فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۰، جلد ۸، شماره ۳، تابستان۹۴، صفحه ۲۱ تا ۳۳

تاثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی سی‌باس آسیایی *(Lates calcarifer)*

شیرین حامدی[۱]، روح اله رحیمی[۲]، محمود نفیسی بهابادی[۳]، مریم عضدی[۴]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، چهار محال بختیاری. ایران.
shirin.hamedi@gmail.com

۲-استادیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، چهار محال بختیاری. ایران.

۳-دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ایران.

٤-کارشناس ، مرکز مطالعات دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ایران.

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹٤/٥/۲٥

چکیده

زمینه و هدف: استرس در محیط‌های پرورشی و طبیعی همواره وجود دارد، شوری نیز یکی از فاکتورهای استرس‌زای محیطی است که بر فیزیولوژی، کارایی رشد و جذب غذا در ماهی موثر می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر استرس شوری بر فاکتورهای خونی در ماهی سی‌باس آسیایی *(Lates Calcarifer)* می‌باشد، تا شرایط مناسب رشد ماهی و حدتحمل آن به غلظت‌های شوری به هنگام سازش پذیری در انتقال به آب‌های با شوری‌های مختلف معین گردد.

روش کار: در این تحقیق ابتدا ماهیان جوان با وزن اولیه‌ی ۰/٤۱۱±۳٤/۳٦ به مدت ۱٤ روز به تدریج به شوری آب سازگار شدند. سپس آزمایش‌های مربوطه به مدت ۳۰ روز تحت تیمارهای مختلف شوری ۰، ۱٥، ۳٥ و ٥۰ گرم در لیتر ادامه یافت. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار شوری و هرتیمار با سه تکرار انجام گردید که ماهیان بین ۱۲ تانک فایبرگلاس توزیع شدند و هر تکرار حاوی ۱٥ قطعه ماهی بود. در پایان آزمایش از سیاهرگ ساقه‌ی دمی ماهیان خونگیری انجام و شاخص های خونی اندازه-گیری شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با کاهش میزان شوری آب بین هیچ یک از تیمارها با هم و با گروه شاهد از نظر میزان فاکتورهای خونی بررسی شده اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد(P ۰/۰٥).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که روند تدریجی تغییر شوری محیط از آب دریا با شوری٥۰گرم بر لیتر به آب شیرین با شوری ۰ گرم بر لیتر، به عنوان عامل استرس‌زا برای ماهی یوری هالین سی باس آسیایی *(Lates Calcarifer)* شناخته نمی-شود و این ماهی توانایی سازش با سطوح مختلف شوری را داشته که نشان دهنده‌ی غلبه موفق آن بر استرس محیطی وارد شده است.

واژه‌های کلیدی: سی باس آسیایی، شوری، فاکتورهای خونی.

مقدمه

استرس به معنای جریان فیزیولوژیکی ایجاد شده به هنگام قرار گرفتن جاندار در برابر تغییر هومئوستازی بر اثر تغییر شرایط محیطی می باشد(۴۷). استرس با قرار دادن ماهی در شرایطی فراتر از سطح تحمل عادی آن ایجاد می‌گردد. پاسخ به استرس یک مکانیسم سازشی است که به ماهی اجازه می‌دهد تا به مقابله با عوامل استرس‌زای دریافتی بپردازد. به عبارتی از این طریق وضعیت طبیعی یا هموستاتیک بدن خود را حفظ نماید(۱۸). شوری یکی از فاکتورهای محیط زیستی است که بر فیزیولوژی، کارایی رشد و جذب غذا در ماهی موثر می‌باشد(۴۹). از طرفی بررسی‌های هماتولوژیکی می‌توانند اطلاعات ارزشمندی را در رابطه با حد تحمل جانوران در برابر فاکتورهای استرس‌زا ارائه دهند. تغییرات محیطی در موجودات زنده همواره با

تغییرات فیزیولوژیکی همراه است که این تغییرات بر روی بافت‌های بدن موجود زنده که حساس‌ترین آن‌ها خون می‌باشد، تاثیرگذار است. بافت خون شاخص مهمی برای وضعیت فیزیولوژیکی اندام‌های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان بوده و تجزیه و تحلیل شاخص‌های خونی راهنمای با ارزشی در ارزیابی وضعیت زیستی آبزیان می-باشد(۱). در هنگام مواجه شدن با تنش ناشی از افزایش شوری آب، ماهیان ترکیب مایعات داخلی بدن خود را توسط فرآیند تنظیم فشار اسمزی و از طریق تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک گوناگون آن تنظیم می‌نمایند. چگونگی تغییرات این شاخص‌ها معیاری از نحوه‌ی تنظیم فشار اسمزی ماهیان و عاملی جهت ارزیابی چگونگی تحمل تنش شوری در آن‌ها است(۱۳). تنظیم‌اسمزی، مکانیسم حفظ هموستازی مایعات درونی بدن است که مسئول کنترل اسمولالیته یا فشار اسمزی پلاسما می‌باشد. حفظ اسمولالیته‌ی نسبی بالا و پایین پلاسما نسبت به محیط به ترتیب هایپراسمورگولاسیون (Hyper osmoregulation) و هایپواسمورگولاسیون (Hypo osmoregulation) نامیده می‌شود(۱۹). موجودات خشکی‌زی و آبزی باید فشار اسمزی سلول‌هایشان را توسط تنظیم جریان یون‌ها و آب از طریق غشای‌سلولی(عموماً با صرف انرژی) کنترل کنند و درحد ثابتی نگه دارند. توانایی یک موجود آبزی در تحمل تغییرات گسترده‌ی شوری بدون به خطر افتادن فرآیندهای زیستی، یوری‌هالینیتی(در مقابل استنوهالینیتی) نامیده می‌شود. ماهیان استخوانی دریایی باید با از دست دادن آب از طریق اسمز و ورود یون‌ها(اساساً Na^+ و Cl^-) از طریق انتشار به محیط داخلی بدن جلوگیری کنند(نوشیدن آب دریا، کاهش حجم ادرار و دفع فعال نمک از طریق آبشش) در حالی که مکانیسم‌های معکوسی در ماهیان آب شیرین رخ می‌دهد(دفع ادرار نسبتاً رقیق، جذب فعال نمک از طریق آبشش و احتمالاً تامین مقداری نمک از غذا)(۵۳، ۳۰). سی باس آسیایی که تحت عنوان باراماندی(*Baramundi*) نیز شناخته می‌شود از ماهیان رودکوچ بوده که قابلیت سازگار شدن در هر دو محیط آب شور و شیرین را دارد(۴۶). این ماهی یک گونه یوری هالین از خانواده Latidae است که در بسیاری از مناطق حاره و نیمه حاره، اقیانوس هند و اقیانوس اطلس پراکنده می‌باشد. سازش پذیری با غذای دستی، تکثیر در شرایط اسارت، نرخ رشد سریع(نرخ رشد ماهی سی باس در مراحل اولیه زندگی کم بوده اما از وزن ۳۰ گرم رشد سریع این ماهی شروع شده و بعد از رسیدن به وزن ۴ کیلوگرم کاهش پیدا می‌کند) و قیمت بالای محصول در بازار به واسطه کیفیت بالای گوشت از عواملی است که ماهی سی باس را به یک گونه مناسب برای آبزی پروری تبدیل می‌کند(۴۱،۵۱). سی باس در مدت ۵ ماه به بیش از ۵۰۰تا ۶۰۰ گرم که وزن مناسب بازار است، می رسد(۲۵). سی باس دریایی، ماهی یوری هالین که قادر به زندگی در طیف گسترده ای از شوری، از بسیار شور تا آب شیرین است، به خوبی در محیط‌هایی که دارای شوری متغیرند، مثل مصب‌ها زندگی می‌کند. بنابراین، آن‌ها استراتژی های فیزیولوژیکی توسعه یافته‌ای برای انطباق با چنین تغییراتی دارند(۳۹). طبق گزارش FAO در سال ۲۰۱۲، از کل تولید ماهیان دریایی،۷۰ هزار تن مربوط به ماهی سی باس آسیایی بوده که این نکته بیان گر بازار پسندی این ماهی در دنیا می‌باشد. مطالعات خون‌شناسی تاثیر استرس شوری بر انواع ماهیان، در داخل و خارج از کشور انجام شده است از جمله می توان به موارد ذیل اشاره نمود: عنایت غلامپور و همکاران(۱۳۹۰)، تأثیر سطوح مختلف شوری (۰، ۲، ۴، ۷ و ۱۰ گرم در لیتر) روی پارامترهای خونی بچه ماهیان سفید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی خون حاکی از عدم وجود

اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف بود(۱۴). محمدی و همکاران(۱۳۹۱) نوسانات شوری بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه تاس ماهی انگشت قد ایرانی(*Acipenser persicus*) را در شوری‌های(۵، ۷، ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر) در زمان‌های(۰،۲،۶،۱۲،۲۴ ساعت) مورد بررسی قرار داده و اظهار داشتند نتایج حاکی از آن است که پارامترهای بیوشیمیایی خون تحت تاثیر شوری محیط بوده و غلظت یون‌ها در خون وابسته به غلظت یون‌های محیط می‌باشد(۱۶). Luz و همکاران در سال ۲۰۰۸، تاثیر شوری را بر ماهی کاراس طلایی(*Carassius auratus*) بررسی کردند و مشخص شد افزایش شوری تا ۶ گرم در لیتر استرس معنی‌داری در ماهی ایجاد نمی‌کند(۴۰). Denson و همکاران در سال ۲۰۰۳، اثر شوری روی فاکتورهای خون‌شناسی سوکلا نوجوان (*Rachycentron canadum*) را به مدت ۱۰ هفته در سه سطح شوری ۵، ۱۵ و ۳۰ گرم در لیتر مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که به طور کلی رشد ماهی به طور قابل توجهی توسط شوری تحت تاثیر قرار گرفته و در ماهی پرورش یافته در شوری ۵ گرم در لیتر کاهش قابل توجه هماتوکریت(۲۵ در مقابل ۳۰) و ارزش اسمولالیته پلاسما(۳۱۸ در مقابل ۳۵۳میلی مول کیلوگرم) نسبت به ماهی پرورش یافته در شوری‌های بالاتر را داشته است(۳۳). Vosyliene و همکاران (۲۰۰۶)، اثرات طولانی مدت شوری(۰/۱۸، ۲/۲۸ و ۴/۵۶ گرم در لیتر برای مدت ۱۴ روز) بر روی تعداد گلبول‌های قرمز و سفید ماهی قزل آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. تعداد گلبول‌های قرمز در هر میلی متر مکعب نسبت به گروه کنترل کمتر بود. هم چنین کمترین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز در ماهیان نگهداری شده در شوری ۴/۵۶ گرم در لیتر گزارش گردید(۵۴). چنان چه بتوان از آب‌های شور و لب شور منابع داخلی جهت پرورش ماهیانی با ارزش اقتصادی و سازگار با شرایط جدید استفاده کرد تا حدود زیادی می‌توان کمبود پروتئین‌های جانوری را جبران نمود(۴). در این تحقیق سعی شده است تاثیر استرس شوری با سنجش فاکتورهای خونی در ماهی سی‌باس آسیایی ارزیابی گردد، تا شرایط مناسب پرورش ماهی و حدتحمل آن به غلظت‌های شوری به هنگام سازش پذیری در انتقال به آب‌های با شوری‌های مختلف معین گردد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش

کلیه مراحل عملی و اجرایی این تحقیق از دی ماه تا اسفند ماه ۱۳۹۳ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی پژوهشکده خلیج فارس دانشگاه خلیج فارس بوشهر به انجام رسید. تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی در ابتدا به مدت ۱۴ روز در تانک‌های ذخیره برای تایید سلامت و سازگاری به شرایط سوله نگهداری شدند. با شروع دوره‌ی ۳۰ روزه‌ی آزمایش، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزن اولیه ۰/۴۱±۳۴/۳۶ گرم در یک طرح کاملاً تصادفی بین ۱۲ تانک فایبرگلاس مدور ۳۰۰ لیتری توزیع شد(۱۵ قطعه ماهی به ازاء هر تانک)، حجم و ارتفاع آب در تمام مخازن یکسان(۲۰۰ لیتر) و قابل کنترل بود. هر تانک با استفاده از یک سنگ هوا، هوادهی و برای تامین درجه‌حرارت مناسب پرورش درون هر تانک یک هیتر آکواریومی قرار داشت. به منظور بررسی اثرات تیمارهای شوری بر روی شاخص های خون‌شناسی چهار تیمار(به صورت تیمار اول: شوری ۰، تیمار دوم: شوری ۱۵، تیمار سوم: شوری ۳۵ و تیمار چهارم: شوری ۵۰ گرم در لیتر به عنوان تیمار شاهد) با سه تکرار در نظر گرفته شد که به مدت ۳۰ روز در طول دوره‌ی آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. تنظیم شوری به تدریج و در طی مدت ۱۵ روز انجام پذیرفت. غذادهی از شروع تا پایان آزمایش در حد سیری و متناسب با درجه حرارت(۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد) و به صورت دستی در سه نوبت در ساعات ۹، ۱۳

