس؛ در ۳ تکرار قرار گرفتند. عامل های خونی شامل تعداد گلبول قرمز (RBC)، تعداد گلبولسفید (WBC)، غلظت هموگلوبین (Hb)، درصد هماتوکریت (Hct)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، مقدار وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) طی سه مرحله تولید مثلی (پیش زرده سازی Previtellogenesis در ابتدای دوره، زرده سازی Vitellogenesis در اواسط دوره و رسیدگی نهایی Final maturation در انتهای دوره) اندازه گیری شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در هیچ یک از تیمار ها در بین عامل های مختلف هماتولوژیک اختلاف معنی دار مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). با این وجود میزان Hb، Hct، MCH، MCV، MCHC در اواسط دوره ی تولید مثلی (آذر ماه) بالاتر از اوایل و اواخر دوره تولید مثلی بود ( $P < 0.05$ ). میزان RBC در سه مرحله تفاوت معناداری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). نتایج حاکی از آن بود که تاثیر مرحله تولید مثلی بر تاثیر نور بر پارامتر های هماتولوژیک غالب است.

**کلمات کلیدی:** رنگ نور، دوره نوری، استرلیاد، هماتولوژی، مرحله تولید مثلی

**مقدمه:**

استرلیاد *Acipenser ruthenus* گونه ای است که امکان تولید دورگه با سایر ماهیان خاوباری به ویژه فیلماهی را دارد، همچنین از نظر پرورش گوشتی نیز نتایج بسیار مطلوبی به دست آمده است. به این دلیل استرلیاد از این نظر حائز اهمیت شیلاتی زیادی است، این اهمیت شیلاتی باعث افزایش انتقال این ماهی از زیستگاه اصلی خود (رودخانه‌های عرض بالاتر) به عرض‌های جغرافیایی مختلف با دوره‌های نوری مختلف شده است.

تغییر عامل‌های محیطی همانند دما، دوره ی نوری، اکسیژن محلول و یا وجود هر گونه آلودگی در محیط می‌تواند بر عامل‌های خونی تاثیرگذار باشد (Person-Le Ruyet et al., 2004; Orrego et al., 2005). ریتم‌های زیست‌شناختی در ماهیان معمولاً به برخی از نوسانگرهای نوری، دمایی و یا فاز ماه همزمان میشوند (Bolliet et al., 2004). Rouff and Rensing, 2004). (2001 اثر دوره‌های نوری بر پارامترهای خونی ممکن است از راه پارامترهایی چون توسعه گنادی نمود داشته باشد (Valenzuela et al., 2006a; 2006b). پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی به نور با توجه به گونه، شدت و رنگ نور و دوره‌ی نوری مورد استفاده؛ متفاوت است. پژوهشگرانی همچون (Bani et al., 2011)؛ Banan et al., (2010) و (Bani et al., 2009) و Srivastava et al., (2010) تاثیر رژیم‌های نوری بر پارامترهای خونی بررسی کردند، اما با وجود آن اطلاعات اثر رژیم‌های نوری بر پارامترهای فیزیولوژیک و ساز و کارهای نحوه ی اثر آن کم و مبهم است (Valenzuela et al., 2007).

یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و فیزیولوژی ماهیان سنجش پارامترهای خون آنهاست که از تغذیه، عوامل محیطی و سن اثر می‌پذیرد. (Fanouraki et al., 2007). در نتیجه کاهش اریتروسیت‌ها سوخت و ساز تمامی بافت‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد و به دنبال کاهش سوخت و ساز روند رشد با اختلال مواجه می‌شود. گلبول قرمز خون یکی دیگر از عامل‌های فیزیولوژیک خون و از شاخص‌های استرس است که به عنوان یک شاخص مهم و رایج در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Houston & Rupert, 1997). میزان هموگلوبین نیز بیانگر عملکرد نقل و انتقال اکسیژن در جاندار است و جاندار همواره سعی دارد که تاحد امکان آن را در حد متعادل نگهدارد. شاخص‌های خونی همچون تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، درصد همتوکریت و مقدار گلوکز می‌توانند پاسخ‌های ثانویه جاندار به محرک‌های بیرونی باشند (Vosyliene, 1996). تغییر فصل با تغییر بسیاری از عامل‌های محیطی از جمله تغییر دوره نوری همراه است، نور به عنوان یک عامل‌بوم‌شناختی از نظر رنگ، شدت و دوره‌ی

نوری روی زندگی آبزبان اثرگذار است. علاوه بر تغییر خاستگاه ماهیان، امروزه تغییر دوره‌های نوری برای تغییر در بسیاری از فرآیندها نظیر سنتز هورمون‌ها و مراحل رسیدگی جنسی صورت می‌گیرد (Valenzuela et al., 2006a). از آنجایی که ماهی موجودی خونسرد است، بنابراین تغییر عامل‌های خونی به همراه تغییر عامل‌های محیطی امری غیر قابل انکار است، بنابراین این پژوهش برای بررسی تاثیر همزمان دو رنگ قرمز و آبی و دوره‌های نوری روز بلند و روز کوتاه بر پارامترهای خونی در ماهیان مولد استرلیاد در طی دوره رسیدگی جنسی است.

