ارزیابی تغییرات برخی شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی زمستان گذرانی

مریم قیاسی*[۱]، نغمه سلیمانی[۲]، لیدا شجاعی[۲]، محمد بینایی[۱]

۱ – پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۲ – گروه شیلات، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۳۰

چکیده

باتوجه به کاهش شدید و یا عدم تغذیه ماهیان کپور طی زمستان و تاثیرات سوء تغذیه بر سلامت ماهیان، هدف از این مطالعه تعیین تاثیر تغییرات شاخص‌های خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی طی زمستان گذرانی بود. جهت انجام این مطالعه از ماهیان کپور معمولی طی دو مرحله، اسفند ۱۳۹۵ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم) و اردیبهشت ۱۳۹۶ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم) (در مجموع ۶۰ ماهی) از یک استخر پرورشی در منطقه بهشهر صید و خونگیری انجام شد. طی این بررسی میزان گلبولهای قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط سلولی(MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی(MCHC)، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK) و فعالیت لیزوزیم سرم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تعداد گلبولهای قرمز و سفید، هماتوکریت گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK) کلسترول، تری‌گلیسرید، IgM تام سرم و فعالیت لیزوزیم در نمونه های بدست آمده در اسفند بطور معنی داری ($P\leq 0.05$) کمتر از اردیبهشت بود. همچنین میزان هموگلوبین،آلبومین، MCV، MCH و MCHC علیرغم تفاوت عددی فاقد تفاوت معنی‌دار بودند. نتایج این بررسی نشان داد که کاهش شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی در طی زمستان گذرانی که احتمالا به به دلیل کاهش متابولیسم و عدم تغذیه ماهیان کپور بوده امری اجتناب ناپذیر است و همین امر می‌تواند یکی از علل احتمالی تلفات ماهیان طی زمستان و افزایش حساسیت آنها به بعضی از بیماریهای عفونی باشد. لذا توصیه می‌شود پرورش دهندگان با افزایش دما و شروع تغذیه فعال ماهیان از جیره‌های با کیفیت و حاوی محرک‌های ایمنی جهت جبران سریع‌تر شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی استفاده نمایند.

کلمات کلیدی: زمستان گذرانی، کپور، کراتین فسفوکیناز، هموگلوبین، لیزوزیم.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) ghiasimaryam4@gmail.com

مقدمه

ماهی کپور معمولی از خانواده Cyprinidae با نام علمی *Cyprinus carpio* یکی ازماهیان پرورشی مهم اقتصادی در آب شیرین است که به دلیل سهولت پرورش، بطور وسیعی در جهان پرورش داده می‌شود و جزء سومین گونه معرفی شده به صنعت آبزی‌پروری در دنیا است. این گونه نسبت به تغییرات دمای آب، اکسیژن محلول و گل آلودگی از تحمل بالایی برخوردار بوده و نسبت به دیگر آبزیان پرورشی از سازش بیشتری در برابر تغییرات نامناسب محیطی برخوردار است (هرسیج و آدینه، ۱۳۹۶). ماهی کپور از گروه ماهیان گرم آبی بوده و دمای مناسب رشد و تغذیه آن بین ۲۸ – ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. با کاهش دمای آب نیازمندی ماهی کپور به انرژی کم شده و ظرفیت هضم مواد غذایی آن نیز کاهش می‌یابد (Bauera and Schlot, 2004).

پرورش ماهی کپور در ایران و بسیاری از نقاط جهان در استخرهای خاکی و یا آببندان انجام می‌شود و در کشورهایی که چهار فصل مشخص دارند (برخلاف کشورهای واقع در مناطق استوایی) کاهش دمای آب در فصل زمستان در استخرهای خاکی و یا آب‌بندان‌ها به گونه‌ای است که ماهیان دست از تغذیه برداشته و یا میزان آن به حداقل ممکن می‌رسد (Watt *et al.*, 1988). هنگامی که دمای آب به کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، متابولیسم ماهی به شدت کاهش یافته و در حرارت کمتر از ۸ درجه سانتی‌گراد حرکت و تغذیه ماهی کپور به حداقل و یا صفر می‌رسد (Prchal *et al.*, 2018). ماهیان کپور طی زمستان گذرانی رفتارهای مشخصی را از خود نشان می‌دهند که شامل قرار گرفتن در گروه‌های دسته جمعی، رفتن به قعر استخر و سپری کردن زمستان در محل استقرار بدون حرکت و تغذیه است (Bauera and Schlot, 2004).