و ۱۷ انجام شد. برای تامین منبع آب شور مورد نیاز تحقیق از آب خلیج فارس و برای تامین آب شیرین از آب یک حلقه چاه موجود در محل استفاده شد. برای تامین آب تیمارهای ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر، عمل رقیق سازی با محاسبه‌ی نسبت میزان مورد نیاز از آب شور با آب شیرین لازم برای مخلوط سازی صورت پذیرفت، سپس با دستگاه شوری سنج صحت شوری‌های تهیه شده بررسی شد تا به‌طور دقیق مطابق با شوری مورد نظر تانک برای آزمایش باشد(۴۵). تانک‌ها به صورت مرتب روزانه تمیز و شوری مورد نظر مجدداً تنظیم و وضعیت شنا و تغذیه ماهیان روزانه بررسی می‌گردید. در طول مدت آزمایش ویژگی‌های آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH و شوری روزانه با استفاده از دستگاه مولتی پارامترسنج دیجیتال قابل حمل(WTW, Germany) اندازه‌گیری و اطلاعات آن‌ها ثبت گردید. تغییرات درجه حرارت آب در محدوده ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، دامنه اکسیژن بین ۷/۵ تا ۸/۵ میلی گرم در لیتر و دامنه تغییرات pH ۷/۳ تا ۸/۵ ثبت شد. رژیم نوری در نظر گرفته شده در طول دوره پرورش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و غذادهی ماهی‌ها در طول دوره روشنایی روزانه انجام گردید. عملیات خونگیری در پایان دوره آزمایش، ۳۰ روز پس از انتقال ماهی‌ها به تیمارهای آب شور، با استفاده از ماده‌ی بیهوشی اتیلن گلیکول مونو فنیل اتر و در شرایط یکسان برای آن‌ها انجام گرفت. از هر تانک به طور کاملاً تصادفی ۲ قطعه ماهی انتخاب(در کل ۶ قطعه ماهی از هر تیمار) و نمونه‌های خونی از سیاهرگ دمی واقع در انتهای باله‌ی مخرجی و با استفاده از سرنگ ۲cc گرفته و به منظور مطالعات خون‌شناسی در تیوب‌های آغشته به هپارین ریخته و برای جلوگیری از لخته شدن به مدت ۵ دقیقه تکان داده شدند و به مدت ۴ ساعت در دمای۲۳- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و بلافاصله فاکتورهای خونی شامل مقادیر WBC، RBC، هموگلوبین و درصد هماتوکریت اندازه گیری و محاسبه شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده گردید. ابتدا بیش از دو سوم لوله موئینه هپارینه از خون منعقد نشده پر و یک طرف لوله با خمیر مخصوص بسته شد. سپس لوله‌ها را درون دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت قرار داده و با سرعت g ۷۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و مقدار حجم سلولی یا هماتوکریت هر نمونه‌ی خون به وسیله صفحه مدرج مخصوص قرائت شد(۴۸). مقدار هموگلوبین هر نمونه ی خون به وسیله ی کیت مخصوص شرکت پارس آزمون(کرج، ایران) و به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر، مقدار جذب نور ثبت و غلظت هموگلوبین محاسبه شد(۳۴). برای شمارش تعداد گلبول قرمز از پیپت های حباب دار(ملانژور) قرمز استفاده گردید. تعداد گلبول قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون منعقد نشده با محلول ریس(رقت ۱/۲۰۰) شمارش شد. از مربع میانی(۵ خانه وسط) لام نئوبار برای شمارش گلبول قرمز استفاده و عدد بدست آمده در عدد۲۰۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی متر مکعب خون محاسبه (۲۶) و برای شمارش تعداد گلبول سفید از پیپت‌های حبابدار(ملانژور) سفید استفاده گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون منعقد نشده با محلول ریس(رقت ۱/۵۰) شمارش و سپس بر روی پیپت ملانژور سفید ریخته شد. از۴ مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول سفید استفاده و عدد بدست آمده در عدد۵۰ ضرب و تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی متر مکعب خون محاسبه گردید(۲۶). برای شمارش افتراقی گلبول های سفید ابتدا یک قطره خون به روی یک لام ریخته شد و گسترش

خونی به حالت شعله ای تهیه شد. پس از خشک شدن لام ها از متانول خالص برای تثبیت کردن و از رنگ گیمسا جهت رنگ آمیزی لام ها استفاده شد. پس از ۲۰ دقیقه لام ها را شسته و در دمای اتاق خشک شد و نهایتاً با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰X و روغن ایمرسیون مشاهده انجام شد. از قسمت های نازک لام جهت شمارش استفاده و ۲۰۰ عدد گلبول سفید شمرده و نتیجه نهایی به صورت درصد هر نوع از گلبول های سفید ارائه شد (۲۹). شاخص‌های(MCV, MCH, MCHC) به صورت زیر محاسبه گردید(۳۱) :

MCV= (Ht/RBC)× ۱۰۰ (شاخص حجم متوسط گلبولی)

MCH=(Hb/RBC)×۱۰(شاخص هموگلوبین متوسط گلبول‌های قرمز)

MCHC= (Hb/Ht)× ۱۰۰ (شاخص غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز)

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار (SPSS version 16) تحت سیستم عامل Windows XP انجام گرفت. تفاوت‌های احتمالی بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام و برای تعیین برابری واریانس ها(به عنوان پیش شرط ANOVA) از آزمون لیون استفاده شد. در همه‌ی آزمون‌های آماری سطح معنی‌داری ۰/۰۵ P در نظر گرفته شد. آزمون‌های Post-hoc در مواردی که نتایج ANOVA معنی‌دار بود با استفاده از آزمون Tukey انجام گرفت.

نتایج

اثرات شوری بر روی فاکتورهای خونی شامل هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید و شاخص‌های گلبول قرمز در جدول ۱ ارائه شده است: هموگلوبین: غلظت هموگلوبین در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد(p>۰/۰۵)، اما با این حال بیشترین میزان هموگلوبین۱/۰۰۷± ۸ در شوری ۳۵ گرم در لیتر و کمترین میزان در شوری ۰ گرم در لیتر، ۶/۱۷±۰/۴۷ مشاهده شد به‌طوری که میزان آن در دو تیمار ۳۵ و ۱۵ گرم در لیتر از تیمار شاهد(۵۰گرم بر لیتر) بالاتر بود. هماتوکریت: درصد هماتوکریت بین تیمارهای مختلف آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). بیشترین درصد میزان هماتوکریت در شوری ۳۵ گرم در لیتر ، ۴/۵۸ ±۲۸ و کمترین آن ۱/۰۰± ۲۱ در شوری ۰ گرم در لیتر مشاهده شد و میزان آن در دو تیمار ۳۵ و ۱۵ گرم در لیتر از تیمار شاهد (۵۰ گرم بر لیتر) بالاتر بود. در تعداد گلبول‌های سفید در طول مدت دوره‌ی آزمایش تفاوت معنی‌داری (p>۰/۰۵) بین تیمارها با گروه شاهد و حتی در بین خود تیمارها نیز مشاهده نشد با این حال تعداد گلبول‌های سفید در هر سه تیمار پائین‌تر از تیمار شاهد (۵۰ گرم در لیتر) بود(با این که این کاهش معنی‌دار نبود) و با کاهش شوری ، میزان آن نیز کاهش یافته بود. کمترین آن ۱۹۶۶/۶۷±۳۳/۳۳ در شوری صفر و بیشترین تعداد در شوری ۵۰ گرم در لیتر، ۵۷/۷۳ ±۲۱۰۰ بود، در نتیجه گلبول سفید با کاهش شوری کاهش پیدا کرد. با وجود این که تعداد گلبول‌های قرمز نیز در بین تیمارهای مختلف آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵) اما تعداد این گلبول‌ها در شوری‌های ۱۵و ۳۵ گرم در لیتر از تیمار شاهد بیشتر بود و بیشترین تعداد آن در شوری ۱۵، ۱۷۳۹۰۰±۲۸۶۰۰۰۰ و در شوری ۰ گرم در لیتر نسبت به تمامی تیمارها کمتر و ۳۶۰۶۰±۲۳۴۰۰۰۰ بود. در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید از طریق گسترش خونی، لنفوسیت دیده شد که در میزان آن نیز در بین تیمارهای آزمایش باهم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(p>۰/۰۵) با وجود آن تفاوت اندکی در روند لنفوسیت مشاهده شد که در هر سه تیمار بالاتر از تیمار شاهد بود، کمترین میزان ۰/۳۳±۹۷/۳۳ در