### مواد و روش‌ها

مولدین استرلیاد به مدت ۶ ماه تحت تاثیر تیمار نورهای رنگی دربخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان در رشت پرورش داده شدند. در این طرح از ۱۲ عدد وان ۵۰۰ لیتری (قطر ۱۱۰ سانتی متر، ارتفاع آب ۴۲ سانتیمتر) با جریان مداوم آب استفاده شد. برای جلوگیری از تاثیر نور طبیعی تمام وان با نایلون‌های مشکی دو لایه کاملاً پوشیده شد. ماهیان تحت تاثیر ۴ تیمار نوری [قرمز روز بلند (18L:6D)، قرمز روز کوتاه (6L:18D)، آبی روز بلند (18L:6D)، آبی روز کوتاه (6L:18D)] با ۳ تکرار قرار گرفتند. زمان‌های ۲۴ ساعته نور به گونه‌ای تنظیم شدند که شروع روشنایی ۶ صبح باشد. شدت نور با استفاده از دستگاه لوکس متر (TES – 1366A، تایوان) ۱۵۰ لوکس تنظیم شد. رنگ نور با استفاده از لامپ‌های کم مصرف (۴۰ وات، شرکت آوا) با طول موج‌های یکسان ایجاد شد. ۳۶ مولد با وزن اولیه  $21/8 \pm 538/8$  بعد از پلاک زدن به صورت تصادفی در ۱۲ تانک توزیع شدند. ماهیان دو هفته قبل از شروع آزمایش در تانک‌ها برای سازگاری نگه‌داری شدند. برای تعیین مرحله‌ی رسیدگی جنسی از شاخص قطبیت هسته (GV) استفاده شد. برای تعیین میزان شاخص قطبیت هسته (GV) از ماهیان در سه مرحله (مهر، آذر، اسفند ماه) با سوند کوچک نمونه تخمک گرفته شد و در فرمالین ۴ ثابت شد، سپس با آب شستشو داده شدند و برای سفت شدن به مدت ۲ دقیقه در آب مقطر درون بوته چینی روی هیتر جوشانیده شدند. تخمک‌ها از قسمت راسی با تیغ برش داده شد و بلافاصله با لوپر مشاهده شدند. مرحله رسیدگی جنسی با توجه به مکان هسته مشخص شد (Ronyai, 2009). خون‌گیری از ماهیان در سه مرحله تولیدمثلی (مهر ماه: پیش زرده سازی Previtellogenesis، آذر ماه: زرده سازی Vitellogenesis، اسفند ماه: رسیدگی نهایی Final maturation) بدون بیهوشی صورت گرفت. خون‌گیری به وسیله‌ی سرنگ دو سی‌سی هپارینه و از سیاهرگ دمی صورت گرفت. نمونه خون‌ها بلافاصله به درون تیوپ‌ها ریخته

شدند و برای اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی به آزمایشگاه خون شناسی بخش فیزیولوژی و زیست شیمی انستیتو انتقال یافت. ماهیان ۲۴ ساعت قبل و بعد از خونگیری غذا دهی نشدند. ماهیان در طی دوره ۱ الی ۲ وزن بدن در دو وعده ۸:۳۰ صبح و ۷ شب به صورت دستی با پلت تجاری خشک (ALLER AGUA, Denmark) غذا دهی شدند. هر ۱۵ روز یک بار میزان اکسیژنبا دستگاه اکسیژن متر ( Oxi 330i/set، آلمان)؛ pH با دستگاه pH متر ( pH 330i/set ) ، آلمان) و دمای آب وان ها به صورت روزانه اندازه گیری شد. حدود نوسان دما، اکسیژن و pH در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱: مقدار متوسط دما، اکسیژن و pH ثبت شده در دوره آزمایش

دما	اکسیژن	pH	
۱۷±۰/۲۵	۶/۵±۰/۱۵	۷/۴±۰/۱	مهر
۱۱±۰/۱۵	۶/۵±۰/۰۵	۷/۷±۰/۱۰	آبان
۸/۶±۰/۴۲	۹±۰/۱۳	۷/۵±۰/۲۵	آذر
۹/۹±۰/۱۷	۱۰/۵±۰/۰۷	۷/۸±۰/۰۷	دی
۷/۶±۰/۲۵	۹/۲۴±۰/۲۴	۷/۷±۰/۲	بهمن
۸/۴±۰/۲	۱۰±۰/۱	۷/۵±۰/۰۱	اسفند

برای اندازه‌گیری هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت (Rehulka, 2000) به مدت ۵ دقیقه با دور (RPM) ۷۵۰۰ استفاده شد.