در شرایط زمستان گذرانی، این ماهیان از انرژی کاتابولیسمی به عنوان راه تامین انرژی استفاده می‌کنند، به این ترتیب که ابتدا از ذخایر چربی سپس از ذخایر گلی‌کوژن موجود در کبد و عضلات و در نهایت از پروتئین عضلات استفاده نموده و این امر موجب کاهش وزن آنها می‌شود و البته در این زمان نیازمندی ماهی به کالری نیز در حداقل مقدار ممکن است (Urbànek *et al.*,2010; Bauera and Schlot, 2004). مطالعات نشان داده که تغییرات متابولیکی بوجود آمده طی دوره زمستان گذرانی بستگی به طول دوره و مدت زمان آن دارد. اصولا ماهیان به دلیل خونسرد بودن تحمل بیشتری در برابر گرسنگی دارند و انرژی مورد نیاز متابولیسمی آنها تنها ۲۰ – ۱۰٪ یک جانور خون گرم در سایز و وزن مشابه است (McCue, 2010). در کپور ماهیان با متابولیزه شدن چربی و پروتئین‌ها و ایجاد روند گلیکونئوژنزیس کاهش در ترکیبات چربی و پروتئینی سرم طی دوره زمستان گذرانی ایجاد می‌شود (Al-Niaeem *et al.*, 2010).

فاکتورهای خونی و سرمی شاخصی مهم در ارزیابی وضعیت فیزولوژی ماهیان است و اغلب از آنها در جهت ارزیابی سلامت و کفایت سیستم ایمنی ماهی استفاده می‌شود. بسیاری از مطالعات نشان داده است که طی مدت زمستان گذرانی به دلیل کاهش تغذیه و افت متابولیسم در ماهیان کپور روند خونسازی و فعالیت سیستم ایمنی ماهیان با نقصان روبرو شده و طی این مدت با کاهش تعداد گلبولهای خونی اکسیژن رسانی بافتی و نیز عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان کپور

تضعیف می‌شود (Kondera *et al.*, 2017). با کاهش عملکرد و ضعف سیستم ایمنی حساسیت ماهیان نسبت به بروز برخی بیماری‌های عفونی افزایش یافته و شاید به همین دلیل باشد که بروز بعضی از بیماری‌ها در ماهیان کپور مانند ویرمی بهاره کپور ماهیان (SVC)[1] و نیز بروز تلفات ناشی از هرپس ویروس ماهی کوی(KHV)[2] در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال ماهیان کپور دامن‌گیر آنها می‌شود (Ahne *et al.*, 2002; Svetlana *et al.*, 2004; Ødegård *et al.*, 2010; Prchal *et al.*, 2018; Phelps *et al.*, 2012).

هرچند زمستان گذرانی موجب افت وزن و کاهش شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان کپور می‌شود ولی مطالعات نشان داده است با افزایش دما و تغذیه فعال، ماهیان افزایش وزن یافته و این شاخص‌ها به شرایط مناسب بازگشته و حساسیت ماهیان به عوامل عفونی خصوصا دو بیماری ویروسی ذکر شده عملا از بین می‌رود (Arslan *et al.*, 2015).

از آنجایی که تاکنون اطلاعاتی در خصوص ارزیابی تغییرات شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور در مدت زمستان گذرانی در استان مازندران در دست نبود، در این بررسی ارزیابی این شاخص‌ها در ماهیان کپور در زمان زمستان گذرانی و بعد از آن مورد ارزیابی قرار گرفته است تا اطلاعات اولیه در خصوص تغییرات تابلو خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور را طی این مدت در اختیار قرار دهد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

تعداد ۳۰ قطعه ماهی کپور پرورشی با میانگین وزن ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم در اسفند ۱۳۹۵ (قبل از آغاز تغذیه فعال در دوره زمستان گذرانی) و ۳۰ قطعه دیگر با میانگین وزن ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم در اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ (شروع تغذیه فعال) از یک استخر یک هکتاری در منطقه بهشهر صید شدند. در زمان نمونه برداری در اسفند ماه میزان دما، pH و اکسیژن محلول به ترتیب ۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، ۸/۳ و ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر و میزان دما، pH و اکسیژن محلول در اردیبهشت به ترتیب ۱۹/۴ درجه سانتی‌گراد، ۸/۵ و ۷/۹ میلی‌گرم در لیتر بود.