شوری ۵۰ گرم بر لیتر و بیشترین میزان ۹۸/۳۳±۰/۳۳ در شوری ۳۵ گرم بر لیتر مشاهده شد. شاخص‌های گلبول قرمز هم بررسی شد که در میزان MCV, MCH و MCHC هم در بین تیمارهای آزمایش باهم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). بیشترین میزان حجم متوسط گلبولی (MCV)، ۹۸/۹۹±۲/۰۴ در شوری ۱۵ و کمترین آن ۸۹/۶۹±۳/۴۱ در شوری ۰ گرم بر لیتر مشاهده شد. با وجود معنی‌دار نبودن اختلافات، مقدار شاخص هموگلوبین متوسط گلبولی(MCH) در شوری ۱۵ گرم بر لیتر کمترین میزان آن ۲۵/۸۶±۱/۳۲ و در شوری ۳۵ گرم بر لیتر بیشترین میزان ۲۸/۶۵±۰/۶۸ مشاهده شد. غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی(MCHC) نیز از روند مشخصی پیروی نکرده، کمترین مقدار ۲۶/۵۱±۱/۱۱ در شوری ۱۵ گرم بر لیترو بیشترین مقدار ۳۰/۰۱±۰/۶۵ در شوری ۵۰ گرم بر لیتر مشاهده شد. در کل نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه مربوط به تاثیر تیمار شوری در هیچ یک از شاخص‌های خون‌شناسی مورد بررسی اختلاف معنی-داری بین تیمارها نشان نداد (p>۰/۰۵).

جدول ۱ – مقادیر فاکتورهای خونی بچه ماهیان سی باس در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean± S.E)

تیمار(گرم بر لیتر) / پارامتر	شوری ۰	شوری ۱۵	شوری ۳۵	شوری ۵۰
RBC *(number/mm^3)*	۲۳۴۰۰۰۰±۳۶۰۶۰	۲۸۶۰۰۰۰±۱۷۳۹۰۰	۲۸۴۰۰۰۰±۴۸۱۲۰۰	۲۵۱۰۰۰۰±۸۱۸۵۰
WBC *(number/mm^3)*	۱۹۶۶/۶۷±۳۳/۳۳	۲۰۵۰/۰±۲۸/۸۶	۲۰۶۶/۶۷±۶۶/۶۶	۲۱۰۰/۰±۵۷/۷۳
Ht *(%)*	۲۱/۰۰±۱/۰۰	۲۷/۷۵±۱/۳۱	۲۸/۰۰±۴/۵۸	۲۳/۶۷±۰/۳۳
Hb *(g/dl)*	۶/۱۷±۰/۴۷	۷/۳۲±۰/۲۴	۸/۰۰±۱/۰۰	۷/۱۰±۰/۰۵
Lymphocyte	۹۸/۰۰±۰/۵۷	۹۸/۲۵±۰/۴۷	۹۸/۳۳±۰/۳۳	۹۷/۳۳±۰/۳۳
MCV *(fl)*	۸۹/۶۹±۳/۴۱	۹۷/۴۵±۱/۶۵	۹۸/۹۹±۲/۰۴	۹۴/۵۶±۴/۲۷
MCH *(pg)*	۲۶/۳۲±۱/۷۶	۲۵/۸۶±۱/۳۲	۲۸/۶۵±۱/۵۸	۲۸/۳۳±۰/۶۸
MCHC*(%)*	۲۹/۲۸±۰/۸۴	۲۶/۵۱±۱/۱۱	۲۸/۹۱±۱/۱۲	۳۰/۰۱±۰/۶۵

بحث و نتیجه گیری

خون به عنوان یک بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهم ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که ترکیبات آن تحت تأثیر حالات مختلف فیزیولوژیک، دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. یکی از روش‌های بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی ماهیان تعیین شاخص-های خون‌شناسی است که نسبت به روش‌های دیگر ساده تر و کم هزینه‌تر می‌باشد(۷). بررسی شاخص‌های خون شناسی ابزاری را جهت تسهیل مدیریت سلامت ماهی فراهم کرده است که می‌تواند در بررسی اثرات استرس مورد استفاده قرار بگیرد. به عنوان مثال تغییرات محیطی مانند شوری و دما هم بر غلظت یون‌ها و هم بر تعداد سلول‌های خون مؤثر است(۳۲). تغییرات فاکتورهای خونی همراه با تغییر فاکتورهای محیطی امری غیرقابل انکار است و در ماهیان به دلیل خونسرد بودن آن‌ها، این امر به وضوح دیده می‌شود(۳). قابلیت سازگاری ماهیان با سطوح مختلف شوری محیط به میزان زیادی بستگی به قابلیت آن‌ها در تنظیم و تعادل جذب و ترشح یون‌ها و حفظ تعادل آن‌ها دارد(۲). اندازه‌گیری غلظت هماتوکریت و هموگلوبین به عنوان شاخص‌های خون-شناسی در پاسخ‌های ثانویه استرس به طور فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند(۶). شاخص هماتوکریت به منظور اندازه گیری حجم گلبول قرمز خون به کار رفته و برحسب درصد حجم گلبول قرمز نسبت به حجم کل خون بیان می‌گردد. این آزمایش امروزه به عنوان ساده ترین تست تفکیکی برای کم خونی به کار گرفته می-