هموگلوبین با واحد g/dl و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY-6505 UV/Vis) و کیت (Ziestchem Diagnostic، ایران) اندازه‌گیری شد. هموگلوبین با فرمول [ جذب تست × ضریب ثابت = هموگلوبین ] محاسبه شد (Blaxhall and Daisley, 1973). برای شمارش گلبول‌های قرمز و شمارش گلبول‌های سفید از پیت ملاژور و محلول رنگ آمیزی (ریس) برای رقیق‌سازی استفاده شد. تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد (Dorafshane et al., 2007; Blaxhall and Daisley, 1973). برای محاسبه اندیس‌های خونی شامل MCH, MCV, MCHC از روابط زیر استفاده شد (Klinger et al., 1996).

\* میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV) Mean Corpuscular Volume

$MCV(fl) = (\% ) \times 10 \times \text{تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون در } mm^3 / \text{مقدار هماتوکریت}$

(رابطه- ۱)

**مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)**

$MCH(\text{pg}) = \text{g/dl} / \text{مقدار همو گلوبین بر حسب } \text{mm}^3 \times 10$

(رابطه-۲)

**مقدار غلظت وزنی متوسط هموگلوبین گلبول (MCHC)**

$MCHC(\%) = \text{مقدار هماتوکریت } \text{g/dl} / 100 \times \text{مقدار همو گلوبین بر حسب } (\%)$

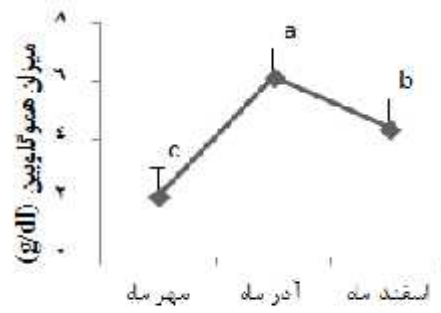
(رابطه-۳)

**تحلیل داده های آماری**

ابتدا وضعیت داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov برای نرمال بودن و آزمون Levens برای همگنی واریانس ها بررسی شد. سپس به منظور بررسی اثر عامل های مستقل بر عامل های وابسته از تحلیل واریانس سه طرفه (Three-nested ANOVA) بررسی شد. اثر متقابل (interaction) تیمارهای نوری و مرحله ی تولید مثلی به عنوان دو عامل مستقل در کنار اثر احتمالی تانک (عامل آشیان داده شده) به عنوان عامل سوم بر پارامتر های هماتولوژیک بررسی شد. کلیه ی این آزمونها با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 16) در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت و برای ترسیم شکلها از نرم افزار Excel استفاده شد. داده های درون متن به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار (mean  $\pm$  S.E) بیان شده اند.

**نتایج:**

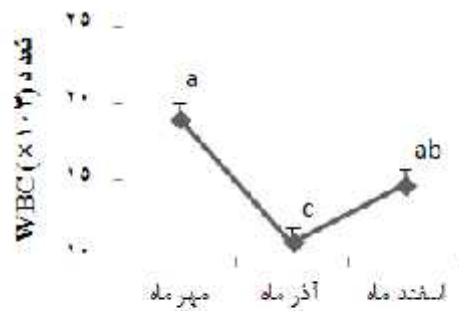
تغییرات هماتوکریتهموگلوبیندر استرلیاد تابعیاز اثرمتقابل تیمار - مرحله تولید مثلی نبود (F=1.10, df=3, 108 (P>0.05); (F=0.31, df=6, 108, P>0.05) اما این تغییرات در سه مرحله تولید مثلی اختلاف معنا داری داشت (F=294.78, df= 2, 108, P<0.05); (F=53.7, df=2, 108, P<0.05) که بیشترین میزان در آذرماه بود (شکل ۱-الف، ب). تعداد گلبول های قرمز در بین سه مرحله تفاوت معناداری نشان نداد (F=3.05, P>0.05), اما دارای روند افزایشی بود که بیشترین مقدار آن در مرحله ی سوم (اسفند ماه) مشاهده شد. (شکل ۱-ج). تیمار (F=0.654, df=3, 78, P>0.05) و اثر متقابل تیمار با مرحله ی تولیدمثلی (F=0.592, df=3, 78, P>0.05) اثر معنا داری بر تعداد گلبول های سفید نداشت. تعداد گلبول سفید در سه مرحله تولید مثلی متفاوت بود (F=6.93, df=2, 78, P<0.05). کمترین میزان گلبول سفید بر خلاف هماتوکریت و هموگلوبین در مرحله دوم (آذر ماه) مشاهده شد، این در حالی بود که میزان آن در دو مرحله ی دیگر بالاتر بود (شکل ۱-چ) (جدول ۲).