خون‌گیری

پس از صید، ماهیان با استفاده از پودر گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند. خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ استریل انجام شد و یک و نیم میلی‌لیتر خون از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شد. میزان نیم میلی لیتر از خون گرفته شده به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۲ میلی گرم در هر لیتر خون) و بقیه آن به میکروتیوب فاقد هپارین منتقل شد. نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر فرستاده شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای شمارش گلبول قرمز و سفید، نمونه با محلول ریس به نسبت ۱ به ۲۰۰ (برای گلبول قرمز) و ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) رقیق شده و در نهایت سلولها با

[1] - Spring Viremia of Carp
[2] - Koi herpes virus

استفاده از لام هموسیتومتر شمارش شدند. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰rpm) با استفاده از خط-کش مخصوص قرائت گردید. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد (Blaxhall and Daisley, 1973). محاسبه شاخص‌های خونی شامل حجم متوسط سلولی(MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی(MCHC) بر اساس فرمول و میزان گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت انجام گردید (Binaii *et al.*, 2014).

اندازه گیری شاخص‌های سرمی

ارزیابی فاکتورهای سرمی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP) و کراتین فسفوکیناز (CPK) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر(Eurolayzer ساخت بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Binaii *et al.*, 2014). برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارایه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما، آمریکا) و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده از آزمایش شاخص‌های خونی و سرمی جهت آنالیز آماری در نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ ثبت گردید و جهت تعیین وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار بین داده ها از آزمون independent T- test استفاده گردید (Zar, 2007).

نتایج

در این بررسی میانگین وزن ماهیان صید شده در اسفند ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم بود در حالیکه میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم بود. اگرچه تفاوت معنی داری بین میانگین وزن وجود نداشت ولی میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه از نظر عدی بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند بود.

طی این بررسی مشخص گردید که تعداد گلبول-های قرمز و سفید و هماتوکریت در ماهیان کپور صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این شاخص‌ها در ماهیان کپور صید شده در اردیبهشت بوده ($P\leq 0.05$) ولی میزان هموگلوبین و حجم متوسط سلولی(MCV) علی‌رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت فاقد تفاوت معنی دار بین دو گروه بود ($P\geq 0.05$). میزان متوسط هموگلوبین سلولی(MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) نشان داد علی رغم افزایش عددی این شاخص‌ها در ماهیان صید شده در اسفند ماه تفاوت معنی داری با شاخص‌های فوق در ماهیان صید شده در اردیبهشت وجود ندارد ($P\geq 0.05$). نتایج مربوط به شاخص‌های خونی در جدول ۱ آمده است. در ارزیابی شاخص‌های سرمی مشخص گردید که میزان گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهیان صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این

شاخص‌ها در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه است($P\leq0.05$) و میزان آلبومین علی رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت تفاوت معنی داری با ماهیان صید شده در اسفند ندارد($P\geq0.05$). نتایج مربوط به شاخص‌های سرمی در جدول ۲ آمده است.

در ارزیابی شاخصهای ایمنی، نتایج این بررسی نشان داد که میزان IgM تام سرم و لیزوزیم در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه بطور معنی داری بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند ماه بوده است ($P\leq0.05$) (شکل‌های ۱ و ۲).