شود(۵۲، ۶). در ارتباط با شوری در میزان هماتوکریت و هموگلوبین ماهیان این تحقیق اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد(P ۰/۰۵). در مطالعه‌ی Imsland و همکاران(۲۰۰۸) مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس پس از پرورش ماهی درشوری-های مختلف تغییر نیافت(۳۷). در مطالعه بر روی ماهی استروژن سفید(۴۲) و مطالعه‌ی Lim و همکاران در سال ۲۰۰۵، میزان هماتوکریت خون با افزایش شوری کاهش یافت(۳۸). در مطالعه روضاتی و همکاران در سال ۱۳۹۲، روی بچه ماهی کپور تغییرات معنی‌دار هماتوکریت بین تیمارهای مختلف در ارتباط با شوری مشاهده شد(۹). محمدی مکوندی و همکاران(۱۳۹۰)، بیان کردند که با افزایش شوری میزان هموگلوبین و هماتوکریت خون ماهی کپور نقره‌ای کاهش یافته و تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصل از مطالعات مختلف اثر تغییرات فاکتورهای محیطی بر شاخص‌های خونی ممکن است در یک محدوده به صورت افزایشی و در محدوده دیگر به صورت کاهشی باشد که می‌تواند ناشی از تفاوت در محدوده بهینه شوری هر ماهی و هم چنین قابلیت ویژگی های تطابقی ماهی با تغییرات شوری باشد(۴۴، ۱۵). نتایج این تحقیق با مطالعه(۵۵، ۱۴) هم‌خوانی داشته که آن را به علت عدم وابستگی تغییرات اسمزی با نیاز اکسیژنی ماهی دانسته‌اند. دلیل عدم ارتباط معنی دار بین شوری با هماتوکریت و هموگلوبین را به این دلیل می‌توان ارتباط داد که در تحقیقات محققین ذکر شده شوری به طور ناگهانی بالا رفت، ولی در تحقیق حاضر روند تغییرات شوری در داخل تانک‌ها تدریجی بوده که از این نظر با تحقیقات صورت گرفته توسط Luz و همکاران(۲۰۰۸) که پس از ۲۱ روز قرار گرفتن ماهی کاراس طلایی در معرض شوری میزان هماتوکریت و هموگلوبین تحت تاثیر قرار نگرفت و علت آن را سازش ماهی و افزایش تدریجی شوری و هم چنین طولانی بودن دوره مطالعه معرفی کردند، هم‌خوانی داشت(۴۰). دلیل دیگر این تناقض ممکن است به خاطر این باشد که طول دوره‌ی آزمایش در این تحقیق، بلند در نظر گرفته شد بنابراین احتمالاً این مدت نتوانسته است کاهش متابولیسم را در بچه ماهیان موجب شود و بچه ماهیان به نحوی خود را با این استرس سازگار کرده اند. تغییر در پارامترهای هماتولوژیکی از جمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. به‌طور کلی بخشی از پاسخ‌های مختلف به شوری وابسته به تفاوت‌های خاص هرگونه در ویژگی‌های خود گلبول‌های قرمز خون است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد(۶) که می-تواند اثر خود را به صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و هم چنین تغییر میزان هماتوکریت نشان دهد(۹). در میان سلول‌های خونی گلبول‌های سفید نقش ایمنی را به عهده دارند. از گلبول‌های سفید خون به عنوان شاخص وضعیت سلامت ماهیان استفاده می‌شود، زیرا گلبول‌های سفید خون از ترکیبات کلیدی گلبول-های دفاعی هستند. گلبول‌های سفید جزء مکانیسم ایمنی غیر اختصاصی(سلولی) به شمار می آیند. تعداد گلبول-های سفید در خون ماهیان از لحاظ تعداد کمتر(۱۵۰ تا ۲۰۰ هزار عدد در میلی متر مکعب) از گلبول‌های قرمز است(۱۲). در این تحقیق با کاهش میزان شوری آب، تعداد گلبول‌های قرمز در بین تیمارهای مختلف آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد(P ۰/۰۵). در بررسی تعداد گلبول‌های سفید این تحقیق نیز با این که اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها با هم مشاهده نشد (P ۰/۰۵)، اما با این حال با کاهش شوری، تعداد گلبول‌ها کاهش پیدا کرد. سلاطی و همکاران در سال ۱۳۸۹ اظهار داشتند، با قرارگیری ماهی کپور معمولی در برابر شوری‌های مختلف، تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش شوری، افزایش یافت(۱۱). زمینی و همکاران در

سال ۱۳۸۶، با مطالعه تأثیر نوسانات شوری بر تعداد گلبول‌های قرمز خون بچه ماهیان انگشت قد تاس ماهی ایرانی نشان دادند که گلبول‌های قرمز در شوری‌های ۴، ۸ و ۱۲ گرم در لیتر اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند(۱۰). حسینی و همکاران(۱۳۹۱) بیان کردند با افزایش شوری تعداد گلبول‌های قرمز کاهش یافت(۶). مطالعه‌ی Lim و همکاران در سال ۲۰۰۵، روی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان، بیان داشت که استرس شوری سبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌شود، که علت این کم خونی پیش آمده را از دست دادن آب گلبول‌ها دانستند(۳۸). نصیری و همکاران (۱۳۸۶) با بررسی گلبول‌های سفید و قرمز بچه تاس ماهی انگشت قد ایرانی در شوری‌های مختلف نشان دادند که تعداد گلبول‌های سفید با افزایش شوری افزایش یافته ولی در گلبول‌های قرمز هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نکردند(۲۱). در مطالعه Farabi و همکاران(۲۰۰۷) بر روی بچه ماهی سفید، با افزایش شوری در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید(۳۵). مسائلی و همکاران در سال ۱۳۸۹، با مطالعه بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان، اظهار داشتند میانگین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون با افزایش شوری افزایش پیدا نمود(۱۷). در مطالعه‌ی روضاتی و همکاران(۱۳۹۲)، نیز با افزایش شوری تعداد گلبول‌های قرمز خون بچه ماهی کپور به‌طور معنی‌داری افزایش یافت(۹). بررسی حسینی و همکاران(۱۳۹۱) روی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان کاهش گلبول‌های سفید با افزایش شوری را نشان داد که علت آن را در ماهیت عملکردی این یاخته‌ها در بدن دانسته است(۶). هنگامی که ماهیان دریایی در معرض آب شیرین قرار می‌گیرند، به این دلیل که مایعات بدن غلیظ تر از آب پیرامون آن‌ها است بر اساس خاصیت اسمزی مقدار زیادی آب جذب می‌کنند. در واقع نیروی اسمزی باعث حرکت آب از محیط پیرامون به سمت بدن ماهی و جذب آب در بدن می‌شود. اولین راهکار ماهیان برای جلوگیری از این امر، از دست دادن آب به مقدار زیاد است، اما چنان چه بچه ماهیان موفق به تنظیم اسمزی پلاسمای خون خود نشوند ممکن است پدیده‌ی رقیق شدن سلول‌های خونی اتفاق بیفتد. به عبارتی سلول‌های خونی با جذب آب مواجه می‌شوند که چنان چه ادامه داشته باشد ممکن است این سلول‌ها تخریب شوند. اما با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار در تیمارهای این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت دهیدراته شدن و تخریب گلبول‌های قرمز به شکل معنی‌داری اتفاق نیفتاده است. دلیل عدم اختلافات معنی‌دار درتعداد گلبول‌های سفید در مطالعه حاضر را می‌توان مقاومت بدنی ماهیان به این نوع استرس و ذخایر زیاد انرژی موجود در ماهیان دانست(۸). بنابراین می‌توان عنوان کرد این تیمارهای شوری نتوانسته‌اند سبب تخریب سیستم ایمنی شوند و بچه ماهیان توانستند در این شوری‌ها فیزیولوژی خون بدن خود را در حد ثابتی نگه دارند و خود را با استرس ایجاد شده طی این مدت طولانی سازگار کنند. کاهش در تعداد گلبول‌های سفید ممکن است به علت صدمه پذیری توانایی سیستم دفاعی بدن ماهی طی استرس وارد شده در طول مدت آزمایش باشد. بنابر این در مطالعه‌ی انجام شده با وجود معنی‌دار نبودن اختلاف بین تیمارها می‌توان نتیجه گرفت که سطوح شوری طولانی مدت نتوانسته است سطح ایمنی بدن ماهی سی باس و مقاومت آن در طی این استرس را کاهش دهد. اندازه‌گیری گلبول‌های سفید (درصد و نوع آن‌ها)، در تعیین وضعیت عمومی ماهی کاربرد فراوانی می‌تواند داشته باشد. در ارتباط با درصد گلبول‌های سفید، اتفاق نظر محققین در این است که درصد لنفوسیت‌ها در اغلب ماهیان از دیگر گلبول‌های سفید بیشتر است(۲۴). انواع گلبول‌های سفید ماهیان شامل لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها(ماکروفاژها)، ترومبوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها(بازوفیل،

نوتروفیل و ائوزینوفیل) است که همگی سلول‌های فاگوسیتی هستند که بیشترین نقش رادر فاگوسیتوز ماکروفاژها و بعد از آن نوتروفیل‌ها بر عهده دارند(۱۲). بیشترین میزان را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند که سلول-هایی کروی تا بیضوی شکل با هسته‌های مشخص و تقریباً کروی هستند که قسمت اعظم سیتوپلاسم را در بر گرفته‌اند و درصدشان در نابالغین بیشتر از مولدین است(۱۶). در این تحقیق در شمارش افتراقی میزان لنفوسیت بیشتر مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان آن در تیمارهای مختلف شوری مشاهده نشد($p>0/05$). در مطالعه‌ی مسائلی و همکاران(۱۳۸۹) میزان لنفوسیت در خون ماهیان قزل آلای رنگین کمان در آب لب شور افزایش معنی‌داری نسبت به آب شیرین نشان داد(۱۷). در مطالعه‌ی حسینی و همکاران(۱۳۹۱) هم که درصد لنفوسیت‌ها بیشتر از سایر لوکوسیت‌ها بود اظهار داشتند، عدم اختلاف درصد لنفوسیت‌ها در تیمارهای مختلف بیان‌گر عدم تخریب یاخته‌های سفید توسط شوری‌های مورد آزمون بوده و می‌توان نتیجه گرفت که استرس ایجاد شده در مرحله حاد و مزمن نبوده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت داشت(۶). میزان شاخص‌های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) در این تحقیق با کاهش شوری آب اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف نشان نداد($p>0/05$). سلاطی و همکاران در سال ۱۳۸۹بیان کردند، شاخص‌های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) تابعی از تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین هستند که با تغییر در مقدار فاکتورهای هماتولوژیکی خون تغییر می‌یابند که در این مطالعه شاخص‌ها کاهش یافته که علت آن را افزایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت دانسته که در مقابل آن مقدار این پارامترها نسبت به حجم خود گلبول کاهش یافته است(۱۱). مسائلی و همکاران(۱۳۸۹) افزایش معنی‌دار شاخص‌های گلبولی را با افزایش شوری نشان دادند(۱۷). روضاتی و همکاران(۱۳۹۲) بیان داشتند شاخص MCV و MCH با افزایش شوری کاهش یافته و MCHC در درجات متوسط بیشترین مقدار را داشت(۹). تغییر در این پارامترها می‌تواند ناشی از تغییر در تعداد و ابعاد گلبول‌های قرمز و میزان ذخیره هموگلوبین آن و از طرف دیگر تحت تاثیر تغییرات حجم پلاسما باشد، هم چنین تغییر شاخص‌های محاسبه‌ای گلبول‌های قرمز بیشتر مربوط به تغییر عوامل فیزیولوژیکی و محیطی است(۳۱). بنابراین با وجود عدم تغییر در سایر فاکتورهای خونی این ماهی در شوری‌های مختلف، عدم اختلاف معنی‌دار در این شاخص‌ها با نتایج بدست آمده تطابق داشت. حسنعلی‌پور اربوسرا و همکاران در سال ۱۳۹۲، با مطالعه-ی بررسی اثرات استرس بر تاس‌ماهی ایرانی بیان می‌کنند عوامل متعددی در نتایج متفاوت بدست آمده توسط محققین دخالت دارد که نوع گونه‌ی مورد مطالعه، طراحی و شرایط آزمایش از جمله مهم ترین آن-هاست(۵). پاسخ به یک عامل استرس‌زا به طول دوره‌ی قرارگیری در معرض آن و شدت تاثیرگذاری آن بستگی دارد(۲۸). Mommsen و همکاران(۱۹۹۹)، بیان می‌کنند که باید بین تیمارهای کوتاه مدت و دراز مدت تمایز قائل شد(۴۳). بر اساس نظریه‌ی Gollock و همکاران در سال ۲۰۰۵، ماهیان به استرس‌های دوره‌ای پس از گذشت مدت زمانی عادت می‌کنند(۳۶). هم چنین از نقش مهم نوع گونه در تاثیر یا عدم تاثیر عامل استرس‌زا نباید غافل بود(۵۰). مطالعه‌ی موحدی‌نیا و همکاران در سال ۱۳۸۸، بر ماهی یوری هالین شانک زردباله نیز نشان داد ماهی قادر بود تا مواجه شدن با تغییر تدریجی کاهش شوری محیط از آب دریا به آب شیرین را بدون تلفات و تغییرات معنی‌دار در فاکتورهای خون‌شناسی تحمل کند و پس از آن تا پایان دوره‌ی ۳۰ روزه آزمایش سازش موفقی با آب شیرین داشته باشد(۲۰). بنابراین، این ماهی احتمالاً قابلیت تحمل شوری‌های مختلف را از طریق

توانایی تنظیم اسمزی و حفظ تعادل الکترولیت‌ها را در محیط هیپواسمتیک دارا می‌باشد(۲۳، ۲). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد ماهیانی که در زمان قرار گرفتن در معرض شوری‌های مختلف آب دچار استرس چندانی شده و فاکتورهای خونی و ایمنی مرتبط با استرس در آن‌ها تغییر چندانی ندارد در گروه ماهیان مقاوم به شوری (Euryhaline) قرار می‌گیرند(۲۳، ۲۰). در کل نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، با درنظر گرفتن زمان طولانی قرارگیری در معرض استرس شوری در این تحقیق(۳۰ روز) و سازش قبل از آن، تغییر تدریجی کاهش شوری محیط از آب دریا به آب شیرین، نوع گونه‌ی مقاوم و سازگار با شرایط و یوری هالین ماهی سی باس آسیایی و عدم حساسیت این ماهی به شوری و مدیریت صحیح سیستم‌های پرورشی این نتایج قابل پیش بینی و با مطالعات سایر محققین هم خوانی دارد. این پژوهش با هدف بررسی تغییرات فاکتورهای خونی این ماهی در شوری‌های مختلف انجام شده ولی در آینده و تحقیقات دیگری با بررسی شرایط رشد و پرورش و وضعیت فیزیولوژیکی آن می‌توان شرایط پرورش این ماهی در انواع منابع آبی مختلف کشور با شوری‌های متفاوت را فراهم کرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با مساعدت مرکز تحقیقات دانشگاه خلیج فارس بوشهر و همکاری پرسنل این مجموعه همچنین با یاری صمیمانه‌ی آقای دکتر وحید مرشدی و مهندس هادی ابراهیمی انجام شده که نهایت تشکر از این عزیزان و آرزوی موفقیت برای همه‌ی آن‌ها را داریم.

منابع

۱–بهمنی، م.، کاظمی، ر.، امینی،ک.، محسنی، م.، دونتسکاپا، پ.، پیسکونوا، ل. ۱۳۷۷. ارزیابی کیفی تاس ماهیان چند ساله در شرایط پرورش مصنوعی. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. ۷۵ص.

۲– بهمنی، م.، یوسفی جوردهی، ا. ۱۳۹۰. قابلیت سازگاری لاروهای ۲۰ روزه تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*) در شوری های مختلف. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴. شماره ۵ . صفحه ۶۷۸–۶۶۹.

۳–جمالزاده، ح.، کیوان، ا.، جمیلی، ش.، عریان، ش.، سعیدی، ع. ۱۳۸۱. بررسی فاکتورهای خونی آزاد ماهی دریای خزر. مجله علمی شیلات. سال یازدهم. شماره ۱. صفحه ۳۴–۲۵.

٤– حافظ امینی، پ. ۱۳۸۲. بررسی اثرات ناشی از استرس کلروسدیم روی قندخون و هورمون کورتیزول در ماهی کپورمعمولی. مجله علمی شیلات ایران. سال دوازدهم. شماره ۳. ص: ۴۲–۳۵.

۵– حسنعلی پور اربوسرا، ع.، محمود بهمنی، م.، یاوری، و.، محسنی، م.، کاظمی ، ر.، پاشا زانوسی، ح.، مرشدی، و. ۱۳۹۱. بررسی اثرات تراکم های مختلف ذخیره سازی بر روی سطوح کورتیزول تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) مجله پژوهش های جانوری(مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۶. شماره ۲. صفحه ۱۶۲–۱۵۴.

٦– حسینی، پ.، وهاب‌زاده رودسری، ح.، صیاد بورانی، م.، کاظمی، ر.، زمینی، ع. ۱۳۹۱. بررسی اثرات ناشی از افزایش شوری آب بر برخی از فاکتورهای خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی–پژوهشی زیست شناسی دریا. سال۴. شماره ۱۴. ۵۶–۴۵.

۷– رحیمی بشر، م.، تهرانی فرد، ا.، قاسمی نژاد، ا.، علیپور، و.، فلاح چای، م. ۱۳۸۶. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frissii* Kutum) در مراحل مختلف رشد گنادی. مجله علوم زیستی واحد لاهیجان. سال اول. پیش شماره سوم. صفحه ۵۶–۴۵.

۸– رعنای اخوان، س.، اسلاملو، خ.، جمال‌زاده فلاح، ف. ۱۳۹۱. اثر استرس های حاد بر تغییرات کورتیزول، آنتی پروتئاز و پارامترهای خونی ماهیان طلائی (*Carassius auratus*) مجله توسعه آبزی پروری. سال ششم. شماره دوم. صفحه ۲۳–۳۵.

۹– روضاتی، ع.، حقی، ن.، آورجه، س. ۱۳۹۲. اثرات استرس شوری و دما بر فاکتورهای خونی بچه ماهی کپور (*Cyprinus carpio*). فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال اول. شماره دوم. صفحه ۱۱۳–۹۵.

۱۰– زمینی، ع.، محمودی، ک.، جلیل پور، ج. ۱۳۸۶. تأثیر نوسانات شوری بر تعداد گلبول های سفید و قرمز خون بچه ماهیان انگشت قد تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*). فصلنامه علمی -پژوهشی علوم زیستی واحد لاهیجان. پیش شماره دوم. سال اول. ۵۰–۳۴.

۱۱– سلاطی، ا.م.، باغبان زاده، ع.، سلطانی، م.، پیغان، ر.، ریاضی، غ.ح. ۱۳۸۹. پاسخ پارامترهای هماتولوژیکی و متابولیتی پلاسما نسبت به درجات شوری مختلف در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*). مجله بین المللی تحقیقات دامپزشکی. دوره ۴. شماره ۱. صفحه ۵۲–۴۹.

۱۲– سلطانی، م. ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان وسخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.

۱۳– عطائی‌مهر، ب.، مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع.، نظامی، ش.، ریاضی، غ. ۱۳۸۹. اثر شوری‌های مختلف بر میزان املاح، فشار اسمزی، آب بافت بدن، سلول‌های کلراید آبششی و درصد تلفات بچه ماهی سفید(*Rutilus frisii* kutum). مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم. شماره۲. صفحه ۱۳۰–۱۱۵.

۱٤– عنایت غلامپور، ط.، ایمانپور، م.، حسینی، ع.، شعبانپور، ب. ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص های رشد، میزان بازماندگی، غذا گیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید(*Rutilus frisii* kutum) . مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴. شماره ۴. صفحه ۴۱۷–۴۰۹.

۱۵– محمدی مکوندی، ز.، کوچنین، پ.، پاشا زانوسی، ح. ۱۳۹۰. بررسی اثرات شوری بر مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت ماهی کپور نقره ای انگشت قد(*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله تالاب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز .سال دوم .شماره هفتم. ص: ۱۷–۱۱.

۱٦– محمدی ،م.، تجری، م.، شانسی، ن.، کلنگی میاندره، ح.، عظیمی، ع.، هاشمی رستمی، ا. ۱۳۹۱. نوسانات شوری بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه تاس ماهی انگشت(*Acipenser persicus*) قد ایرانی. مجله توسعه آبزی پروری. سال ششم. شماره دوم. صفحه ۷۹–۶۷.

۱۷– مسائلی، ش.، حسین‌زاده صحافی، ه.، علیزاده، م.، نگارستان، ح. ۱۳۸۹. مقایسه فاکتورهای خونی و میزان رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhyncus mykiss*). در آب لب شور و شیرین. مجله علوم و فنون دریایی. شماره دوم. صفحه ۸۲–۷۵.

۱۸– مکوندی، ه.، خدادادی، م.، کیوان شکوه، س.، محمدی مکوندی، ز. ۱۳۹۰. تاثیر استرس شوری بر مقادیر هورمون کورتیزول و گلوکز ماهی کپور علفخوار انگشت قد(Ctenopharyngodon idella). مجله آبزیان و شیلات. سال دوم. شماره ۸ صفحه ۸۴–۷۷.

۱۹– موحدی‌نیا، ع.، سواری، ا.، سلاطی، ا. ۱۳۹۱. سازگاری-های فراساختاری آبشش ماهی شانک زرد باله(*Acanthopagrus latus*) تحت شرایط اسمزی مختلف. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۲. شماره۲. ۱۷۴–۱۶۵.

۲۰– موحدی نیا، ع.، سواری، الف.، مروتی، ح.، کوچکنین، پ.، هدایتی،ع. ۱۳۸۸. پاسخ های هورمونی ماهی شانک زرد باله(*Acanthopagrus latus*) در سازش با شوری های مختلف محیطی. مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۸ شماره ۳ و ۴. صفحه ۱۴–۱.

۲۱– نصیری، ل. ۱۳۸۶. بررسی اثرات استرس زایی نوسانات شوری بر تاس ماهی انگشت قد ایرانی با تاکید بر شاخص‌های خونی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد لاهیجان. ۹۸ص.

۲۲– نعمت اللهی، م.ع. ۱۳۸۹. پاسخ به اسارت در تور در ماهی کپور معمولی(Cyprinus carpio). نشریه شیلات. مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۳. شماره ۱. صفحات ۴۷–۳۹.

۲۳–نفیسی بهابادی، م. ۱۳۹۳. تغییر شاخص های رشد و پاسخ های هورمونی ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) در مرحله انگشت قدی در سازش با شوری های مختلف محیط پرورشی. مجله پژوهش های جانوری(مجله زیست شناسی ایران). جلد ۷. شماره ۳. صفحه ۴۲۹–۴۱۷.

۲۴-وثوقی،غ.، شاهسونی، د.، پیغان، ر. ۱۳۷۶. بررسی فاکتورهای خونی ماهی حوض. مجله دانشکده دامپزشکی. دانشگاه تهران. دوره ۵۲. شماره۴. صفحات ۷۰-۶۱.

25. Allen, G.R., Midgley, S.H, Allen, M. (2002). Field guide to the freshwater fishes of Australia. Western Australian Museum, Perth, Western Australia, 394 p.

26. Barros, M. M.; Lim, C.; Klesius, P. H. (2002). Effect of iron supplementation to Cottonseed meal diets on growth performance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Appl. Aquac, 10(65); 86.

27. Barton, B.A. (2002) Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integ and Comp.Biol, 42; 517-525.

28. Bayunova, L., Barannikova, I., Semenkova, T. (2002). Sturgeon stress reaction in aquaculture. Appl. Ichthyol, 18; 397-404.

29. Blaxhall, P. C.; Daisley, K. W. (1973). Routine hematological methods for use fish with blood. J. Fish Biol, 5; 771-781.

30. Boutet, I., LongKy, C.L., Bonhomme, F. (2006). A transcriptomic approach of salinity response in the euryhaline teleost,(*Dicentrarchus labrax*). Gene, 379; 40 - 50.

31. Carvalho, W.F. (1994). Te´cnicas me´dicas de hematologia e imunohematologia. Coopmed Editora, Belo Horizonte. Brazil, 8; 891-894.

32. Chen, C., Wooster, G.A., Bowser, P.R. (2004). Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with Vibrio vulnificus or Streptococcus iniae or exposedto carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. Aquaculture, 239; 421-443.

33. Denson, M., Stuart, K., Smith, T. (2003). Effects of salinity on growth, survival, and selected hematological parameters of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Journal of the World Aquaculture Society. Soc., 34(4); 496-504.

34. Drobkin, D. R. (1945). Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: a proposal for the standardization of hemoglobin. Am. J. Med. Sci., 209; 268-270.

35. Farabi, S. M. V., Hajimoradloo, A., Bahmani, M. (2007). Study on salinity tolerance and some physiological indicators of ion-osmoregulatory system in juvenile beluga, Huso huso (Linnaeus, 1758) in the south Caspian Sea: Effect of age and size. Iranian J. of Fisheries Sciences, 6 (2); 15-32.

36. Gollock, J., R.kennedy,C., Brown, J.A. (2005). Physiological responses to acute temperature increase in European eels, *Anguilla anguilla*, infected with *Anguillicola crassus*. Dis. Aquat. Org., 64; 223-228.

37. Imsland, A.K., Gústavsson, A., Gunnarsson, S., Foss, A., Árnason, J., Arnarson, I. (2008). Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 274; 254–259.

38. Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Welker, T. (2005). Effect of feeding duration of sodium chloride containinig diets on growth performance and some stress and fish. Academic press, London, 247-275.

39.López-Olmeda, C., Oliveira, H., Kalamarz, E., Kulczykowska, M.J., Delgado, F.J., Sánchez, V. (2009). Effects of water salinity on melatonin levels in plasma and peripheral tissues and on melatonin binding sites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Comparative Biochemistry and Physiology, 152; 486–490.

40. Luz, R. K., Martinez-Alvarez, R.M., De Pedro, N., Delgado, M.G. (2008). Growth, food intake and metabolic adaptations in gold fish(*Carassius auratus*) exposed to different salinities. Aquaculture, 276; 171-178.

41. Mathew, G. (2009). Taxonomy, identification and biology of Seabass(*Lates calcarifer*). National Training on 'Cage Culture of Seabass' held at CMFRI, Kochi, 14 - 23 December.

42. Mojazi Amiri, B., Baker, D.W., Morgan, J.D., Brauner, C.J. (2009). Size dependent early salinity tolerance in two sizes of juvenile white sturgeon *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 286; 121–126.

43. Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., Moon, T.W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Review in Fish Biology, 9; 211 268.

44. Morgan, l.D., Iwama, G.K. (1991). Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus myskiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 48; 2083-2094.

45. Moustakas, C.T., Watanabe, W.O., Copeland, K.A. (2004). Combined effects of photoperiod & salinity on growth, survival & osmoregulatory ability of larval Southern

flounder (*Paralichthys lethostigma*). Aquaculture, 229; 159-179.

46. Paterson, B.D., Rimmer, M.A., Meikle, G.M., Semmens, G.L. (2003). Physiological responses of the Asian sea bass, Lates calcarifer to water quality deterioration during simulated live transport: acidosis, red-cell swelling, and levels of ions and ammonia in the plasma. Aquaculture, 218; 717-728.

47. Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M.L., Schreck, C.B. (2006). Whole- body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, Daniorerio. Aquaculture, 258; 565- 574.

48. Rehulka, J. (2000). Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout. Aquaculture, 190; 27-47.

49. Rubio, V.C., Sánchez- Vázquez, F.J., Madrid, J.A. (2005). Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass. Physiol. and Behavior, 85(3); 333-339.

50. Salonius, K., Iwama, G.K. (1993). Effect of early rearing environment on stress response, immune function, and disease resistance in Juvenile Coho (*Oncorhynchus kisuth*) and *Chinook salmon*. Can. J. fish Aqual.Sci, 50;759-766.

51. Singh, R.K. (2000). Growth, survival and production of *Lates calcarifer* in a seasonal rain fed coastal pond of the Konkan region. Aquaculture, 8; 55-60.

52. Tabarestani, M. (1985) .Medical hematology. Mashhad university press. Mashhad, Iran, 4(3); 209.

53. Tang, C.H., Lee, T.H. (2007). The effect of environmental salinity on the protein expression of Na+/K+-ATPase, $Na^+/K^+/2Cl^-$ cotransporter, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, anion exchanger, and chloride channel 3 in gills of a euryhaline teleost, (*Tetraodon nigroviridis*). Comparative Biochemistry and Physiology, 147; 521-528.

54. Vosylien , M.Z., Baltr nas, P., Kazlauskien , A. (2006). Toxicity of road maintenance salts to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Ekologija. Nr, 2; 15–20.

55. Ziegeweid, J.R., Black, M.C. (2010). Hematocrit and plasma osmolality values of young-of-year shortnose sturgeon following acute exposures to combinations of salinity and temperature. Fish Physiology and Biochemistry, 36; 963–968.