ب



ج



ماههای نمونه برداری

د

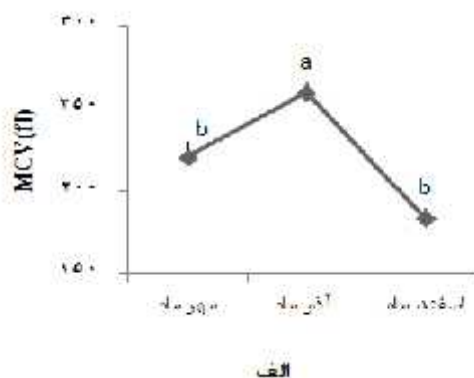
شکل ۱: الف-درصد هماتوکریت (%), ب-غلظت هموگلوبین (g/dl), ج-تعداد  $WBC \times 10^3$  در میلی متر مکعب خون, د-تعداد در میلی متر مکعب خون  $RBC \times 10^5$  در میلی متر مکعب خون در ماههای مختلف نمونه برداری

جدول ۲: درصد هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb)، تعداد گلبول قرمز (RBC)، تعداد گلبول سفید (WBC)، میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، غلظت وزنی متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) تیمارها در مراحل مختلف تولید مثلی

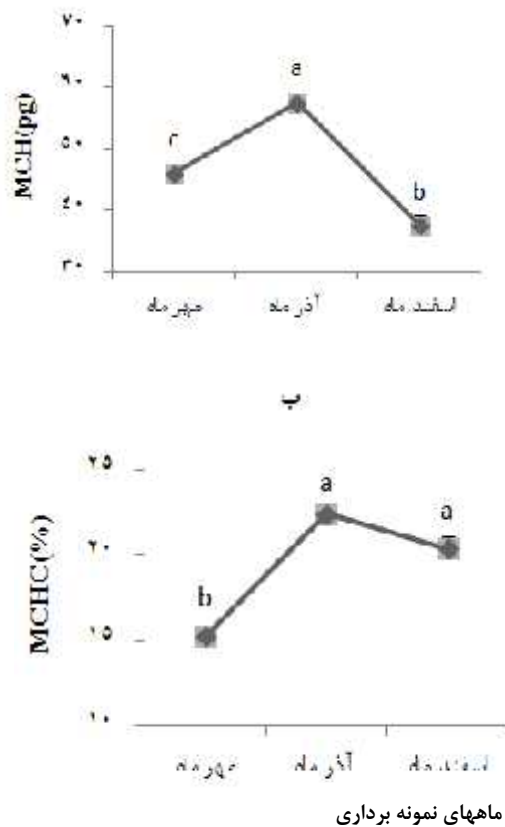
P value مرحله تولیدمثلی	P value تیمارهای نوری	مرحله تولیدمثلی			
		Final maturation	Vitellogenesis	Pre vitellogenesis	
P<0.05	P>0.05	۲۳±۰.۷۸ <sup>b</sup>	۲۷/۳۳±۰.۳۳ <sup>a</sup>	۲۱/۶۶±۰.۶۳ <sup>b</sup>	قرمز- کوتاه
		۲۱/۴۴±۰.۵۲ <sup>b</sup>	۲۷/۴۴±۰.۹۰ <sup>a</sup>	۲۰/۴۴±۰.۶۳ <sup>b</sup>	قرمز- بلند
		۲۲/۳۳±۰.۷۰ <sup>b</sup>	۲۷/۷۶±۰.۹۲ <sup>a</sup>	۲۰/۱۱±۰.۵۶ <sup>b</sup>	آبی- کوتاه
		۲۱±۰.۸۴ <sup>b</sup>	۲۲/۱۱±۰.۴۶ <sup>a</sup>	۲۳/۳۳±۰.۸۸ <sup>b</sup>	آبی- بلند
P<0.05	P>0.05	۴/۵۹±۰.۳۱ <sup>b</sup>	۶/۱۶±۰.۲۳ <sup>a</sup>	۲/۲۵±۰.۸۱ <sup>c</sup>	قرمز- کوتاه
		۳/۹۹±۰.۲۰ <sup>b</sup>	۵/۸۳±۰.۳۳ <sup>a</sup>	۱/۷۶±۰.۱۹ <sup>c</sup>	قرمز- بلند
		۴/۶۲±۰.۲۳ <sup>b</sup>	۶/۱۷±۰.۲۲ <sup>a</sup>	۲/۰.۵±۰.۱۸ <sup>c</sup>	آبی- کوتاه
		۴/۴۵±۰.۲۷ <sup>b</sup>	۶/۵۰±۰.۲۰ <sup>a</sup>	۲/۳۲±۰.۱۱ <sup>c</sup>	آبی- بلند
P>0.05	P>0.05	۱۱۴۷۷۷۸±۵۱۳۹۱/۱۴	۱۱۵۰۰۰±۷۴۹۰۷/۷۹	۹۸۰۰۸۹±۳۹۰۲۲/۷۹	قرمز- کوتاه
		۱۲۶۱۱۱۱±۱۲۳۲۸۲	۱۰۳۲۲۲۲±۸۰۲۷۳/۴۵	۹۹۸۳۳۳۳±۲۷۰۷۲/۴۵	قرمز- بلند
		۱۲۲۸۸۸۹±۱۳۴۸۷۰/۸	۱۱۲۸۸۸۹±۷۹۴۶۷/۷۵	۹۶۸۳۰۳۳±۳۹۰۲۲/۱۹	آبی- کوتاه
		۱۲۹۴۴۴۴±۱۰۵۰۱۴/۷	۱۰۸۰۰۰±۳۹۷۵۶/۲	۹۸۸۳۳۳۳±۳۸۰۷۲/۷۹	آبی- بلند
P<0.05	P>0.05	۱۴۵۵۵/۵۶±۱۹۳۷/۲۸ <sup>ab</sup>	۱۰۶۶۶/۶۶±۳۴۳۵/۱۱ <sup>c</sup>	۱۶۰۰±۲۴۳۷/۱۴ <sup>a</sup>	قرمز- کوتاه
		۱۳۳۳۳/۳۳±۱۷۰۷/۸۲ <sup>ab</sup>	۹۷۷۷/۷۶±۸۵۸/۴۱ <sup>c</sup>	۱۴۰۰±۳۴۳۵/۱۱ <sup>a</sup>	قرمز- بلند
		۱۳۸۳۳/۳۳±۱۹۰۳/۹۴ <sup>ab</sup>	۱۲۶۱۱/۱۱±۲۳۵۹/۶۴ <sup>c</sup>	۱۶۰۰±۳۳۳۵/۱۷ <sup>a</sup>	آبی- کوتاه
		۱۷۱۶۶/۶۶±۱۹۷۹/۰۵ <sup>ab</sup>	۱۱۰۰±۱۴۴۸/۱۷ <sup>c</sup>	۱۴۵۰±۳۸۳۵/۱۲ <sup>a</sup>	آبی- بلند
P<0.05	P>0.05	۱۹۴/۷۷±۱۰/۸۴ <sup>b</sup>	۲۵۴/۸۳±۱۴/۰۱ <sup>a</sup>	۲۲۴/۴۸±۱۱/۰۱ <sup>b</sup>	قرمز- کوتاه
		۱۷۸۵۲±۱۱/۳۱ <sup>b</sup>	۲۷۰/۴۹±۱۵/۳ <sup>a</sup>	۲۱۷/۳۹±۱۰/۱۱ <sup>b</sup>	قرمز- بلند
		۱۹۴/۳۷±۱۵/۲۹ <sup>b</sup>	۲۵۲/۶۶±۱۳/۷۷ <sup>a</sup>	۲۳۴/۳±۹/۰۷ <sup>b</sup>	آبی- کوتاه
		۱۶۸۳۵±۱۱/۵۰ <sup>b</sup>	۲۷۲/۱۵±۱۶/۵۱ <sup>a</sup>	۲۲۱/۱۱±۱۰/۳ <sup>b</sup>	آبی- بلند
P<0.05	P>0.05	۳۳/۱۴±۲/۱۷ <sup>b</sup>	۵۵/۱۹±۳/۵۶ <sup>a</sup>	۴۰/۰۳±۲/۰۱ <sup>c</sup>	قرمز- کوتاه
		۳۲/۹۹±۲/۱۵ <sup>b</sup>	۵۸/۲۲±۴/۲۶ <sup>a</sup>	۲۳/۲۳±۱/۰۴ <sup>c</sup>	قرمز- بلند
		۳۳/۹۲±۴/۶۷ <sup>b</sup>	۵۵/۹۱±۲/۳۶ <sup>a</sup>	۴۳/۰۸±۳/۴۱ <sup>c</sup>	آبی- کوتاه
		۳۵/۷۶±۳/۱۴ <sup>b</sup>	۶۱/۰۲±۳/۲۳ <sup>a</sup>	۳۹/۳±۱/۱۱ <sup>c</sup>	آبی- بلند
P<0.05	P<0.05	۲۱/۳۶±۰/۹۹ <sup>a</sup>	۲۲/۷۲±۰/۷۵ <sup>a</sup>	۱۴/۷۲±۱/۴۹ <sup>b</sup>	قرمز- کوتاه
		۱۹/۰۹±۰/۶۹ <sup>a</sup>	۲۱/۸۴±۰/۹۶ <sup>a</sup>	۱۳/۹۸±۱/۰۱ <sup>b</sup>	قرمز- بلند
		۲۲/۳۲±۰/۸۵ <sup>a</sup>	۲۲/۸۴±۰/۸۱ <sup>a</sup>	۱۳/۴۹±۱/۱۸ <sup>b</sup>	آبی- کوتاه
		۱۹/۲۶±۰/۹۴ <sup>a</sup>	۲۲/۵۲±۰/۸۴ <sup>a</sup>	۱۵/۰۳±۱/۸۱ <sup>b</sup>	آبی- بلند