جدول۱: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت

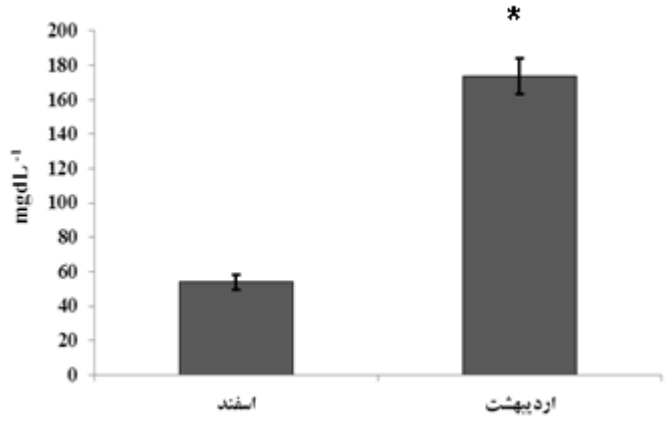
شاخص	اسفند	اردیبهشت	t - test	
			P	t - value
گلبول قرمز $\times 10^5$ (سلول در میلی متر مکعب)	۱/۳۴ ± ۰/۰۴	۲/۱۱ ± ۰/۸۹*	۰/۰۰۳	-۷/۷۲۶
گلبول سفید $\times 10^3$ (سلول در میلی متر مکعب)	۷/۸۶ ± ۰/۳۷	۱۳/۵۲ ± ۰/۵۵*	۰/۰۱۹	-۱۰/۰۶۵
هماتوکریت (درصد)	۲۸/۴۵ ± ۰/۷۰	۳۸/۶۵ ± ۱/۳۷*	۰/۰۰۱	- ۶/۶۰۰
هموگلوبین (gdL^{-1})	۹/۸۹± ۰/۱۳	۱۰/۰۳ ± ۰/۱۴*	۰/۰۹۱	- ۸/۰۵۲
متوسط حجم گلبولی (MCV) (فمتولیتر)	۲۱۳/۶۷ ± ۲/۸۸	۲۲۰/۱۵ ±۱ /۳۸	۰/۰۶۲	- ۲/۰۳۳
وزن هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)	۷۳/۳۳ ± ۱/۲۹	۵۲/۷۲ ± ۱/۶۸	۰/۵۸۸	- ۱۱/۸۰۶
غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (درصد)	۳۴/۳۹ ± ۰/۶۵	۲۳/۹۵ ± ۰/۵۲	۰/۴۹۷	- ۱۲/۳۶۰

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است

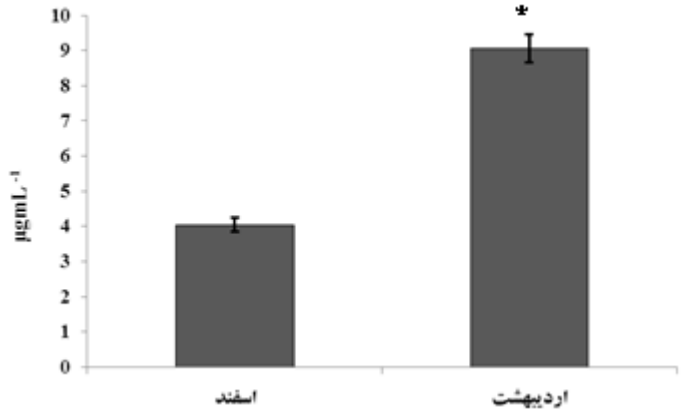
جدول ۲: مقایسه میانگین شاخصهای سرمی کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت

شاخص	اسفند	اردیبهشت	t - test	
			P	t - value
گلوکز ($mgdL^{-1}$)	۶۰/۶۸ ± ۳/۸۱	۱۳۰/۶۷ ± ۱/۲۲*	۰/۰۰۶	-۵/۹۰۵
تری‌گلیسرید ($mgdL^{-1}$)	۱۳۷/۲۰± ۷/۱۱	۲۲۸/۳۱ ±۱۲/۴۰*	۰/۰۴۵	-۳/۵۸۵
کلسترول ($mgdL^{-1}$)	۱۷۷/۰۸ ± ۸/۱۰	۲۰۳/۰۳ ±۱۱/۶۰*	۰/۰۴۱	-۶/۲۱۰
پروتئین تام سرم (gdL^{-1})	۲/۷۴ ± ۰/۰۹	۴/۳۶ ± ۰/۲۸*	۰/۰۰۱	-۵/۴۱۲
آلبومین (gdL^{-1})	۱/۴۴ ± ۰/۰۹	۲/۲ ± ۰/۰۹	۰/۱۹۲	-۶/۰۴
ALP ($IUdL^{-1}$)	۱۵/۴ ± ۴/۱	۴۹/۴ ± ۱۲/۵*	۰/۰۰۰	-۱۵/۲۶۷
CPK ($IUdL^{-1}$)	۸۳۸۴/۵۵ ± ۷۸۰/۵۲	۱۹۲۸۷/۸۰ ±۲۸۱۵/۸۹*	۰/۰۰۰	-۳/۷۳۱

