



University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: <https://jae.hormozgan.ac.ir>



Effect of salinity changes on the antioxidant enzymes in the blood plasma of grey mullet (*Mugil cephalus*, Linnaeus, 1758)

Zahra Azarian¹, Mehran Loghmani¹✉, Mohammad Mansour Tootooni¹

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar University of Maritime and Marine Sciences, Chabahar, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 15 March 2025

Accepted: 24 April 2025

Published: 5 May 2025

✉ Corresponding Author:

loghmani.mehran@gmail.com

Keywords:

salinity,
Mugil cephalus ,
enzyme,
blood plasma,
Makran Sea.

ABSTRACT

This study investigated the effects of salinity fluctuations on antioxidant enzyme activity in the blood plasma of gray mullet (*Mugil cephalus*). Fish specimens were obtained from the Chabahar Distant Waters Fisheries Research Center and exposed to salinity treatments of 5, 20, and 50 g/L, with 40 g/L serving as the control. Blood samples were collected from the caudal peduncle on days 1, 7, and 21 of the experiment, and the activity levels of three antioxidant enzymes—catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx)—were measured in plasma. The lowest CAT activity was recorded in the 20 g/L treatment on day 21, with no significant difference compared to the control and 5 g/L treatments ($p \geq 0.01$). The highest CAT activity was observed in the 50 g/L treatment. SOD activity was lowest in the control and 5 g/L treatments on day 21 and was significantly lower than in the 20 and 50 g/L treatments ($p \leq 0.01$). The highest SOD activity occurred in the 50 g/L treatment. GPx activity was lowest in the control group on day 21 and was significantly lower than in all other treatments ($p \leq 0.01$), while the highest GPx activity was observed in the 20 g/L treatment. Overall, the results demonstrate that salinity fluctuations significantly influence the activity of antioxidant enzymes in *M. cephalus*, potentially affecting physiological responses and growth performance.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The flathead mullet (*Mugil cephalus*) is a euryhaline benthopelagic species that inhabits marine, brackish, and freshwater environments. It is commonly found near the bottom of water bodies and exhibits migratory behavior, moving from rivers to coastal areas for spawning. This species occupies a depth range of 0–120 meters—typically within the top 10 meters—and thrives in tropical, subtropical, and temperate regions at temperatures ranging from 8°C to 24°C. Salinity is a major environmental factor influencing fish physiology, particularly osmoregulation, which affects survival, metabolism, immune response, and growth. The ability of fish to adapt to salinity changes is crucial for maintaining cellular homeostasis and metabolic balance. This study aims to investigate the effects of salinity fluctuations on the activity of antioxidant enzymes in the blood plasma of *M. cephalus* in the Makran Sea region.

Materials and Methods

A total of 110 flathead gray mullet specimens (average weight: 23.75 ± 2.45 g) were collected from the Oman Sea Aquaculture Reproduction and Rearing Center in Chabahar and transported to the Fisheries Laboratory of Chabahar Maritime University. The fish were transported in 80-liter aerated tanks under controlled oxygen and salinity conditions to minimize transport-induced stress. Fish were randomly assigned to four treatment groups with different salinity levels: 5, 20, and 50 ppt, as well as a control group maintained at 40 ppt (representing ambient seawater salinity). Blood samples were collected from the caudal peduncle on days 1, 7, and 21 of exposure. Plasma levels of three antioxidant enzymes—catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx)—were measured using standard biochemical assays.

Results

Catalase activity: The lowest CAT activity was recorded in the 20 ppt group on day 21, with no statistically significant difference compared to the 5 ppt and control (40 ppt) groups ($p \geq 0.01$). The highest CAT activity occurred at 50 ppt, indicating a strong oxidative stress response to high salinity exposure. **Superoxide Dismutase activity:** SOD levels were lowest in the control and 5 ppt groups on day 21 and significantly lower than those observed in the 20 and 50 ppt groups ($p \leq 0.01$). The highest SOD activity was found in the 50 ppt treatment, suggesting an elevated scavenging response to superoxide radicals under high salinity stress. **Glutathione Peroxidase activity:** The lowest GPx activity was observed in the control group on day 21, with significant differences compared to all other salinity treatments ($p \leq 0.01$). Interestingly, the highest GPx activity was recorded in the 20 ppt treatment, possibly reflecting an adaptive response to moderate salinity-induced stress.

Conclusion

The findings of this study demonstrate that salinity changes significantly affect the physiological and biochemical responses of *M. cephalus*. In particular, oxidative stress increases at both moderate and high salinity levels, as evidenced by altered activity of key antioxidant enzymes. While moderate salinity (20 ppt) elicited a strong but potentially adaptive enzymatic response, extreme salinity (50 ppt) induced marked oxidative stress that may compromise fish health and growth. These results underscore the importance of understanding salinity tolerance thresholds for aquaculture and environmental management. Optimizing

salinity conditions in rearing environments can help reduce stress, support immune function, and improve growth performance in *M. cephalus*. Moreover, monitoring antioxidant enzyme activity can serve as a useful biomarker for assessing sub-lethal stress in fish under varying environmental conditions.

تأثیر تنشهای شوری بر آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی در پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*, Linnaeus, 1758)

زهرا آذرین^۱، مهران لقمانی^۱✉، محمد منصور توتونی^۱

۱. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۲/۱۵

✉ نویسنده مسئول:

loghmani.mehran@gmail.com

کلیدواژه‌ها:

شوری،

Mugil cephalus,

آنزیم،

پلاسمای خون،

دریای مکران.