میانگین حجم گلبول قرمز تحت تاثیر تیمار ( $F=0.05$ ,  $df=3,78$ ,  $P>0.05$ ) و اثر متقابل تیمار- مرحله تولیدمثلی ( $F=1.69$ ,  $df=3,78$ ,  $P>0.05$ ) قرار نگرفت اما مرحله ی تولید مثلی بر میانگین حجم گلبول قرمز اثر معناداری نشان داد ( $F=30.04$ ,  $df=2,78$ ,  $P<0.05$ ) (شکل ۲- الف). شرایط نوری متفاوت ( $F=0.338$ ,  $df=3,78$ ,  $P>0.05$ ) و ترکیب شرایط نوری - مرحله تولیدمثلی ( $F=1.68$ ,  $df=3,78$ ,  $P>0.05$ ) تاثیر چندانی بر مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز نداشت اما مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز تحت تاثیر مرحله تولید مثلی ( $F=50.14$ ,  $df=2,78$ ,  $P<0.05$ ) قرار داشت (شکل ۲- ب). در حالیکه اختلاف معناداری در غلظت وزنی متوسط هموگلوبین گلبول قرمز در بین تیمارهای نوری ( $F=1.13$ ,  $df=3,77$ ,  $P>0.05$ ) مشاهده نشد، اثر متقابل تیمار- مرحله تولید مثلی ( $F=0.271$ ,  $df=3,77$ ,  $P<0.05$ ) و اثر مرحله ی تولید مثلی ( $F=23.79$ ,  $df=2,77$ ,  $P<0.05$ ) بر غلظت وزنی متوسط هموگلوبین گلبول قرمز معنادار بود (شکل ۲- ج).