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است



شکل ۱ – مقایسه میانگین IgM تام سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت
(وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است)



شکل ۲ – مقایسه میانگین فعالیت لیزوزیم سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت
(وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است)

بحث

مطالعات مربوط به اثرات زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بر شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان با نتایج متناقضی همراه بوده است. در حقیقت اثرات فیزیولوژی زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بطور قابل توجهی به گونه، سن ماهی و نیز طول دوره محرومیت غذایی مرتبط است(Sultan *et al.*, 2013). براساس نتایج حاصل از این بررسی مشخص شد که پدیده زمستان گذرانی موجب تغییراتی در تابلو خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور شده ولی با افزایش دما و تغذیه مجدد ماهیان، روند صعودی معنی‌دار در این شاخص‌ها ایجاد شده است. نتایج این مطالعه نشان داد میزان گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در اسفند از کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت برخوردار بود و البته این نغییرات در کنار کاهش میزان MCV گلبولهای قرمز در اسفند بود. در مطالعات Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) که بر روی تغییرات فصلی تابلو خونی لای ماهی (*Tinca tinca*) (گونه‌ای از خانواده کپور ماهیان) انجام دادند مشخص شد که میزان گلبولهای قرمز و هماتوکریت در زمستان در کمترین مقدار در مقایسه با فصول دیگر سال بود. Kondera و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که زمستان

گذرانی در ماهی کپور کاهش معنی‌داری در میزان هموگلوبین ایجاد نمی‌نماید ولی بطور معنی‌داری موجب کاهش گلبول‌های قرمز و هماتوکریت می‌شود. در بررسی‌هایی که در خصوص ساختار خونی ماهیان در زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت انجام شده مشخص شده است که به دلیل محرومیت ماهی از ترکیبات غذایی از یک سو روند تولید گلبول‌های قرمز کند می‌شود و از سوی دیگر سرعت انهدام گلبول‌های قرمز تولید شده کاهش یافته و در نتیجه حجم بالایی از گلبول‌های قرمز خون ماهی در طی این مدت به دلیل عدم جایگزینی با سلولهای جوان، پیر هستند. این ر حالی است که حجم گلبول‌های قرمز جوان بیشتر از گلبول‌های پیر است(Rios *et al.*, 2005; Svobodova´*et al.*, 2008). احتمالا کمتر بودن میزان MCV در اسفند در مقایسه با اردیبهشت به همین خاطر باشد.

براساس نتایج مطالعه حاضر میزان گلبول‌های سفید، IgM تام سرم و لیزوزیم به عنوان شاخص‌های ایمنی ماهیان در اسفند کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت داشته است. دما به عنوان یک عامل تعیین کننده در عملکرد پاسخ‌های ایمنی موجودات خونسرد از جمله ماهیان شناخته شده است و این نقش عمدتا به اثر تعیین کننده دما بر فعالیت کتالیکی آنزیم‌ها باز می‌گردد (Klyachko *et al.*, 1998). براساس مطالعات مختلف، کاهش دما اثرات سرکوب کنندگی بر سیستم ایمنی ماهیان کپور دارد و این اثر ممانعت کنندگی هم بر سیستم ایمنی هومورال و هم سلولی کاملا به اثبات رسیده است (Szumiec and Pilarczyk, 2001). بررسی‌ها نشان داده است که تولید IgM در دمای ۱۰ – ۵ درجه سانتی‌گراد در ماهیان کپور کاملا سرکوب و متوقف می‌شود (Ahne *et al.*, 2002). همچنین با کاهش دما تخریب ایمونوگلوبولین‌ها در ماهیان کپور افزایش می‌یابد (Svetlana et al., 2004; Varga *et al.*, 2016). Sala-Rabanal و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند با نگهداری ماهیان سوف سرطلایی (*Sparus aurata*) در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز تعداد گلبول‌های سفید ماهیان بطور معنی داری در مقایسه با ماهیان نگهداری شده در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. به نظر میرسد کاهش دما در شرایط زمستان گذرانی بر گلبول‌های سفید تاثیرات مشابه با گلبول‌های قرمز ایجاد می‌کند و طی این مدت به دلیل اختلال در روند تولید گلبول‌های خونی (اریتروپویزیس)، تعداد گلبول‌های خونی اعم از سفید و قرمز کاهش می‌یابد (Kondera *et al.*, 2017). لیزوزیم یک مولکول دفاعی مهم در ایمنی ذاتی کپور ماهیان است. این ترکیب با خاصیت موکولیتیکی از لکوسیتهای خون ترشح شده و مستقیما موجب تخریب دیواره باکتریهای گرم مثبت می‌شود ولی در تخریب باکتریهای گرم منفی نیازمند کمپلمان است(Bayne and Gerwick, 2001). میزان لیزوزیم در ماهی کپور بزرگ هندی (*Labeo rohita*) به شدت تحت تاثیر درجه حرارت محیط است بطوری‌که در تابستان و فصل بارندگی میزان این ترکیب در بالاترین مقدار خود است ولی در زمستان به حداقل مقدار خود میرسد و یکی از دلایل حساسیت کپور بزرگ هندی به بسیاری از عفونت‌ها در فصل سرما به دلیل پایین بودن میزان لیزوزیم در زمستان نسبت داده شده است(Bayne and Gerwick, 2001; Das and Das, 1997).