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر تغییرات شوری بر فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی در پلاسمای خونی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) انجام شد. در این پژوهش، نمونه‌های ماهی از مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار تهیه شد و در تیمارهای شوری ۵، ۲۰، ۵۰ و گروه شاهد (۴۰ گرم در لیتر) مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از پایان هر مقطع آزمایش (روز ۱، ۷ و ۲۱) و خون‌گیری از ساقه دم، سنجش تغییرات آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) در پلاسمای انجام شد. کمترین غلظت CAT در تیمار ۲۰ گرم در لیتر و در روز بیست و یکم ثبت شد که با گروه شاهد و تیمار ۵ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشت ($p \geq 0.01$). بیشترین غلظت CAT در شوری ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد. کمترین میزان SOD در گروه شاهد و تیمار ۵ گرم در لیتر و در روز بیست و یکم مشاهده شد که اختلاف آن‌ها با تیمارهای غلظت ۲۰ و ۵۰ گرم در لیتر معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). بیشترین غلظت SOD در تیمار ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد. کمترین غلظت GPx نیز در گروه شاهد و در روز بیست و یکم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با همه تیمارها داشت ($p \leq 0.01$). بیشترین غلظت GPx در تیمار ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد. نتایج نشان داد که نوسانات شوری باعث تغییرات معنی‌داری در غلظت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی ماهی کفال خاکستری و به دنبال آن، تأثیر بر رشد آن می‌شود.



ناشر: دانشگاه هرمزگان.

مقدمه

ماهیان پرورشی در معرض تغییرات مختلف محیطی و عوامل استرس‌زا مانند دستکاری، حمل و نقل، تغییر کیفیت آب و محیط قرار دارند. به‌طور کلی، حساسیت بیشتر ماهی به استرس نسبت به سایر موجودات پرورشی عمدتاً به دلیل وابستگی به محیط اطراف آن‌ها است. بنابراین، پرورش‌دهندگان ماهی به دلیل تغییر در اجزای محیطی (فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی) که برای ماهیان مهملک هستند، چالش‌های مربوط به حفظ عرضه مداوم محصولات به بازار را تحمل می‌کنند. بنابراین مطالعه پاسخ‌های ایمنی ماهی به تغییرات پارامترهای محیطی ضروری است تا به شناخت پرورش دهندگان از نحوه سازش ماهیان پرورشی در مواجهه با چنین تغییراتی کمک نماید. علاوه بر این، برای پاسخ‌گویی به تقاضای روزافزون مصرف ماهی، مهم است که پرورش‌دهندگان توجه خود را بر پرورش گونه‌هایی با مقاومت بالا در برابر فشارهای عصبی و استرس متمرکز کنند (Nazarudin et al., 2016). به علاوه، استرس در ماهیان سبب اختلال در رشد، رفتار، تولیدمثل، عملکرد سیستم ایمنی بدن و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود و به دنبال آن بر هم خوردن تعادل و اختلال در هموستازی رخ خواهد داد (Mesbah et al., 2014). تغییر شوری از جمله عواملی است که بر بقاء، متابولیسم و رشد ماهی تأثیر می‌گذارد. در یک زیستگاه معین بازماندگی یک گونه ماهی در هر مرحله از رشد به توانایی برای کنار آمدن با تغییر شوری از طریق تنظیم اسمزی بستگی دارد. در پرورش آبریان دریایی، شوری یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در رشد و بقای ماهی است. زیرا، تغییرات آن ممکن است باعث انواع واکنش‌های استرس‌زای فیزیولوژیکی شود که با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) همراه است. برای مقابله با آسیب احتمالی ناشی از اکسیژن واکنشی بیش از حد و حفظ هموستاز، موجود زنده یک مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی متشکل از دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی ایجاد می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند. در تحقیقات بیولوژیکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اغلب به‌عنوان شاخص‌های مهم کیفیت محیط در نظر گرفته می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) هستند و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی عبارت‌اند از ویتامین E، ویتامین C، ویتامین A، سلنیوم (Se)، ترانسفرین و لاکتوفرین. آنتی‌اکسیدان‌ها غالباً درون سلولی و گاه خارج سلولی هستند (Sarıkaya and Doğan, 2020).

ماهی کفال خاکستری (*M. cephalus*) در محیط‌های دریایی، آب لب شور و آب شیرین پراکنش دارد و جزء گونه‌های بنتوپلاژیک است. به اصطلاح، پایین‌رو است و برای تخم‌ریزی از رودخانه به سمت دریا مهاجرت می‌کند (Riede, 2004). دامنه تغییرات عمق شنای این ماهی ۰ - ۱۲۰ متر و معمولاً ۰ - ۱۰ متر است و در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل با دمای ۸ - ۲۴ درجه سانتی‌گراد زیست می‌کند (Moreira et al., 1992) به‌طور گسترده در استخرهای آب شیرین و شور پرورش داده می‌شود و جزء ماهیان استخوانی با ارزش تجاری بالا می‌باشد (Akbari and Amini khoei, 2018). هدف از این مطالعه، بررسی اثرات تغییر شوری به عنوان یک عامل استرس‌زا، بر غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در خون ماهی کفال خاکستری در دریای مکران می‌باشد.

مواد و روشها

۱۱۰ قطعه ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی $23/75 \pm 2/45$ گرم از حوضچه‌های پرورشی مرکز تکثیر و پرورش آبریان دریای عمان - چابهار سریعاً با تانک‌های ۸۰ لیتری دارای هوادهی، اکسیژن و شوری متعادل به کارگاه شیلات دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. پس از یک هفته سازگاری با شرایط جدید به منظور بررسی اثرات شوری بر وضعیت آنتی‌اکسیدان‌ها، ۹۰ قطعه ماهی (۶ قطعه در هر تکرار) به مدت ۲۱ روز در دوازده مخزن ۸۰ لیتری با شوری‌های ۴۰ (شاهد)، ۵، ۲۰ و ۵۰ گرم در لیتر غذادهی شدند. در طی دوره آزمایش تمام شرایط محیطی و شوری یکسان نگهداشته شدند. تثبیت شرایط فیزیکی شیمیایی آب از قبیل اکسیژن، pH، شوری، دما و تعویض آب هر ۲۴ ساعت یکبار و همچنین، زیست سنجی ماهیان هر ۳ روز یکبار انجام شد. نمک تصفیه شده ۱۰۰٪ کریستالیزه ساخت شرکت صدف سپید دلجان استفاده شد که حاوی پتاسیم فرو سیانید حداکثر ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود (لقمانی و همکاران، ۱۴۰۳).

برای تعیین میزان غذای روزانه، ابتدا وزن توده زنده هر مخزن محاسبه گردید. توده زنده از حاصل ضرب میانگین وزن ماهی‌های موجود در هر مخزن در تعداد ماهی‌ها بدست آمد و با تقسیم توده زنده بر تعداد وعده‌های غذایی (۲ وعده) مقدار غذای مورد نیاز

در هر وعده برای هر مخزن محاسبه گردید. به منظور خروج بقایای مواد غذایی و دفعی، هر روز یک بار قبل از غذادهی تعویض آب و سیفون کشی کف مخزن‌ها انجام می‌شد (Afshari et al., 2015).

در طول دوره آزمایش (۲۱ روزه) عوامل فیزیکی و شیمیایی آب از جمله درجه حرارت، شوری، pH و اکسیژن محلول با دستگاه مولتی‌متر HACH مدل HQ40d و به ترتیب با پروب‌های CDC401-01، pH101-01 و LDO101-01 اندازه‌گیری شدند. میانگین پارامترهای فوق به ترتیب برای دما ۲۴-۲۶ درجه سانتی گراد، اسیدیته آب ۷-۸ (pH) و اکسیژن ۶-۷ میلی گرم بر لیتر در نظر گرفته شدند. سپس، نمونه‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال AND با دقت ۰/۰۱ گرم مدل EK-610 توزین شدند. مقدار غذای روزانه با توجه به درصد وزن بدن محاسبه شد و در دو نوبت (صبح و عصر) به میزان ۱ درصد وزن بدن در اختیار ماهی‌ها قرار گرفت. جهت حفظ اکسیژن در سطح مناسب در هر یک از مخازن ۸۰ لیتری یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید (Biswas et al., 2006).

برای تأمین پلاسماي خون ماهی، در پایان هر مقطع از آزمایش (روز ۱، ۷، ۲۱)، طول و وزن ۴-۶ قطعه ماهی از هر تیمار پس از بی‌هوشی با پودر گل میخک (۰/۵ گرم در هر لیتر آب) اندازه‌گیری و خون از طریق قطع ساقه دمی خارج گردید. سپس، در داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری هپارینه جمع‌آوری، به دستگاه سانتریفیوژ (FS616) منتقل و با سرعت ۳,۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس، محلول رویی با کمک سمپلر ۵۰ میکرولیتری برداشته، داخل میکروتیوب‌های فاقد ماده هپارین در مجاورت یخ جمع‌آوری، به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل و در فریزر Standard (ST-612) در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد تا زمان سنجش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، آنزیم کاتالاز (CAT) و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) نگهداری شدند (Burtis et al., 2012).

برای تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز میزان ۵۰ میکرولیتر از Assay Buffer با ۵۰ میکرولیتر R1 مخلوط و سپس، ۱۰ میکرولیتر R2 از قبل آماده شده به آن اضافه گردید. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های بیولوژیکی (شامل: سرم، پلاسما، لیز سلولی و بافت هموژن شده) به مخلوط اضافه شد. در این مرحله، لوله‌های میکروتیوب با کاور آلومینیومی پوشانده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد تکان داده شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از R4 افزوده و مخلوط می‌شود و در مرحله بعد، ۴۰ میکرولیتر R3 به مخلوط افزوده و لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به آرامی تکان داده شدند. ۱۰ دقیقه انکوباسیون، و افزودن ۵۰ میکرولیتر از R5 به مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ انجام گردید. در مرحله آخر، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از هر لوله به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه منتقل و در طول موج‌های 550 ± 20 نانومتر خوانده شد (Dar et al., 2018). ذخیره داده‌ها در نرم افزار Excel و تحلیل نمودارهای آماری توسط نرم افزار انجام گرفت. با استفاده از رابطه های ۱ و ۲ میزان فعالیت آنزیم کاتالاز محاسبه گردید.

$$\text{Formaldehyde } (\mu\text{m}) = \frac{OD_{\text{Sample}} - B}{A} \times 2.2$$

رابطه ۱

$$\text{Catalase Activity} = \frac{\text{Sample } (\mu\text{m})}{20 \text{ min}}$$

رابطه ۲

واحد فعالیت کاتالاز : nmol/ min /ml (or mg pro)

برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) ابتدا ۵۰ میکرولیتر از نمونه یا استاندارد را در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ریخته، در ادامه به همه چاهک‌ها، ۴۰ میکرولیتر R1 آماده شده اضافه کرده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه می‌کنیم. برای شروع واکنش، ۱۰ میکرولیتر از R2 را اضافه کرده و خوب مخلوط می‌کنیم. جذب نوری نمونه‌ها را در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت و یادداشت می‌کنیم (زمان صفر). به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کرده و برای بار دوم جذب نوری نمونه‌ها و استاندارد چاهک ردیف A را در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت و یادداشت می‌کنیم (زمان دوم).

بر اساس غلظت‌ها و مقادیر جذب نوری به‌دست آمده در مراحل قبل، عددها را در محل مناسب در رابطه ۳ قرار داده و در نهایت مقدار فعالیت GPx را برای هر نمونه به دست می‌آوریم. توجه: عدد حاصل از جذب نوری استاندارد چاهک ردیف A (بلانک) در زمان صفر و زمان دوم در رابطه ۳ جاگذاری می‌شود.

$$\Delta A_{340 \text{ nm}} = (S1 - S2) - (A1 - A2) \quad \text{رابطه ۳}$$

S1: جذب نوری نمونه مورد نظر در زمان صفر

S2: جذب نوری نمونه مورد نظر در زمان دوم

A1: جذب نوری استاندارد با غلظت صفر در زمان صفر

A2: جذب نوری استاندارد با غلظت صفر در زمان دوم

در این مرحله، از منحنی به دست آمده در مرحله ۴، جهت تعیین مقدار NADPH طبق رابطه ۴ زیر استفاده می‌کنیم. مقادیر B در این رابطه برای محاسبه میزان فعالیت GPx مورد استفاده خواهد شد: رابطه ۴:

$$B = \frac{\Delta A_{340 \text{ nm}} - \text{عرض از مبدا}}{\text{شیب خط}}$$

حال میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز طبق رابطه ۵ محاسبه می‌شود (واحد مقدار نمونه، میکرولیتر می‌باشد): رابطه ۵:

$$GPxActivity = \frac{B}{(\text{زمان اول قرائت جذب نوری} - \text{زمان دوم قرائت جذب نوری}) \times \text{مقدار نمونه}}$$

میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز به دست آمده از طریق رابطه بالا، بر حسب واحدهای nmol/min/ml گزارش می‌شود. محتویات کیت در یخچال، دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند و نیم ساعت قبل از شروع آزمایش معرف‌ها را به دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) رسانده می‌شوند. تمامی مواد را قبل از استفاده باید ورتکس کرد به گونه‌ای که هیچ کریستالی در معرف‌ها دیده نشود. برای انجام کار مواد را به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه آنکوباسیون در دمای اتاق و به‌دوراز نور، جذب نوری نمونه‌ها را در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر قرائت و به‌عنوان OD نمونه در رابطه ۶ استفاده می‌شود. رابطه ۶:

$$SOD \text{ activity } \left(\frac{U}{ml} \text{ or mg protein} \right) = \frac{OD \text{ Test}}{OD \text{ control}} \times 200$$

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پلاسمای خون و وضعیت آنتی اکسیدانی ماهی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها (میانگین $\pm$ خطای معیار) از نرم افزار SPSS 18.0 استفاده گردید. داده‌های بدست آمده از مراحل نمونه‌برداری و آزمایشگاهی در برنامه Excel نسخه ۲۰ ذخیره و محاسبات اولیه، رسم نمودارها و جداول در این برنامه انجام شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف - اسمیرنوف در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شد.

نتایج

تأثیر تغییرات شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری (*M.cephalus*) در شرایط آزمایشگاهی و کنترل شده با مشخصات مذکور در سه مقطع زمانی ۱، ۷ و ۲۱ روزه با یکدیگر مقایسه و بررسی گردید.

نتایج سنجش آنزیم کاتالاز در سه بازه زمانی و در تیمارهای شوری مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. بر این اساس، در روز اول، کمترین میزان آنزیم در تیمار شوری ۵ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و ۲۰ گرم در لیتر مشاهده نشد ($p \leq 0/01$). بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در شوری ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. در روز هفتم، اختلاف معنی‌داری در شاخص آنزیم کاتالاز در بین تیمارهای شوری مشاهده نشد ($p \geq 0/01$). کمترین میزان کاتالاز در شوری شاهد و بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در شوری ۵ گرم در لیتر مشاهده شد. ولی، این دو گروه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p \geq 0/01$). در روز بیست و یکم، کمترین میزان کاتالاز در شوری ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با شاهد و ۵ گرم در لیتر مشاهده نشد ($p \geq 0/01$). بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در شوری ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت ($p \leq 0/01$).

جدول ۱- مقایسه میانگین (±خطای معیار) غلظت آنزیم کاتالاز (nmol/min/ml) پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری *M. cephalus* در تیمارهای مختلف شوری (گرم در لیتر) در روزهای اول، هفتم و بیست و یکم آزمایش

آنزیم کاتالاز	تیمار شوری			
	۴۰ (شاهد)	۵	۲۰	۵۰
روز اول	۳/۲۳ ± ۰/۸۸ ^{Aa}	۳/۲۸ ± ۰/۳۵ ^{aA}	۲/۷۷ ± ۰/۳۵ ^{Aa}	۳/۴۵ ± ۰/۳۸ ^{Aa}
روز هفتم	۶/۵۳ ± ۰/۱۸ ^{Ba}	۹/۵۶ ± ۰/۲۱ ^{Ca}	۴/۸۰ ± ۰/۲۰ ^{Ba}	۵/۹۰ ± ۰/۱۹ ^{ABa}
روز بیست و یکم	۵/۲۸ ± ۰/۱۹ ^{Bb}	۶/۷۸ ± ۰/۲۱ ^{Bb}	۵/۳۶ ± ۰/۱۸ ^{Bb}	۷/۲۵ ± ۰/۲۵ ^{Aa}

حروف کوچک مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین ۴ تیمار در هر دوره زمانی و حروف بزرگ مشترک نشان دهنده عدم معنی‌داری بین روزهای مختلف است ($p > 0.05$).

بررسی تغییرات آنزیم کاتالاز ماهی کفال خاکستری (*M. cephalus*) در نمونه شاهد (۴۰ گرم در لیتر) بین روز اول با روز هفتم و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p \leq 0/05$). میزان تغییرات آنزیم کاتالاز در شوری ۵ گرم در لیتر بین روز اول، روز هفتم و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p \leq 0/05$). در شوری ۲۰ گرم در لیتر بین روز اول با روز هفتم و بیست و یکم در میزان تغییرات آنزیم کاتالاز اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p \leq 0/05$). میزان تغییرات آنزیم کاتالاز تحت تأثیر شوری ۵۰ گرم در لیتر در روز هفتم با روز اول و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری داشت ($p \leq 0/05$).

نتایج سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سه بازه زمانی و در تیمارهای شوری مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. بر این اساس، در روز اول، کمترین میزان این آنزیم در تیمار شوری ۵۰ مشاهده شد. ولی، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($p \geq 0/01$). بیشترین میزان این آنزیم در تیمار ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد. در روز هفتم، اختلاف آماری معنی‌داری در مورد این آنزیم در بین تیمارهای شوری مشاهده نشد. کمترین میزان سوپراکسید دیسموتاز در تیمار شوری ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد و بیشترین میزان، در تیمار ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد. ولی، این تیمار اختلاف معنی‌داری با شاهد و غلظت ۵ گرم در لیتر نداشت. در روز بیست و یکم، کمترین میزان سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای شاهد (۴۰ گرم در لیتر) و ۵ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با تیمارهای ۲۰ و ۵۰ گرم در لیتر داشت ($p \leq 0/01$). بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به جز ۲۰ گرم در لیتر داشت.

جدول ۲- مقایسه میانگین (±خطای معیار) غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (nmol/min/ml) پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری *M. cephalus* در تیمارهای مختلف شوری (گرم در لیتر) در روزهای اول، هفتم و بیست و یکم آزمایش

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز	تیمار شوری			
	شاهد ۴۰	۵	۲۰	۵۰
روز اول	۱۰/۵۶ ± ۱/۰۸ ^{Aa}	۱۰/۰۹ ± ۱/۰۳ ^{Aa}	۱۲/۷۶ ± ۱/۲۱ ^{Aa}	۹/۲۴ ± ۰/۹۶ ^{Aa}
روز هفتم	۱۵/۱۰ ± ۰/۱۰ ^{Bab}	۱۵/۲۰ ± ۰/۰۹ ^{Bb}	۱۴/۴۷ ± ۰/۹۷ ^{Ab}	۲۲/۲۲ ± ۰/۱۹ ^{Ba}

روز بیست و یکم	Bb ۱۴/۵۵±۰/۸۹	Bb ۱۵/۳۳±۱/۰۲	Ba ۲۰/۴۲±۱/۲۸	Ca ۲۸/۱۶±۲/۲۵
----------------	---------------	---------------	---------------	---------------

حروف کوچک مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌داری بین ۴ تیمار در هر دوره زمانی و حروف بزرگ مشترک نشان دهنده عدم معنی‌داری بین روزهای مختلف است ($p>0.05$).

تغییرات آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری *M. cephalus* در نمونه شاهد (۴۰ گرم در لیتر) بین روز اول با روز هفتم و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p\leq 0.05$). تغییرات آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر شوری ۵ گرم در لیتر در روز اول با روز هفتم و روز بیست و یکم اختلاف معنی‌داری داشت ($p\leq 0.05$). غلظت گلوکاتیون پراکسیداز در پلاسمای خون ماهی کفال در تیمارهای مختلف در روز اول، هفتم و بیست و یکم آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. بین این مقادیر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p\leq 0.01$). به طوری که، در روز اول، کمترین میزان در تیمار ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p\leq 0.01$). بیشترین غلظت در شاهد ۴۰ گرم در لیتر مشاهده شد. در روز هفتم نیز اختلاف معنی‌داری در شاخص آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز در بین تیمارهای شوری مشاهده شد ($p\leq 0.01$) و کمترین میزان گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار ۵ گرم در لیتر و بیشترین مقدار در شاهد ۴۰ گرم در لیتر مشاهده شد. تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری با هم داشتند ($p\leq 0.01$). در روز بیست و یکم، کمترین میزان گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار شاهد مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها داشت ($p\leq 0.01$). بیشترین میزان آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار ۲۰ گرم در لیتر مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت.

جدول ۳- مقایسه میانگین ($\pm$ خطای معیار) غلظت گلوکاتیون پراکسیداز (nmol/min/ml) پلاسمای خون ماهی کفال خاکستری *M. cephalus* در تیمارهای مختلف شوری (گرم در لیتر) در روزهای اول، هفتم و بیست و یکم آزمایش

گلوکاتیون پراکسیداز				تیمار شوری
شاهد ۴۰	گرم در لیتر ۵	گرم در لیتر ۲۰	گرم در لیتر ۵۰	
۲۷۰/۱۹±۷/۰۸ ^{Aa}	۲۲۶/۱۷±۹/۰۲ ^{Ac}	۲۱۸/۱۷±۱۲/۰۱ ^{Ad}	۲۵۰/۱۸±۲/۹۶ ^{Ab}	روز اول
۲۷۶/۲۰±۶/۱۰ ^{Aa}	۲۲۳/۱۷±۹/۰۱ ^{Ab}	۲۶۷/۱۹±۸/۹۷ ^{Bc}	۲۰۰/۱۵±۲۲/۱۹ ^{Cd}	روز هفتم
۲۰۳/۱۵±۵۰/۸۹ ^{Bd}	۲۱۵/۱۵±۲۰/۹۱ ^{Bc}	۲۹۷/۲۰±۰۷/۲۸ ^{Ca}	۲۶۴/۲۰±۹/۰۵ ^{Bb}	روز بیست و یکم

حروف کوچک مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌داری بین ۴ تیمار در هر دوره زمانی و حروف بزرگ مشترک نشان دهنده عدم معنی‌داری بین روزهای مختلف است ($p>0.05$).

میزان تغییرات آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز ماهی کفال خاکستری *M. cephalus* در نمونه شاهد (۴۰ گرم در لیتر) و تیمارهای ۵ و ۵۰ گرم در لیتر بین روز بیست و یکم با روز اول و هفتم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p\leq 0.05$). میزان تغییرات آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز در تیمار ۲۰ گرم در لیتر بین روز اول، روز هفتم و بیست و یکم اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p\leq 0.05$) (جدول ۳).

بحث

قدرت انطباق در برابر تغییرات اسمزی محیط و در هنگام ورود به آب بسیار شور، عامل تعیین کننده توان آبریان برای تحمل تغییرات شوری محیط است. ماهیانی که در شوری ۱۰ و ۲۰ گرم بر لیتر به سر می‌برند، در مقایسه با ماهیان آب شیرین دچار کاهش مقادیر شاخص‌های رشد و بازده متابولیکی می‌شوند که از دلایل احتمالی آن می‌توان به صرف انرژی بیشتر برای انطباق اسملاریته محیط داخلی بدن اشاره نمود. اسملاریته محیط داخلی بدن ماهی آب شیرین معادل فشار اسمزی محلول ۷ گرم بر لیتر سدیم کلراید است. به این ترتیب، اکثر ماهیان آب شیرین علی‌رغم کاهش توان رشد، قادر به تحمل شوری تا حد ۷ گرم بر لیتر هستند. ماهیان در هنگام مواجهه با آب بسیار شور، املاح مزاد بر نیاز فیزیولوژیک خود را از طریق انتقال یونی فعال و با صرف انرژی متابولیک بیشتر، از بدن دفع می‌کنند. تفاوت غلظت یون‌ها بین محیط داخل و خارج بدن میزان مصرف انرژی متابولیک را با توجه به گونه ماهی تعیین خواهد کرد. مطالعه Hwang و Tseng (۲۰۰۸) نشان داده که در هنگام تشدید فعالیت اسمزی، مصرف اکسیژن و هیدرات‌های کربن افزایش یافته است. نتایج این مطالعه، با نتایج مطالعه McKay و Gjerd (۱۹۸۵) یکسان نبود. آن‌ها ماهیان قزل آلائی رنگین کمان ۱۰ تا ۱۸ ماهه با میانگین وزنی ۵۱ تا ۱۵۳ گرم را در یک بازه زمانی ۱۲ هفته‌ای در آب دریای ۵

۳۲ گرم بر لیتر نگهداری کردند. مطالعه آن‌ها مشخص کرد که همگام با افزایش شوری، توان رشد نمونه‌های آزمایشی کاهش و مرگ و میر آن‌ها افزایش یافته است. این محققین اضافه کردند که افزایش شوری به میزان بیش از ۲۰ گرم بر لیتر، به شدت باعث کاهش رشد ماهی قزل آلائی رنگین کمان شده است. مطالعه Pourmozaffar (۲۰۱۳) نیز نشان داد که ماهی مذکور می‌تواند در آب بسیار شور تعادل اسمزی خود را حفظ کند. اما، ماهیان تقریباً ۳۰ گرمی تا شوری گرم بر لیتر ۲۰ علی‌رغم حفظ بقاء، با نزول میزان رشد و صعود صرف انرژی متابولیک رو به رو خواهند شد. همچنین، نتایج Enayat Gholampour و همکاران (۲۰۱۸) با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشته است. مطالعه ایشان نشان داد که در صورت افزایش شوری در حین نگهداری دو ماهه بچه ماهیان سفید دریای خزر (با وزن متوسط 0.2 ± 22 گرم و در شوری صفر تا ۱۰ گرم بر لیتر، نرخ رشد روزانه کاهش یافته و افزایش وزن کندتر شده و این رابطه معکوس، از نظر آماری معنی‌دار بوده است (Nafisi, 2014). حفاظت از اندامک‌های سلولی در مقابل پراکسیدها و رادیکال‌های آزاد، به عهده آنتی اکسیدان‌های قوی مانند گلوکاتایون پراکسیداز است. به این ترتیب که، رادیکال آزاد موجود در اینگونه ترکیبات سمی، معمولاً با گلوکاتایون ترکیب شده و دفع می‌شوند. فعالیت‌های متابولیک و اسمزی به همراه فاکتورهای ایمنی ماهی *Acipenser medirostris* در مطالعه Sardella و همکاران (۲۰۰۸) نیز تحت تأثیر تغییرات شوری قرار گرفت.

لازم به ذکر است که، تغییرات فیزیولوژیک در مطالعات مختلف، موجب افزایش توانایی ماهی در مقابله با استرس شوری می‌شود. به عنوان مثال، افزایش قابل ملاحظه تعداد سلول‌های اپیتلیومی نشان‌دهنده آغاز تغییرات در بافت آبششی است. در هنگام استرس، غلظت کورتیزول و گلوکز خون همگام با یکدیگر افزایش می‌یابد. به علاوه، مطالعات نشان داده که میزان لپید در پلاسمای خون آزادماهیان و نیز، ماهی *Acipenser brevirostrum* در مواجهه با آب شور دریا کاهش یافته است (Shahriari Moghadam et al., 2018). با توجه به نتایج تحقیقات Yin و همکاران (۲۰۱۱)، به نظر می‌رسد که درجانی از شوری کم می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک کند تا بدن را در برابر صدمات ناشی از مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت کند. اما، با کاهش شوری به زیر دامنه تحمل، فعالیت آن‌ها مهار می‌شود که می‌تواند باعث مرگ و میر شود.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی می‌تواند گویای وضعیت تغذیه، شرایط و استرس‌های محیط پرورشی ماهیان باشد. تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در تحقیق Lermen و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که افزایش شوری محیط، منجر به افزایش وزن و طول ماهی شده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

گلوکاتایون پراکسیداز یک آنتی اکسیدان قوی است و باعث محافظت اجزای مهم سلولی در برابر واکنش با گروه‌های اکسیژن‌دار مانند رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها می‌شود. ترکیبات سمی دارای رادیکال آزاد، معمولاً با گلوکاتایون ترکیب شده و از بدن دفع می‌شوند (Peixoto et al., 2016). Amini khoei و Akbary (۲۰۱۸) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف شوری برای کفال خاکستری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون احیاء شده است.

سوپر اکسید دیسموتاز نقش مهمی در حمایت بافت در مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا می‌کند و منجر به تبدیل سوپر اکسید به مولکول اکسیژن معمولی یا هیدروژن پراکسید می‌شود (Vettrivel et al., 2013). بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها و فعالیت آنتی اکسیدان کل در تیمار 50 گرم در لیتر و کمترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در پایان آزمایش در گروه شاهد مشاهده شد.

Sardella و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ماهی *Acipenser medirostris*، فاکتورهای ایمنی و تنظیمات اسمزی و فعالیت متابولیکی غذا را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که شوری بر تغییرات فیزیولوژیک ماهی تأثیر دارد. اما، فاکتورهای رشد ماهی در این شوری‌ها مورد بررسی قرار نگرفت.

مطالعات مختلف نشان داده است که این تغییرات فیزیولوژیک موجب افزایش توانایی ماهی در مقابله با استرس شوری می‌شود. به عنوان مثال، افزایش قابل ملاحظه تعداد سلول‌های اپیتلیومی نشان‌دهنده آغاز تغییرات در بافت آبششی است. در هنگام استرس، علاوه بر افزایش میزان کورتیزول، افزایش میزان گلوکز خون نیز رخ می‌دهد. نتایج یک تحقیق نشان داده است که مقدار لپیدهای پلاسمای خون سالمونیدها در هنگام انتقال به آب دریا کاهش می‌یابد (Woo et al., 1978). همچنین، نتایج مشابهی

در مورد کاهش میزان لیپیدها در زمان سازگار شدن *Acipenser brevirostrum* به آب شور مشاهده شده است (Jarvis and Ballantyne, 2003).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات مختلف نشان می‌دهد که تغییرات شوری تأثیر قابل‌توجهی بر فیزیولوژی، متابولیسم، و شاخص‌های رشد ماهیان دارد. با افزایش شوری، توان رشد اغلب گونه‌های ماهی کاهش یافته و مصرف انرژی متابولیک آن‌ها برای تنظیم اسمزی افزایش می‌یابد. در عین حال، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر قرار گرفته و در برخی موارد افزایش می‌یابد تا از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند. با این حال، در شوری‌های بیش از حد تحمل، این سازوکارهای جبرانی ناکارآمد شده و می‌تواند منجر به کاهش رشد، افزایش استرس فیزیولوژیک، و حتی مرگ و میر شود. بنابراین، درک واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ماهیان در برابر تغییرات شوری برای بهینه‌سازی شرایط زیستی آن‌ها در محیط‌های پرورشی و طبیعی ضروری است.

References

- Afshari, A., Sorinejad, A., Shibek, H., Arabnejad, S. 2015. Effect of salinity stress on growth rate, biochemical parameters and blood cortisol of Sistan whitefish *Schizothorax zarudnyi*, *Journal of Applied Fisheries Research*, 4(3), pp.43-52. (In Persian). <http://jaif.gonbad.ac.ir/article-۱-۳۳۶-fa.html>
- Akbary, P., Amini khoei, Z. 2018. Effect of water-soluble polysaccharide extract from the green alga *Ulva rigida* on growth performance, antioxidant enzyme activity, and immune stimulation of grey mullet *Mugil cephalus*. *Journal of Applied Phycology*, 30, pp.1345–135. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1299-8>
- Biswas, G., Jena, J.K., Singh, S.K., Patmajhi, P. Muduli, H.K., 2006. Effect of feeding *Philasterides dicentrarchi* infection. *Journal of Aquatic Animal Health*, 22: pp.235–243.
- Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E. 2012. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book. Elsevier Health Sciences. St. Louis, USA. 2238 P. <https://doi.org/10.1007/s12291-012-0287-7>
- Dar, S. A., Nautiyal, V., Phulia, V., Bhat, I. A., Srivastava, P. P., Sahu, N. P., Gupta, S. 2018. Determination of benzimidazoles in fish plasma by chromatographic method and their effects on metabolic and antioxidative enzymes activity. *Aquaculture*, 486, pp.57-63. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.001>
- Enayat Gholampour, T., Imanpour, M.R., Hosseini, S.A., Shabanpour, B. 2018. The effect of different levels of salinity on growth, food intake indices and survival rate of blood parameters in white fish (*Rutilus frisii*) Kutum Kamensky, 1901). *Iranian Journal of Biology*, 24(4): pp.539-548. (In Persian) . <https://dorl.net/dor/20.1001.1.16807073.2011.13.6.8.1>
- Jarvis P.L., Ballantyne J.S. 2003. Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile short nose sturgeon *Acipenser brevirostrum*. *Aquaculture*, 219(1): pp.891-909. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00063-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00063-2)
- Lermen, C.L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V.P., Gioda, C.R., Schetinger, M.R.C, Baldisserotto, B., Moraes, G., Morsch, V.M. 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 239: pp.497–507. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.021>
- Mesbah, M., Takavar, M., Karmi, A., Melayam Behavat, T., Nazari, M. 2014. Investigating the effects of salinity stress on some blood indices and cortisol hormone in *Mesopotamichthys sharpeyi*, *Journal of Aquatic Ecology*. 5(2:) pp.68-78. (In Persian). <http://jae.hormozgan.ac.ir/article-1-215-fa.html>
- Mckay L. R., Gjerde B. 1985. The effect of salinity on growth of rainbow trout. *Aquaculture* 46: pp.325-331.
- Moreira F., Assis C. A., Almeida P. R., Costa, J. L., Costa, M. J. 1992. Trophic relationships in the community of the upper Tagus estuary (Portugal): a preliminary approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 34(6), pp.617-623. [https://doi.org/10.1016/S0272-7714\(05\)80066-6](https://doi.org/10.1016/S0272-7714(05)80066-6)

- Nafisi, M. 2014. Growth performance and endocrine response of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in adaptation to different environmental salinities. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*. 27(3), pp.417-429. (In Persian). <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23832614.1393.27.3.13.5>
- Nazarudin M. F., Aliyu-Paiko M., Shamsudin M. N. 2016. Serum cortisol concentrations change in tiger grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* in response to water temperature and salinity stress. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 15(4), pp.1511-1525. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.15622916.2016.15.4.25.5>
- Peixoto, M.J., Svendsen, J.C., Malte, H., Pereira, L.F., Carvalho, P., Pereira, R., Gonçalves, J.F., Ozório, R.O. 2016. Diets supplemented with seaweed affect metabolic rate, innate immune, and antioxidant responses, but not individual growth rate in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Applied Phycology*. 28: pp.2061–2071. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0736-9>
- Pourmozaffar, S. 2013. Investigating the effect of salinity on some growth factors, blood and chloride cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (feed with beta-glucan immunostimulator). Master's thesis, Faculty of Natural Resources, Persian Gulf University, 72 p. (In Persian)
- Sardella B. A., Kültz D., Cech J. J., Brauner C. J. 2008. Salinity-dependent changes in Na(+)/K(+)-ATPase content of mitochondria-rich cells contribute to differences in thermal tolerance of Mozambique tilapia. *Journal of Comparative Physiology B—Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*. 178(3), pp.249–256.
- Sarıkaya, E., Doğan, S. 2020. Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease, *IntechOpen*. 49p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91009>
- Shahriari Moghadam, M., Ahmadifar, E., Sheikh Asadi, M., Ebrahimi Jorjani, H., Fadaei, R. 2018. Effects of salinity on mortality, growth performance, blood traits and gill histopathology of snow trout, *Schizothorax zarudnyi*. *Journal of Artificial Intelligence Research*. 6 (2): pp.103-118. (In Persian). <http://jair.gonbad.ac.ir/article-1-507-en.html>
- Tseng, Y.C., Hwang, P.P. 2008. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish, *Comparative, Biochemistry and Physiology*. 148, pp.419-429. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.009>
- Vettrivel, C., Pugazhendy, K., Meenambal, M., Jayanthi, C. 2013. Curative Efficacy of Spirulina against Lead Acetate Toxicity on the *Cyprinus carpio* Fresh Water Fish. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 4(3): pp.537 – 542.
- Woo, N.Y.S., Bern H.A., Nishioka, R.S. 1978. Changes in body composition associated with smoltification and premature transfer to seawater in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and king salmon (*O. tshawytscha*). *Journal of Fish Biology*, 13(4): pp.421-428. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1978.tb03450.x>
- Yin, F., Peng, S., Sun, P. Shi, Z. 2011. Effects of low salinity on antioxidant enzymes activities in kidney and muscle of juvenile silver pomfret *Pampus argenteus*. *Acta Ecologica Sinica*, 31(1), pp.55-60. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2010.11.009>