روند تغییرات میانگین حجم گلبول قرمز، غلظت وزنی هموگلوبین گلبول قرمز و مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز از مهر تا اسفند ابتدا افزایشی و سپس کاهشی بود که میزان آنها در مرحله دوم تولیدمثلی (آذر ماه) نسبت به دو مرحله دیگر بالاتر بود.







شکل ۲: الف- میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، ب- مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، ج- غلظت وزنی متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در ماههای مختلف نمونه برداری

### بحث و نتیجه گیری:

بر اساس نتایج به دست آمده رنگ نور و دوره نوری اثر معناداری بر میزان هماتوکریت و هموگلوبین نداشت که میتوان این عدم تاثیر را به فرآیندهای داخلی ماهی و نوعی ساز و کار دفاعی برای کنترل برخی پارامترهای خونی در دوره ی تولید مثلی ارتباط داد. بر اساس نتایج (Bani et al.,, (2009 که تاثیر رژیم های نوری (24L:00D), (00L:24D), (18L:06D), (12L:12D) در فیل ماهی جوان (*Huso huso*) را بررسی کردند، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در دوره های نوری مختلف تفاوت معناداری نداشت. همچنین با

نتایج مطالعات (Banan et al., 2011) بر فیل ماهی و (Valenzuela et al., 2007) بر روی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و (Biswas et al., 2004) بر تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و (Valenzuela et al., 2007) داشت. تاثیر رنگ نور و یا دوره نوری هر کدام به صورت جداگانه بر درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین می تواند با اثر توأم این دو فاکتور متفاوت باشد.

با توجه به شکل زیر (شکل ۳) با شروع فصل سرما و کاهش دما میزان تحرک و به تبع آن کاهش میزان تغذیه در ماهیان دیده شد بنابراین می توان بیان کرد که تغییرات دما به همراه سایر تغییراتی که به همراه نوسان دما ایجاد می شوند بر پارامترهای خونی اثر گذار باشد.



شکل ۳: میزان دمای ثبت شده در ماههای مختلف نمونه برداری

وقتی دمای آب کم باشد میزان اکسیژن محلول در مقایسه با آب گرم بیشتر است بنابراین گلبول های قرمز کمتری برای انتقال اکسیژن به بدن نیاز است و بدیهی است که در آب سرد میزان نیاز اکسیژنی بدن نیز کاهش می یابد (Stolen et al., 1984) و این میتواند دلیلی برای کاهش میزان هماتوکریت و هموگلوبین در فصل سرد (مرحله سوم) سال باشد، علاوه بر این در فصل سرد میزان متابولیسم و به تبع آن میزان نیاز اکسیژنی نیز کاهش پیدا می کند که کاهش میزان هماتوکریت و هموگلوبین در فصل سرد در مطالعات دیگر روی گونه هایی مانند *Sparus aurata* (Tort et al., 1998) و *Oncorhynchus mykiss* (Morgan et al., 2008) و *Dicentrarchus labrax* (Pascoli et al., 2011) دیده شد. افزایش میزان هماتوکریت و هموگلوبین از مرحله اول (مهر ماه) به دوم (آذر ماه) می تواند به علت فصل تولیدمثلی گونه و افزایش اکسیژن رسانی به گنادها باشد.

تعداد گلبول های قرمز یک شاخص پایدار و قابل اعتماد از عامل های فیزیولوژیک است و بدن ماهی سعی می کند با ساز و کارهای مختلف فیزیولوژیکی همواره مقدار آن را در حد استاندارد و متعادل نگه دارد. در کفال راه راه (*Mugil cephalus*) تغییر تعداد گلبول های قرمز و هموگلوبین، نه تنها با تغییرات فصلی دما، بلکه همچنین با فعالیت تخم ریزی و نیاز به انرژی در این پدیده نیز مربوط بود. افزایش تعداد گلبول های قرمز در خلال تخم ریزی در مورد ماهیان زیادی مانند کپور *Cyprinus carpio* گزارش شده است (Ezzat et al., 1973). نتایج این بررسی با نتایج Leonardi et al., (2003) که نور متوالی اثر معنا داری بر تعداد گلبول های قرمز ندارد و همچنین باننایچ (Valenzuela et al., 2007) و مطالعات (Bani et al., 2009)، (Banan et al., 2011) مطابقت داشت. افزایش تعداد گلبول های قرمز با شروع توسعه گنادی و افزایش میزان خون رسانی به گناد ها می تواند توجیهی بر روند افزایشی گلبول های قرمز در این گونه هم باشد (Valenzuela et al., 2007). دوره های نوری با تاثیر بر مغز استخوان قرآیند تولید گلبول های قرمز را افزایش می دهند (Bani et al., 2009). اما با توجه به عدم تطابق روند گلبول قرمز با میزان هموگلوبین می توان نتیجه گرفت که دوره های نوری باعث افزایش گلبول های قرمز نابالغ شده اند. در شروع مرحله ی رسیدگی جنسی و توسعه ی گنادی گلبول های سفید به دلیل اختصاص انرژی بیشتر به اندام های جنسی و کاهش انرژی صرف شده برای سامانه ی ایمنی بدن، کاهش پیدا می کند (Valenzuela et al., 2007)، که کاهش دما و تغییر فصل در این روند بی تاثیر نیست (Pickering, 1986). براساس مطالعات انجام شده توسط Pascoli et al., (2011) بر باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) بیشترین میزان گلبول های سفید در ماه های پاییز نسبت به زمستان بیشتر است و کمترین میزان مربوط به ماه های زمستان (مارچ و دسامبر) بود که این کاهش و تغییر سامانه ی ایمنی ممکن است به علت تغییر در طول دوره ی نور از پاییز به زمستان باشد (Collazos et al., 1998). که با نتایج (Banan et al., 2011)، (Bani et al., 2009) و مطالعه (Srivastava et al., 2010) روی گربه ماهی هندی مشابهت داشت. تغییرات MCV, MCH, MCHC بر اساس رابطه های (۱،۲،۳) و محل قرار گرفتن هموگلوبین و هماتوکریت در رابطه ها افزایش و یا کاهش آنها میتواند اثر مستقیم یا معکوس بر میزان MCV, MCH, MCHC داشته باشد. عدم تاثیر تیمار های نوری بر میزان MCV, MCH, MCHC با نتایج مطالعات (Banan et al., 2011)، (Srivastava et al., 2010) و (Bani et al., 2009) و (Valenzuela et al., 2007) مطابقت داشت.

امروزه تغییر در دوره های نوری و رنگ نور برای دستیابی به تغییرات مطلوب رشد، هورمونی و... در بسیاری از کارگاهها صورت می گیرد. با توجه به این بررسی تغییر دوره های نوری و رنگ نور بر پارامتر های خونی به عنوان شاخص فیزیولوژیک ماهی اثرگذار نیست، اگر به واسطه تغییر این عامل های محیطی ماهی دچار اختلال فیزیولوژیکی و یا هرگونه استرس نشود، شرایط بدنی و فیزیولوژیک خود را به صورت پایدار نگه می دارد و تغییر در عامل محیطی به صورت تغییر در عامل دلخواه نمایان می شود.

### تقدیر و سپاسگزاری

در پایان بر خود میدانم از همفکری های مهندس یلدا هوشیار، اشکان بنان و ازکارکنان بخش هایت کثیر و پرورش، فیزیولوژی و زیست شیمی، بوم شناسی انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری دکتر دادمان خصوصا آقایان مهندس حلاجیان و پوردهقان، مروتی، نظامی، دروی، یوسفی و همچنین از کارگران محترم بخش تکثیر و پرورش انستیتو آقایان هوشیار، شفیع، شهبازی، قائمیان، باقری، حقدادی تشکر کنم.

### منابع

- [1] BananA, Kalbassi MR, Bahmani M, and Sadati MAY. (2011). Effects of colored light and tank color on growth indices and some physiological parameters of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Applied Ichthyology, 27: 565-570.
- [2] Bani A, Tabarsa M, Falahatkar B, and Banan A. (2009). Effects of different photoperiods on growth, stress and haematological parameters in juvenile great sturgeon *Huso huso*. Aquaculture Research, 40:1899 - 1907.
- [3] Biswas AK, Maita M, Yoshizaki G, and Takeuchi T. (2004). Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. Journal of Fish Biology, 65:811-821.
- [4] Blaxhall PC, and Daisley KW. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5:771-781.
- [5] Bolliet V, Aranda A, and Boujard T. (2001). Demand-feeding rhythm in rainbow trout and European catfish. Synchronisation by photoperiod and food availability. Physiology & Behavior, 73: 625-633.

- [6] Collazos ME, Ortega E, Barriga C, and Rodriguez B. (1998). Seasonal variation in haematological parameters in male and female tench *Tinca tinca*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 5:114-432.
- [7] Dorafshan S, Kalbassi MR, Pourkazemi M, Mojazi Amiri B, and Soltan Karimi S. (2007). Effects of triploidy on the Caspian salmon (*Salmotrutta caspius*) haematology. *Fish Physiology and Biochemistry*, 34: 195- 200.
- [8] Ezzat AA, Shabna MB and Farghaly A. (1973). Studies on the blood characteristics of Tilapia Zilli (Gervais).1.Blood cells. *J.Fish Biolo*.6:1-12, in: *Fishes: An Inrtroduction to Ichthyology*, Moyle. P.B, and Cech .J.J, 2000, 4<sup>th</sup>edn. Prentice – Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- [9] Fanouraki E, Divanach P, Pavlidis M. (2007). Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*, 265 :294–304.
- [10] Houston AH. (1990). Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) *Methods in fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 273–335.
- [11] Klinger RC, BlearVS, and Echevarria C. (1996). Effect of dietary lipid on the haematology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 147: 225–233.
- [12] Leonardi M, Sandino AM, and Klempau A. (2003). Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *European Association of Fish Pathologists*, 23: 52–59.
- [13] MorganAL, Thompson KD, Auchinachie NA, and Migaud H. (2008). The effect of seasonality on normal haematological and innate immune parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* L. *Fish & Shellfish Immunology*, 25: 791-9.
- [14] Orrego R, Moraga G, Gonzalez M, Gavilan JF, Valenzuela A, Burgos A, and BarraR. (2005). Reproductive, physiological and biochemical responses in juvenile female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sediment from pulp and paper mill industrial discharge areas. *Environmental Toxicology Chemistry*, 24:1935– 1943.
- [15] Pascoli F, Lanzano GS, NegratoE, Poltronieri C, Trocino A, Radaelli G, and Bertotto D. (2011). Seasonal effects on hematological and innate immune parameters in sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology*, 31:1081-1087.
- [16] Person-Le Ruyet J, Mahe, Le BayonN, Le Delliu H. (2004). Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 237:269–280.

- [17] Pickering AD. (1986). Changes in blood cells composition of the brown trout, *Salmo trutta* L., during spawning season. *Journal of Fish Biology*, 29:335–347.
- [18] Rehulka J. (2000). Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190: 27–47.
- [19] Ronyai A. (2009). Effect of different synthetic gonadotrop-releasing hormone analogues and their combinations with an anti-dopaminergic compound on the reproduction performance of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). *Aquaculture Research*, 40:315-321.
- [20] Rouff R, and Rensing L. (2004). Temperature effects on circadian clocks. *Journal of Thermal Biology*, 29:445–456.
- [21] Stolen JS, Gahn T, Kasper V, and Nagle JJ. (1984). The effect of environmental temperature on the immune response of a marine teleost (*Faralichthys denrufus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 8:89-98.
- [22] Srivastava S, and Choudhary SK. (2010). Effect of artificial photoperiod on the blood cell indices of the catfish, *Clarias batrachus*. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 6: 22 - 32
- [23] Tort L, Rotllant J, and Rovira L. (1998). Immunological suppression in gilthead sea bream *Sparus aurata* of the North West Mediterranean at low temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120:175-9.
- [24] Valenzuela AE, Silva VM, and Klempau AE. (2006a). Qualitative and quantitative effects of constant light photoperiod on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) peripheral blood erythrocytes. *Aquaculture*, 251:596–602.
- [25] Valenzuela AE, Silva VM, and Klempau AE. (2006 b). Qualitative and quantitative effects of constant light photoperiod on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) peripheral blood erythrocytes. *Aquaculture*, 251: 596– 602
- [26] Valenzuela AE, Silva VM, and Klempau AE. (2007). Some changes in the haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to three artificial photoperiod regimes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33:35–48.
- [27] Vosyliene MZ. (1996). Hematological parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during short-term exposure to copper. *Ecology* 3:12-18.

## The effects of light colour and photoperiod on hematological parameters in Sterlet, *Acipenser ruthenus*, broodstock

Fatemeh Naderi<sup>1\*</sup>, Ali Bani<sup>2</sup>, Mohamal Ali Yazdani<sup>3</sup>, Rezvanollah Kazemi<sup>3</sup>

1-MSc in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan,  
Sowmehsara.

2-Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht.

3-Scientific Member and Expert of International Sturgeon Research Institute  
(Dr.Dadman), Rasht.

---

### Abstract

This study investigated the effects of light colour and photoperiod on hematological parameters in female Sterlet, *Acipenser ruthenus*, broodstock. A total of 36 fish were reared for 6 months under four treatments; two light colours (blue & red) and two light regimes (18L:6D & 6L:18D) with light intensity of 150 Lux in three replicates. Blood parameters including white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), haemoglobin concentration (Hb), haematocritpercent (Hct), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) were measured during the three (Previtellogenesis, Vitellogenesis and Final maturation) reproductive stages. The results of this study revealed no significant difference ( $P > 0.05$ ) in different haematological parameters among the treatments. However, the levels of Hct, Hb, MCV, MCH, and MCHC were considerably ( $P < 0.05$ ) higher in the middle of reproductive period (vitellogenesis) compared to the other reproductive stages. The concentration of RBC were however similar in three reproductive stages ( $P > 0.05$ ). The results suggest that reproductive stage has more effect on hematological parameters compared with light changes.

**Keywords:** colour light, photoperiod, Sterlet, hematology, reproductive stage

---

\*Fatemeh.naderi79@yahoo.com