براساس نتایج این مطالعه میزان پروتئین تام سرم، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید ماهیان در اسفند بطور

معنی‌داری کمتر از اردیبهشت بود. مطالعات مختلف نشان داده است که طی زمستان گذرانی ماهیان کپور برای حفظ بقا ابتدا ذخایر چربی و سپس به دنبال آن از گلیکوژن و در نهایت از ذخایر پروتئینی خود برای بقا استفاده می‌نمایند (Prchal *et al.*, 2018). Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در لای ماهی طی زمستان گذرانی نسبت به سایر فصول بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. در مطالعه انجام شده بر روی بچه ماهیان کپور نگهداری شده در شرایط سرما مشخص گردید میزان پروتئین تام سرم، تری‌گلیسرید و کلسترول بطور معنی داری طی ۱۲ هفته نگهداری کاهش معنی‌داری داشته‌اند. این در حالی بود که میزان آلبومین تغییر کاهشی اندکی داشت (Varga *et al.*, 2016). به نظر می‌رسد از آنجایی که آلبومین نقش بسیار مهمی در نقل و انتقال مواد مغذی در خون داشته و مسئول حفظ فشار کلوئیدی خون است لذا در فرایند زمستان گذرانی و حتی طی گرسنگی طولانی مدت برای حفظ حیات ماهی کمتر دستخوش تغییر می‌شود (Michelis *et al.*, 2006).

در ارزیابی آنزیمهای سرمی در این مطالعه میزان ALT و CPK کاهش معنی‌داری در اسفند نسبت به اردیبهشت داشت. مهمترین وظیفه CPK تامین منابع غنی از فسفوکراتین برای سلولها (خصوصا سلول‌های ماهیچه و مغز) است تا انرژی لازم برای فعالیت‌های سلول را با تولید ATP فراهم کند. در واقع این آنزیم با کنترل گلیکولیز منبع انرژی مناسب را در اختیار سلول قرار می‌دهد. تغییرات این آنزیم در سرم تابع تغییرات سوبسترای این آنزیم می‌باشد (Witzemann, 1985). با توجه به کاهش منابع تولید انرژی و سوبسترای این آنزیم در ماهیان در اسفند ماه (کاهش گلوکز، تری-گلیسرید و کلسترول) به نظر می‌رسد کاهش این آنزیم قابل توجیه است و این امر پاسخگوی بیحالی و کم تحرکی ماهیان در زمستان نیز می‌تواند باشد. ALP از دسته آنزیم‌های متصل به غشا سلول است که نقش آن برداشتن عامل فسفات از استرهای آلی حاوی فسفات و نیز تسهیل حرکت مواد از غشا سلول است. از مهمترین موارد کاهش این آنزیم می‌توان به کمبود اسید فولیک ، ویتامین C، سوء تغذیه یا مصرف اندک پروتئین اشاره نمود (Percin and Konyalioglu, 2008) که به دلیل عدم تغذیه طولانی مدت ماهیان در طی زمستان گذرانی قابل توجیه است.

در یک نتیجه‌گیری کلی مشخص است که طی زمستان‌گذرانی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان کپور به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرند ولی بتدریج با افزایش دما و تغذیه فعال این شاخص‌ها بتدریج افزایش می‌یابند. مطالعات مختلف نشان داده به دلیل کاهش شاخصهای ایمنی، ماهیان در این زمان بسیار حساس به بروز برخی بیماریهای عفونی از جمله بیماریهای ویروسی مانند SVC و KHV هستند. لیکن مطالعات نشان داده است تغذیه ماهیان کپور با جیره های حاوی پروتئین بیشتر و عوامل محرک ایمنی از جمله پروبیوتیکها (باعثی و همکاران، ۱۳۹۵) در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال کمک شایانی به بهبود هرچه سریعتر این شاخص‌ها نموده و موجب می-گردد تا آنها سریع‌تر به دامنه نرمال خود برگشته و با افزایش مقاومت ماهیان حساسیت آنها را در برابر عوامل عفونی یاد شده کاهش دهند (Bocioc *et al.*,2015). لذا توصیه می‌شود در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان کپور با آغاز تغذیه فعال پرورش دهندگان از جیره‌های

غذایی با کیفیت در کنار عوامل محرک ایمنی استفاده نمایند تا با روند بهبود شاخص‌های نامبرده در حداقل زمان ممکن ماهیان در برابر بروز بیماریهای عفونی احتمالی از مقاومت بیشتری برخوردار گردند.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. باعثی، ف.، آبرومند، ع.، سعید ضیائینژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تاثیر لاکتوباسیلهای پروبیوتیکی تجاری بر پارامترهای رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۴۱-۴۸.

۲. هرسیج، م. و آدینه، ح.، ۱۳۹۶. امکان سنجی پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در پساب تصفیه شده از ضایعات کشتارگاهی طیور: بررسی کیفیت آب، عملکرد رشد و ترکیبات بدن، نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۳): ۱۲۳ – ۱۳۵.

3. Ahne, W., Bjorklund, H.V., Essbauer, S., Fijan, N., Kurath, G. & Winton, J.R., 2002. Spring viremia of carp (SVC). Diseases Aquatic Organisms, 52: 261–272.
4. Al-Niaeem, K. S., AL-Hamadan, Q. H., AL-Tameemi, R. A., 2010. Histopathological changes in the intestine, liver and pancreas of the common carp Cyprinus carpio during starvation. Proceding of 6th International Conference of Biology Science (Zoology), 6: 1- 6.
5. Arslan, G., Sahin, T., Hisar, O. & Hisar, S.A., 2015. Effects of low temperature and starvation on plasma cortisol, triiodothyronine, thyroxine, thyroid-stimulating hormone and prolactin levels of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin, 4(2): 5-9.
6. Bauera, C. & Schlott, G., 2004. Overwintering of farmed common carp (*Cyprinus carpio* L.) in the ponds of a central European aquaculture facility—measurement of activity by radio telemetry. Aquaculture, 241: 301–317.
7. Bayne, C.J., Gerwick, L., 2001. The acute phase response and innate immunity of ¢sh. Developmental and Comparative Immunology, 25:725-743.
8. Bocioc, E., Cristea, V., Patriche, N., Grecu, I., Placintă, S., Mocanu, M. & Tiberiu, M., 2015. Assessment of the effect of temperature on the carp physiology (*Cyprinus carpio*, L., 1758) fed with probiotics in condition of a recirculating aquaculture system. Animal Science and Biotechnologies, 48 (2): 97-103.
9. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E.,Taghavi,M.J. & Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (Urtica dioica). Fish and Sellfish Immunology, 36: 46-51.
10. Blaxhall, P.C. & Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-81.
11. Das, M.K. & Das, R.K., 1997. Disease caused by bacteria. In: Fish and Prawn Diseases in India, Diagnosis and Control (ed. byM.K. Das & R.K. Das), Inland Fisheries Society, Barrackpore, West Bengal, India.
12. Ellis, A.E., 1990. In: Stolen, JS., Fletcher, TC., Anderson, DP., Robertson, BS., Van Muisvinkel WR., editors. Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS Publications.

13. Guijarro, A.I., Lopez-Patiño, M.A., Pinillos, M.L., Isorna, E., De Pedro, N., Alonso-Gomez, A.L., Alonso – Bedate, M. & Delgado, M.J., 2003. Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench. Journal of Fish Biology, 62: 803–815.
14. Klyachko, O.S. & Ozernyuk, N.D., 1998. Functional and structural properties of lactate dehydrogenase form embryos of different fishes". Comparative Biochemistry and Physiology, 119: 77-80.
15. Kondera, E., Kościuszko, A., Dmowska, A. & Małgorzata, W., 2017. Haematological and haematopoietic effects of feeding different diets and starvation in common carp *Cyprinus carpio*. Journal of Applied Animal Research, 45(1): 623–628.
16. McCue, M.D., 2010. Starvation physiology, reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. Comparative Biochemistry and Physiology A, 156:1–18.
17. Michaelis, K., Hoffmann, M.M., Dreis, S., Herbert, E., Alyautdin, R.N., Michaelis, M., Kreuter, J. & Langer, K., 2006. Covalent linkage of apolipoprotein E to albumin nanoparticles strongly nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 317:1246–1253.
18. Ødegård, J., Olesen, I., Dixon, P., Jeney, Z., Nielsen, H. M., Way, K., Joiner, C., Jeney, G., Ardó, L., Rónyai, A. & Gjerde, B., 2010, Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains. II: Resistance to koi herpesvirus and *Aeromonas hydrophila* and their relationship with pond survival. Aquaculture, 304:7–13.
19. Percin. F. & Konyalioglu. S., 2008. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean, Aquaculture Research, 39: 945-953.
20. Phelps, N.B.D., Armién, A.G., Mor, S.K., Goyal, S.M., Warg, J.V., Bhagyam, R. & Monahan, T., 2012. Spring Viremia of Carp Virus in Minnehaha Creek, Minnesota. Journal of Aquatic Animal Health, 24,232–237.
21. Prchal, M., Kause, A., Vandeputte, M., Gela, D., Allamellou J.M., Kumar, G., Bestin, A., Bugeon, J., Zhao, J. & Kocour, M., 2018. The genetics of overwintering performance in two-year old common carp and its relation to performance until market size. PLoS One. 13(5): e0197820.
22. Rios, F.S., Oba, E.T., Fernandes, M.N., Kalinin, A.L. & Rantin, F.T., 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, Hoplias malabaricus (*Characiformes, Erythrinidae*). Comparativen Biochemistry and Physiology A, 140: 281–287.
23. Sala-Rabanal, M., Sánchez, J., Ibarz, A., Fernández-Borràs, J., Blasco, J. & Gallardo, M.A., 2003. Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, 29:105–115.
24. Sultan, F.A.M., 2013. Effect of starvation on oxygen consumption and some blood parameters of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). Basrah Journal of Agricultural Sciences, 26 (2): 20-36.
25. Svettana, J., Dobrila, J. D. & Jevićv, R., 2004. Dissemination of spring viremia of of carp (SVC) in Serbia during the period 1999 – 2002. Acta Veterinaria, 54(4), 289-299.
26. Svobodovà, Z., Kroupov, H., Modrà, H., Flajšhans, M., Randàk, T., Savina, L. V. & Gela, D., 2008. Haematological profile of common carp spawners of various breeds. Journal of Applied Ichthyology, 24: 55–59.
27. Szumiec, M.A. & Pilarczyk, A., 2001. Effect of temperature decrease on carp, *Cyprinus carpio* L. culture in a temperate climate. Pt. 1. Survival of carp juvenile in ponds and swim bladder inflammation. Archives of Polish Fisheries, 9 (1): 87-96.
28. Urbánek, M., Hartvich, P., Vácha, F. & Rost, M., 2010. Investigation of fat content in market size common carp (*Cyprinus carpio*) flesh during the growing season. Aquaculture Nutrition, 16: 511-519.

29. Varga, D., Hancz, Cs., Molnár, T. & Szabó, A., 2016. Alterations in serum metabolites and enzymes of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) during long-term starvation. Acta Agraria Kaposváriensis, 20(1):36-39.
30. Watt, P.W., Marshall, P.A., Heap, S.P., Loughna P.T. & Goldspink, G., 1988. Protein synthesis in tissues of fed and starved carp, acclimated to different temperatures. Fish Physiology and Biochemistry, 4(4):165-173.
31. Witzemann, V., 1985. Creatine phosphokinase: isoenzymes in Torpedo marmorata. European Journal of Biochemistry, 150: 201 -210.
32. Zar, J.H., 2007. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey.