



بررسی اثرات استرس شوری بر برخی شاخص‌های خونی و هورمون کورتیزول در ماهی

بنی *Mesopotamichthys Sharpeyi*

مهرزاد مصباح، تکاور محمدیان*، اسماعیل کرمی، طراوت ملایم رفتار، مرضیه نظری

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	در این پژوهش تأثیر استرس شوری بر شاخص‌های خونی در ماهی بنی (<i>Mesopotamichthys Sharpeyi</i>) طی ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی بنی (<i>Mesopotamichthys Sharpeyi</i>) پرورشی با وزن متوسط ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم به صورت کاملاً تصادفی در چهار تیمار با آب شهری و شوری‌های ۴، ۸ و ۱۲ گرم بر لیتر قرار گرفتند و خون‌گیری در روزهای اول، سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم صورت گرفت. شاخص‌های خون‌شناسی از جمله شمارش کلی و تفریقی گلبول‌های سفید، شمارش کلی گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، اندیس‌های گلبولی (MCHC، MCH، MCV) و هورمون کورتیزول اندازه‌گیری گردید. در پایان آزمایش مقایسه تیمارها با تیمار شاهد کاهش معنی‌دار شمارش کلی گلبول‌های قرمز در شوری ۱۲ گرم بر لیتر را نشان داد ($p < 0.05$) اما در سایر شاخص‌های خونی اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$). هورمون کورتیزول در روزهای مختلف بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). در پایان آزمایش بیشترین میزان کورتیزول در شوری ۴ گرم بر لیتر ($45/25 \pm 3/8$) و کمترین میزان آن در شوری ۸ گرم بر لیتر ($19/75 \pm 1/53$) مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که شاخص‌های خونی و هورمون کورتیزول در این ماهی می‌تواند تحت تأثیر شوری محیط قرار گیرد.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۳/۰۳/۲۴	
اصلاح: ۹۴/۰۶/۲۰	
پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۵	
کلمات کلیدی:	
ماهی بنی	
کورتیزول	
شوری	

مقدمه

یکی از مسائل عمده در آبی پروری بحث استرس می‌باشد. استرس در حقیقت به عنوان وضعیتی ناشی از شرایط محیطی که حیات را تهدید می‌کند، تعریف می‌شود (Brett, 1958). ماهیان هم در محیط طبیعی و هم در محیط پرورشی در معرض عوامل استرس‌زا قرار دارند (Bayunova et al., 2002). هر کدام از عوامل زیست محیطی نیز می‌تواند به عنوان یک منبع استرس‌زا مورد توجه قرار گیرد (Martínez-Álvarez et al., 2002). استرس با ایجاد اختلال در تعادل هومئوستاز باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، تولید مثل، عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (Goos and Consten, 2002; Chen et al., 2004; Morales et al., 2005). از جمله عوامل استرس‌زا و تأثیرگذار بر حیات، سوخت و ساز و پراکنش آبزیان، شوری می‌باشد که فرآیندهای رشد و نمو موجود را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بازماندگی جانور در یک محیط، به توانایی اسمزی آن موجود در تطابق با شوری محیطی که در آن زندگی می‌کند وابسته است (Varsamos et al., 2005). تنظیم اسمزی مکانیسم حفظ هومئوستازی مایعات درونی بدن است که مسئول کنترل اسمولالیت یا فشار اسمزی پلاسما می‌باشد (Kato et al., 2004). فاکتورهای هماتولوژیکی به عنوان ابزاری مفید برای مشاهده سلامت ماهی بیان شده است و در

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: t.mohammadian@scu.ac.ir

تفسیر پاسخ‌های فیزیولوژیکی در مواجهه با استرس‌های وارد شده به وسیله عوامل محیطی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Chen et al., 2004). به این معنی که تغییرات در شاخص‌های خونی و سطوح پلاسمای متابولیت‌ها، به عنوان پیوند اولیه بین تغییر محیطی و پاسخ فیزیولوژیکی می‌باشد (McCormick, 2001). یکی دیگر از شاخص‌های استرس، هورمون کورتیزول می‌باشد که به عنوان واکنش اولیه ماهیان به استرس در خون رها می‌شود همچنین کورتیزول هورمونی است که در تنظیم اسمزی نقش داشته و به ماهی در نگهداری آب و الکترولیت‌های بدن کمک می‌کند (Wendelaar-Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999). ماهی بنی *Mesopotamichthys Sharpeyi* از راسته Cypriniformes، از خانواده Cyprinidae و از جنس باربوس (در قدیم) است (Pyka et al., 2001). به نظر می‌رسد که ماهی بنی پراکندگی وسیع و گسترده‌ای نداشته باشد. منابع موجود، رودخانه‌ها و آبگیرهای کشورهای ایران، ترکیه، سوریه و عراق را محل زندگی آن ذکر کرده اند که خود یکی از دلایلی است که تا کنون مطالعات زیادی روی تکثیر آن صورت نگرفته است (Coad, 1995; Kahkesh et al., 2010). زیستگاه طبیعی و اصلی این ماهی در ایران، آب‌های آرام و برخوردار از گیاهان آبی تالاب‌های شادگان و هورالعظیم می‌باشد که بالاترین درصد کپورماهیان این تالاب‌ها را به خود اختصاص داده است (AL Mukhtar et al., 2006). همچنین این ماهی، گونه‌ی بومی و حائز اهمیت از نظر اقتصادی است و تکثیر و پرورش آن مورد توجه فعالان صنعت تکثیر و پرورش آبزیان استان خوزستان است (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸). این ماهی دارای ارزش اقتصادی بالایی از لحاظ صید اقتصادی و ورزشی می‌باشد، به طوری که دومین ماهی پر اهمیت بعد از صبور (*Tenualosa ilisha*) در بازار ماهی عراق است (عبدلی، ۱۳۷۸). امروزه پرورش این ماهی در ایران در استخرهای پرورشی و همین طور به شکل پرورش در سواحل محصور (Coad, 1991) صورت می‌گیرد. اگر چه رشد این ماهی از کپور معمولی کمتر است ولی ماهی بازار پسندی محسوب می‌شود. برخورداری آب‌های شیرین و داخلی استان خوزستان از انواعی از ماهیان بومی از جمله ماهی بنی در کنار ارزش اقتصادی و بازار پسندی آن سبب گردیده است که تلاش‌هایی در جهت تقویت ذخایر این گونه ماهی از طریق تکثیر و رهاسازی آن در منابع آبی و همین طور پرورش آن در مناطقی از استان صورت گیرد. توجه به خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان، در پرورش آنها نقش مهمی دارد و از آنجایی که یکی از حیاتی‌ترین بخش‌های بدن جانداران خون می‌باشد (Feist et al., 2004)، لذا آگاهی از وضعیت خونی ماهیان بنی و به خصوص شناخت اثر محیط‌هایی با شرایط جدید پرورشی بر شاخص‌های خونی می‌تواند در پیشبرد اهداف حفظ، تکثیر، نگهداری و پرورش این ماهیان مؤثر باشد. ما در این مطالعه به بررسی اثر شوری‌های مختلف بر برخی شاخص‌های خونی و هورمونی در ماهی بنی پرداخته ایم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی بنی در محدوده‌ی وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم از یکی از مزارع پرورش ماهی مرکز پرورش ماهی آزادگان واقع در حومه شهرستان اهواز تهیه و به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. ماهیان به مدت یک هفته به منظور سازش با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از طی مراحل سازش، به صورت کاملاً تصادفی در آکواریوم‌های ۳۰۰ لیتری مستقر در بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان قرار داده شدند. به این ترتیب ۴ تیمار در ۳ تکرار که شامل تیمار اول به عنوان گروه شاهد دارای آب شهری، تیمار دوم آب شور ۴ گرم در لیتر، تیمار سوم آب شور ۸ گرم در لیتر و تیمار چهارم آب شور ۱۲ گرم در لیتر انتخاب شد و در هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی بنی قرار داده شد. آب شور مورد استفاده در این تحقیق با استفاده از انحلال نمک بدون ید کارخانه سپید دانه در آب لوله کشی کلرزدایی شده تهیه شد. ماهیان به مدت ۲۱ روز در تیمارهای آب شور و تیمار شاهد نگهداری شدند. غذادهی ماهیان با استفاده از غذای بیومار ساخت کشور فرانسه به میزان روزانه ۲ درصد وزن بدن انجام شد و پلت‌های مصرف نشده ۳۰ دقیقه پس از غذادهی حذف می‌شد تا مانع از آلودگی آب گردد. همچنین تعویض آب هر هفته یک بار صورت می‌گرفت. میزان درجه حرارت در آکواریوم‌ها در طی مدت آزمایش ثابت بود. همچنین شرایط نوری در طی دوره آزمایش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب، میزان اکسیژن با استفاده از دستگاه اکسیژن متر (HACH-sension1) و شوری با استفاده از دستگاه شوری سنج (HACH-sension5) به صورت روزانه و pH آب به صورت هفتگی با استفاده از دستگاه پی اچ متر (SUNTEX-TS1) اندازه‌گیری شد. هوادهی آکواریوم‌ها به طور منظم با استفاده از سنگ هوا انجام شد، تنها در نوبت‌های غذادهی، هوادهی موقتاً

قطع و سپس مجدداً برقرار می‌شد. مرگ و میر بچه ماهیان روزانه مورد بررسی قرار گرفت و در تیمارهای مورد آزمایش تلفاتی در طول دوره آزمایش مشاهده نگردید. خون‌گیری از ماهیان در روزهای اول، سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم (از هر گروه تعداد ۶ قطعه ماهی) انجام شد. به منظور انجام خون‌گیری، پس از بیهوش نمودن ماهیان با ماده بیهوشی MS222، از ورید ساقه دمی توسط سرنگ ۵ سی‌سی صورت گرفت. سرم خون با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (ROTOFIX 32 A) ساخت شرکت Hettich آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و سپس در میکروتیوب‌های حاوی ۲۰ میکرولیتر ماده ضد انعقاد هپارین به منظور انجام آزمایشات خون‌شناسی جمع‌آوری گردید. سپس پارامترهای هماتولوژیکی شامل هماتوکریت (PVC)^۱، هموگلوبین (Hb)^۲، تعداد کل گلبول‌های سفید (TWBC)^۳، تعداد کل گلبول‌های قرمز (TRBC)^۴، حجم متوسط گلبولی (MCV)^۵ (فمتولیترا)، وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)^۶ (پیکوگرم)، نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC)^۷ و درصد هتروفیل، لنفوسیت و ائوزینوفیل اندازه‌گیری گردید (Feldman et al., 2000). شمارش تفریقی انواع گلبول‌های سفید (هتروفیل، لنفوسیت و ائوزینوفیل) پس از تهیه گسترش و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا صورت پذیرفت. جهت تعیین هماتوکریت نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در لوله‌های موئین به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مقدار هموگلوبین نیز توسط دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل Milton roy) با استفاده از معرف درابکین (K3Fe (CN)6 ۲۰۰ میلی‌گرم، KCN ۵۰ میلی‌گرم، H2KO4P ۱۴۰ میلی‌گرم، دترجنت غیریونی ۱ میلی‌لیتر، آب دوبار تقطیر شده ۱ لیتر) به دست آمد. برای شمارش گلبول‌های قرمز از رقیق‌کننده ۲٪ NaCl و لام نئوبار استفاده شد. همچنین اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه گردید (Thrall, 2004).

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) $\times 10^6$ / هماتوکریت (درصد) = MCV

هماتوکریت (درصد) / هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) $\times 10^6$ = MCHC

تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب) / هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) $\times 10^6$ = MCH

اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خون (ng/mL) با روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک Gamma counter مدل L.K.B ساخت کشور فنلاند و با به‌کارگیری کیت‌های هورمونی ایمونوتک (Immunotech) ساخت کشور فرانسه (125I RIA Kit) انجام شد. به این منظور ابتدا ۱۰ میکرولیتر از پلاسما و ۵۰۰ میکرولیتر از هورمون کورتیزول نشاندار به میکروتیوب‌های موجود در کیت اضافه و سپس میکروتیوب‌ها پس از ورتکس شدن، به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از آن محتوای میکروتیوب‌ها خالی شده و پس از خشک شدن میکروتیوب‌ها، مقدار تشعشعات گامای آنها در دستگاه Gamma counter اندازه‌گیری شد. جهت آنالیز داده‌ها، ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن آنها از آزمون کولموگورف - اسمیرنوف استفاده شد. سپس به منظور تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید. آزمون‌های آماری در محیط نرم افزار SPSS ۱۶ انجام و جهت رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

ماهی بنی پس از چالش ۲۱ روزه در مقابل شوری‌های ۴، ۸ و ۱۲ گرم بر لیتر تا پایان آزمایش تلفاتی نداشت. با توجه به اندازه‌گیری فاکتورهای محیطی، میزان pH و اکسیژن محلول در طول دوره‌ی آزمایش به ترتیب در محدوده‌ی $8/71 \pm 0/11$ و $7/64 \pm 0/09$ بود. شوری نیز همواره اندازه‌گیری و در طیف مورد نظر برای هر تانک حفظ می‌شد. در پایان آزمایش نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای مختلف در میزان هماتوکریت، هموگلوبین، حجم

1. Packed cell volume
2. Hemoglobin
3. Total white blood cell
4. Total Red blood cell
5. Mean corpuscular volume
6. Mean corpuscular hemoglobin
7. Mean corpuscular hemoglobin concentration

متوسط گلبولی (MCV)، وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (%، شمارش کلی گلبولهای سفید، هتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت نشان نداد ($p > 0.05$). اما اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمارهای مختلف در تعداد کل گلبول‌های قرمز مشاهده شد ($p < 0.05$). نتایج حاصل از درصد هماتوکریت، میزان هموگلوبین، شمارش کلی گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبولی (MCV) (فمتولیتتر)، وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)، نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (%، شمارش کلی گلبولهای سفید، هتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت به ترتیب در جدول‌های ۱ الی ۵ با یکدیگر مقایسه شده‌اند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری هورمون کورتیزول در روزهای اول، سوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم در شکل ۱ آورده شده است. هورمون کورتیزول در روزهای مختلف اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف در سطح ۵ درصد نشان داد ($p < 0.05$).

جدول ۱. نتایج حاصل از نمونه‌گیری روز اول شاخص‌های خونی ماهی بنی و مقایسه آن با تیمار شاهد

شوری ۱۲ گرم در لیتر	شوری ۸ گرم در لیتر	شوری ۴ گرم در لیتر	شاهد	
۴۸/۲± ۱۰/۵۲	۴۲/۲± ۷/۶۰	۴۲/۸± ۲/۳۲	۴۲/۸± ۱/۵۲	هماتوکریت (PCV)
۷/۶± ۰/۹۹	۸/۶± ۱/۵۲	۸/۷± ۰/۸۸	۱۰/۶± ۰/۱۷	هموگلوبین (Hb)
۱/۷۴± ۰/۳۵	۲/۰± ۰/۳۱	۱/۹± ۰/۱۵	۲/۱± ۰/۳۲	تعداد کل گلبولهای قرمز (TRBC) × 10 ⁶
۲۸۸/۱± ۱۰۳/۱۶	۲۱۳/۹± ۵۴/۱۵	۲۵۰/۸± ۸۸/۳۷	۲۴۰/۱± ۷/۲	حجم متوسط گلبولی (فمتولیتتر) MCV
۴۶/۷± ۸/۵۸	۴۳/۱± ۷/۷۲	۵۰/۲± ۱۳/۸	۵۵/۸± ۶/۳۳	وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم) MCH
۱۷/۲± ۴/۷۲	۲۱/۲± ۶/۸۹	۲۰/۴± ۲/۴۸	۲۳/۹± ۳/۰۱	نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (%)
۱۸/۶± ۲/۷۴ ^b	۱۹/۹± ۱/۱ ^b	۲۱/۸± ۶/۳۶ ^b	۱۲/۵± ۰/۴۱ ^a	تعداد کل گلبولهای سفید (TWBC) × 10 ³
۲۸/۷± ۶/۹۲	۲۹/۷± ۵/۷۹	۲۷/۸± ۳/۹۲	۲۰/۱± ۱/۸	هتروفیل (Het)
۶۸/۷± ۶/۹۵	۶۷/۸± ۷/۴۷	۷۰/۵± ۳/۷۸	۷۹/۹± ۱/۸۹	لنفوسیت (Lym)
۰/۵± ۰/۸۲	۰/۳± ۰/۵۲	۰/۲± ۰/۴۱	۰/۰± ۰/۰	ائوزینوفیل (Eu)
۲/۲± ۱/۱۷	۲/۲± ۱/۶	۱/۵± ۱/۳۸	۰/۳± ۰/۴۹	مونوسیت (Mon)

جدول ۲. نتایج حاصل از نمونه‌گیری روز سوم شاخص‌های خونی ماهی بنی و مقایسه آن با تیمار شاهد

شوری ۱۲ گرم در لیتر	شوری ۸ گرم در لیتر	شوری ۴ گرم در لیتر	شاهد	
۳۶/۷± ۵/۲۴	۴۸/۲± ۶/۰۸	۴۰/۲± ۴/۷۵	۴۳/۳± ۱/۵۶	هماتوکریت (PCV)
۸/۱± ۰/۶۱	۹/۷± ۰/۸۹	۹/۱± ۰/۹۱	۱۰/۳± ۰/۶۸	هموگلوبین (Hb)
۱/۸± ۰/۱۹	۱/۶± ۰/۲۴	۱/۶± ۰/۲	۱/۸± ۰/۰۹	تعداد کل گلبولهای قرمز (TRBC) × 10 ⁶
۲۰۹/۱± ۲۲/۴۱ ^a	۲۹۹/۳± ۶۱/۱۷ ^b	۲۴۷/۰± ۳۵/۴۹ ^a	۲۳۷/۹± ۶/۸۳ ^a	حجم متوسط گلبولی (فمتولیتتر) MCV
۴۲/۸± ۱۰/۳۳	۶۰/۴± ۱۳/۵۵	۵۶/۲± ۸/۰۴	۵۶/۴± ۶/۱۵	وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم) MCH
۲۰/۷± ۵/۵۸ ^b	۲۰/۲± ۲/۰۱ ^b	۲۲/۸± ۲/۱۲ ^b	۲۴/۳± ۲/۰۲ ^a	نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (%)
۱۵/۱± ۱/۴۵ ^b	۱۶/۷± ۱/۹۵ ^b	۱۹/۶± ۱/۹ ^b	۱۲/۷± ۰/۴۳ ^a	تعداد کل گلبولهای سفید (TWBC) × 10 ³
۲۳/۷± ۲/۸	۲۳/۸± ۲/۷۹	۲۴/۳± ۴/۵	۱۹/۳± ۱/۷۱	هتروفیل (Het)
۷۵/۲± ۳/۳۱ ^b	۷۵/۲± ۲/۴۸ ^b	۷۳/۵± ۳/۹۹ ^b	۸۰/۵± ۱/۹۱ ^a	لنفوسیت (Lym)
۰/۰± ۰/۰	۰/۰± ۰/۰	۰/۳± ۰/۸۲	۰/۰± ۰/۰	ائوزینوفیل (Eu)
۱/۲± ۱/۳۳	۱/۰± ۰/۸۹	۱/۸± ۲/۳۲	۰/۳± ۰/۵	مونوسیت (Mon)

*تعداد نمونه ۶ قطعه در هر گروه. اطلاعات بر اساس (خطای استاندارد ± میانگین) آورده شده است. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با تیمار شاهد است.

جدول ۳. نتایج حاصل از نمونه‌گیری روز هفتم شاخص‌های خونی ماهی بنی و مقایسه آن با تیمار شاهد

شوری ۱۲ گرم در لیتر	شوری ۸ گرم در لیتر	شوری ۴ گرم در لیتر	شاهد	
۵۲/۸± ۱۰/۱۸	۵۱/۷± ۹/۴۸	۴۷/۷± ۵/۶۵	۴۰/۵± ۶/۵۶	هماتوکریت (PCV)
۹/۷± ۱/۷۲	۱۰/۰± ۲/۰۴	۸/۵± ۰/۳۵	۸/۹± ۱/۲۹	هموگلوبین (Hb)
۱/۹± ۰/۴۵	۲/۰± ۰/۲۲	۲/۳± ۰/۲۲	۲/۱± ۰/۳۲	تعداد کل گلبولهای قرمز × 10 ⁶ (TRBC)
۲۹۹/۶± ۱۳۰/۸۸	۲۶۸/۰± ۶۸/۰	۲۰۹/۳± ۳۲/۹۲	۱۹۴/۳± ۴۲/۸۷	حجم متوسط گلبولی MCV (فمتولیترا)
۵۴/۹± ۲۳/۷	۵۲/۶± ۸/۲۸	۳۷/۰۷± ۳/۷۱	۴۲/۹± ۹/۲۱	وزن متوسط هموگلوبین گلبولی MCH (پیکوگرم)
۱۸/۳۲± ۱/۰۲	۲۱/۱± ۸/۰۶	۱۷/۹± ۲/۱۲	۲۲/۱± ۰/۸۵	نسبت هموگلوبین گلبولی MCHC (%)
۱۹/۳± ۱/۲۳ ^b	۱۲/۳± ۲/۲۵ ^a	۱۷/۶± ۲/۱۸ ^a	۱۵/۰± ۲/۱۱ ^a	تعداد کل گلبولهای سفید × 10 ³ (TWBC)
۲۶/۸± ۷/۶۶	۳۰/۸± ۱۳/۱۷	۲۴/۴± ۳/۷۸	۲۴/۸± ۴/۷۶	هتروفیل (Het)
۶۸/۶± ۷/۸۹	۶۵/۵± ۱۴/۸۲	۷۲/۰± ۴/۳	۷۳/۲± ۴/۸۷	لنفوسیت (Lym)
۱/۰± ۱/۰ ^b	۰/۳± ۰/۵۲ ^a	۰/۰± ۰/۰ ^a	۰/۰± ۰/۰ ^a	اُوزینوفیل (Eu)
۱/۶± ۱/۳۴	۱/۳± ۲/۷۳	۱/۶± ۱/۳۴	۲/۰± ۰/۵	مونوسیت (Mon)

*تعداد نمونه ۶ قطعه در هر گروه. اطلاعات بر اساس (خطای استاندارد ± میانگین) آورده شده است. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با تیمار شاهد است.

جدول ۴. نتایج حاصل از نمونه‌گیری روز چهاردهم شاخص‌های خونی ماهی بنی و مقایسه آن با تیمار شاهد

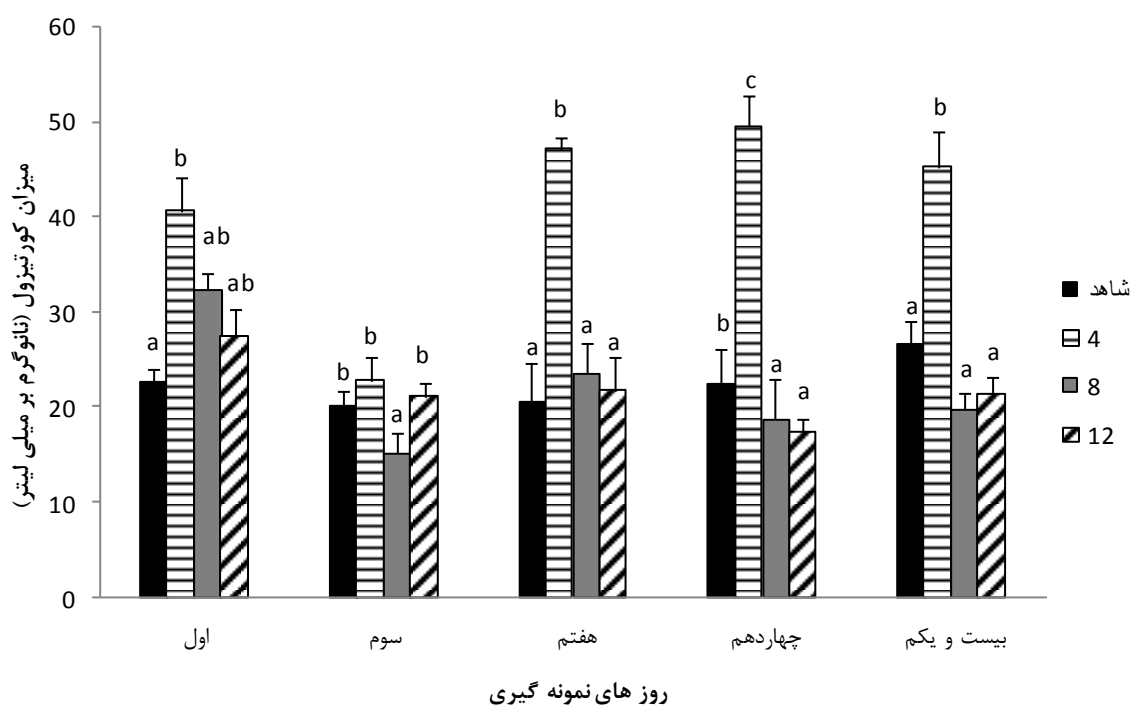
شوری ۱۲ گرم در لیتر	شوری ۸ گرم در لیتر	شوری ۴ گرم در لیتر	شاهد	
۴۱/۸± ۲/۹۹ ^a	۴۵/۰± ۴/۶۹ ^a	۵۶/۷± ۱/۹۷ ^b	۴۳/۸± ۵/۳۳ ^a	هماتوکریت (PCV)
۱۱/۵± ۰/۶	۹/۹± ۳/۸۲	۱۱/۸± ۲/۶۸	۸/۴± ۱/۲۵	هموگلوبین (Hb)
۱/۸± ۰/۲۶	۱/۷± ۰/۲۲	۱/۶± ۰/۱۵	۱/۸± ۰/۲۲	تعداد کل گلبولهای قرمز × 10 ⁶ (TRBC)
۲۴۱/۰± ۴۳/۹۸ ^a	۲۶۹/۹± ۳۵/۵۹ ^a	۳۶۵/۵± ۳۸/۱۶ ^b	۲۴۴/۲± ۲۳/۴۷ ^a	حجم متوسط گلبولی MCV (فمتولیترا)
۶۴/۴± ۷/۹۷	۵۸/۴± ۲۰/۷۵	۷۶/۶± ۱۹/۲۶	۴۶/۸± ۷/۴	وزن متوسط هموگلوبین گلبولی MCH (پیکوگرم)
۲۶/۹± ۲/۸۲	۲۲/۰± ۹/۱۵	۲۰/۹± ۵/۱۲	۱۹/۲± ۲/۹۷	نسبت هموگلوبین گلبولی MCHC (%)
۹/۱± ۴/۴۶ ^a	۲۱/۲± ۱/۱۹ ^b	۱۳/۳± ۲/۹۶ ^b	۷/۴± ۰/۶۶ ^a	تعداد کل گلبولهای سفید × 10 ³ (TWBC)
۱۸/۸± ۴/۵۴	۲۳/۳± ۸/۸۸	۲۰/۵± ۴/۹۳	۲۰/۲± ۱/۴۸	هتروفیل (Het)
۷۸/۸± ۳/۲۵	۷۶/۸± ۸/۸۸	۷۷/۲± ۵/۱۲	۷۹/۰± ۱/۰	لنفوسیت (Lym)
۰/۸± ۱/۳۳	۰/۰± ۰/۰	۰/۵± ۰/۸۴	۰/۲± ۰/۴۵	اُوزینوفیل (Eu)
۱/۵± ۱/۳۲	۰/۰± ۰/۰	۱/۸± ۱/۴۷	۰/۸± ۰/۸۴	مونوسیت (Mon)

*تعداد نمونه ۶ قطعه در هر گروه. اطلاعات بر اساس (خطای استاندارد ± میانگین) آورده شده است. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با تیمار شاهد است.

جدول ۵. نتایج حاصل از نمونه‌گیری روز بیست و یکم شاخص‌های خونی ماهی بنی و مقایسه آن با تیمار شاهد

شوری ۱۲ گرم در لیتر	شوری ۸ گرم در لیتر	شوری ۴ گرم در لیتر	شاهد	
۴۱/۷±۱/۲۱	۵۰/۰±۳/۸۱	۴۶/۲±۵/۴۶	۴۶/۰±۳/۴۶	هماتوکریت (PCV)
۹/۴±۰/۷۶	۱۱/۹۱±۳/۰۱	۱۱/۶±۳/۰۴	۱۱/۲±۲/۱۶	هموگلوبین (Hb)
۱/۴±۰/۰۹ ^b	۱/۶±۰/۱۱ ^a	۱/۷±۰/۱ ^a	۱/۶±۰/۰۷ ^a	تعداد کل گلبولهای قرمز × 10 ⁶ (TRBC)
۲۹۵/۱±۲۰/۳۶	۳۰۵/۱±۳۷/۰۵	۲۷۷/۷±۴۱/۸۴	۲۹۲/۷±۱۰/۱۱	حجم متوسط گلبولی (فمتولیترا)
۶۶/۹±۶/۴۳	۷۲/۵±۱۸/۴۸	۶۹/۴±۱۷/۵۲	۷۱/۵±۱۷/۳۹	وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم)
۲۲/۷±۲/۰۹	۲۳/۹±۶/۱۴	۲۵/۲۷±۶/۷۹	۲۴/۶±۶/۸۳	نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC%)
۱۰/۶±۱/۰	۱۱/۳±۱/۳۴	۱۲/۹±۱/۹۴	۹/۶±۰/۶۵	تعداد کل گلبولهای سفید × 10 ³ (TWBC)
۱۷/۷±۲/۶۶	۱۶/۵±۳/۰۲	۱۸/۰±۲/۱۹	۱۷/۴±۲/۵۷	هتروفیل (Het)
۸۰/۵±۴/۱۸	۸۱/۷±۲/۴۲	۸۱/۰±۲/۱	۸۱/۱±۲/۹	لنفوسیت (Lym)
۰/۳±۰/۸۲	۰/۲±۰/۴۱	۰/۰±۰/۰	۰/۱±۰/۵۱	ائوزینوفیل (Eu)
۱/۵±۱/۲۲	۱/۷±۰/۸۲	۱/۰±۱/۱	۱/۴±۱/۰۴	مونوسیت (Mon)

*تعداد نمونه ۶ قطعه در هر گروه. اطلاعات بر اساس (خطای استاندارد ± میانگین) آورده شده است. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با تیمار شاهد است.



شکل ۱. مقایسه نتایج میزان هورمون کورتیزول (ng/mL) در تیمارهای مختلف شوری در زمان‌های نمونه‌گیری. حروف غیر مشابه در هر روز اختلاف معنی دار را نشان می‌دهد. سایر روزها تفاوت معنی داری نداشتند. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده است.

بحث

فاکتورهای خونی در ماهی به عنوان نشان‌گرهای فیزیولوژیکی واکنش به استرس بسیار استفاده می‌شوند (Cataldi *et al.*, 1998). هماتوکریت خون به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Houston and Rupert, 1997). نتایج این پژوهش با یافته‌های Benfey و Biron (2000) مطابقت دارد. آن‌ها ذکر کردند که بررسی‌های هماتولوژیک می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در رابطه با حد تحمل جانوران در برابر شاخص‌های استرس‌زا (نظیر شوری) ارائه نماید. روند تغییرات گلبول‌های قرمز از روی هماتوکریت ارزیابی می‌گردد، همچنین هموگلوبین خود شاخص مناسبی جهت تعیین پدیده غلیظ شدن و یا رقیق شدن خون در زمان رویارویی ماهیان با استرس‌های حاد (نظیر شوری‌های بالا) می‌باشد. علت افزایش هموگلوبین یا هماتوکریت در طول استرس می‌تواند ناشی از یکی از عوامل ۱- کاهش حجم پلاسما ۲- تورم گلبول‌های قرمز ۳- آزاد شدن تعداد بیش‌تری اریتروسیت در خون از بافت‌های خون‌ساز، باشد. تغییر هر یک از شاخص‌های فوق منجر به تغییر هماتوکریت شده و تنها تغییر در حالت ۱ و ۳ قادر به تغییر غلظت هموگلوبین خون است (Benfey and Biron, 2000). در سایر مطالعات نظیر Svobodova و همکاران (۱۹۹۴)، پروفایل هماتولوژیکی اغلب به عنوان شاخص استرس به کار برده می‌شود. تغییرات عمده‌ای در هموگرام ماهی در معرض استرس حاد یا مزمن یافت می‌شود به طوری که در ماهی استرس دیده اغلب افزایش در شمارش کلی گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده شده است که مشابه یافته‌های مطالعه حاضر است. همچنین در پی این تغییرات افزایش حجم متوسط گلبولی و وزن متوسط گلبولی، افزایش غلظت هموگلوبین و هماتوکریت را تأیید نمود. در طی شرایط استرس در پاسخ به مطالبات سوخت و ساز بالاتر، بالا رفتن هموگلوبین و هماتوکریت، افزایش ظرفیت حمل اکسیژن خون و در نتیجه اکسیژن‌رسانی به اندام‌های اصلی رخ می‌دهد (Ruane *et al.*, 1999; Dobsikova *et al.*, 2009). استرس از طریق تأثیر بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال و ترشح کورتیکواستروئیدها و هورمون محرک غده‌ی فوق کلیه در خون باعث بروز حالت‌هایی نظیر کاهش منوسیت‌ها (منوسیتوپنی) و ائوزینوفیل‌ها (ائوزینوفیلی) می‌شود. به طور معمول در صورت مواجهه جاندار با شرایط استرس تعداد گلبول‌های سفید افزایش یافته که به این پدیده لکوسیتوزیس گفته می‌شود. اما در صورت رویارویی جاندار با استرس‌های حاد، به طور معمول تعداد آن‌ها کاهش یافته که به این حالت لکوپنیا گویند (Benfey and Biron, 2000). در این پژوهش با توجه به جدول‌های شماره ۱ تا ۵ ابتدا پدیده لکوسیتوزیس مشاهده گردید اما پس از تطابق ماهی با شرایط جدید (در روز ۲۱) تعداد آن‌ها با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت که در مطالعات مشابه که در آن عوامل استرس‌زا وجود داشتند، نظیر مطالعه‌ی Saloni و Iwama (1993) افزایش درصد لنفوسیت‌ها در سالمون اطلس مشاهده شد. در مجموع استرس سبب ایجاد اختلال در شاخص‌های خونی شده که نوعی واکنش دفاعی در برابر استرس تحمیل شده می‌باشد سپس توسط فرآیند سازش پذیری جهت هماهنگی با اختلالات متابولیسمی و فعالیت‌های خونی سبب متعادل شدن شاخص خونی پس از در معرض قرار گیری طولانی همانند شرایط نرمال می‌شود. با توجه به جدول‌های شماره ۱ تا ۵ درصد هماتوکریت فقط در تیمار با شوری ۴ گرم بر لیتر در روز چهاردهم افزایش آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$) و مجدداً در روز بیست و یکم تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت ($p > 0.05$). در برخی از مطالعات اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در مواجهه با شوری‌های مختلف مشاهده نشد که این وضعیت را به علت عدم وابستگی تغییرات اسمزی با نیاز اکسیژنی ماهی دانسته‌اند (Ziegeweid and Black, 2010). اما در مطالعات دیگر تغییرات معنی‌دار هماتوکریت در رابطه با شوری‌های مختلف مشاهده شد (محمدی مکوندی و همکاران، ۱۳۹۰). تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصل از مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در محدوده مطلوب شوری هر ماهی و همچنین قابلیت تطابق ماهی با تغییرات شوری باشد (Morgan and Iwama, 1991). میزان هموگلوبین در تیمارهای مختلف و در روزهای مختلف نسبت به تیمار شاهد تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). در مطالعه‌ای که Erfan و همکاران (2015) روی ماهی خاویاری شیب در شوری‌های صفر، ۴، ۸ و ۱۲ گرم در لیتر انجام دادند تفاوت معنی‌داری را در میزان هموگلوبین تیمارهای مختلف با گروه شاهد مشاهده نکردند. از طرفی شمارش کلی گلبول‌های قرمز نشان داد که فقط در روز بیست و یکم کاهش آماری معنی‌داری با تیمار شاهد وجود دارد ($p < 0.05$). استرس فیزیولوژیکی ناشی از سازگاری به وضوح بر خصوصیات خونی ماهیان آزمایشی بازتاب دارد و سبب کاهش معنی‌دار در مقدار هموگلوبین و گلبول‌های قرمز مطابق با نتایج این مطالعه می‌شود. کاهش مشاهده شده ممکن است به علت استرسی باشد که باعث ایجاد اثراتی بر متابولیسم و عملکرد نرمال فیزیولوژی ماهی می‌شود. انرژی لازم برای نگهداری شکل گلبول قرمز،

انعطاف‌پذیری و فشار اسمزی، توسط آدنوزین تری فسفات (ATP)، طی گلیکولیز بی‌هوازی حاصل می‌شود (Cheesbrough, 2005). کمبود ATP به عنوان نتیجه تحمیل استرس سبب ناتوانی گلبول قرمز در انتقال سدیم اضافی بیرون از غشای سلولی و متعاقب آن همولیز گلبول‌های قرمز می‌شود (Emelike *et al.*, 2008). بنابراین محدوده زندگی گلبول قرمز خیلی کوتاه است و تخریب گلبول‌های قرمز بسیار سریع‌تر از شکل‌گیری آن‌ها بوده و سبب کاهش تعداد آن‌ها در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود (Guyton and Hall, 2005). متوسط حجم گلبولی از روز سوم در تیمار با شوری ۸ گرم بر لیتر و از روز چهاردهم در تیمار با شوری ۴ گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$). همچنین نسبت هموگلوبین گلبولی از روز سوم در بین تیمارها کاهش آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$) که با توجه به تغییرات هموگلوبین و هماتوکریت قابل توجه است. تعداد کل گلبول‌های سفید در روزهای اول و سوم در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری با تیمار شاهد را نشان داد ($p < 0.05$) اما در روز هفتم فقط تیمار شوری ۱۲ گرم بر لیتر تفاوت خود را حفظ نمود ولی در روز چهاردهم تیمارهای ۴ و ۸ تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند و تیمار ۱۲ تفاوتی را با شاهد نشان نمی‌داد و در نهایت نیز کلیه تیمارها در روز ۲۱ با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($p > 0.05$). درصد لنفوسیت‌ها از روز سوم کاهش آماری معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$) اما از روز هفتم تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نگردید ($p > 0.05$). به طور کلی در ماهیانی که تحت تأثیر تنش قرار گرفته‌اند، معمولاً کاهش تعداد گلبول‌های سفید به ویژه لنفوسیت‌ها دیده می‌شود (Balabanova *et al.*, 2009; Witeska, 2005). پدیده کاهش لنفوسیت در ماهی به عنوان یک اثر ثانویه استرس، مربوط به آزادسازی کتکول آمین‌ها است. به علت بالا بودن استرس القا شده، کورتیزول پلازما مستقیماً بر لنفوسیت‌ها اثر سیتولیتیک^۸ دارد (Wiik *et al.*, 1989; Engelsma *et al.*, 2003). پدیده کاهش لنفوسیت در ماهی استرس دیده نیز ممکن است، پیامد نفوذ سلول‌ها و نفوذ آن‌ها به اپیتلیوم آبشش، پوست یا روده باشد. جنبش سلول‌های ایمنی طی دوره‌های پر استرس تحت تأثیر هورمون‌های استرس است، بنابراین تحریک ماکروفاژها که خط اول دفاعی بدن هستند ممکن است برای بقا مهم باشد (Ruane *et al.*, 2002). Ortuno و همکاران (2001) بیان کردند که استرس شدید منجر به مهاجرت لوکوسیت‌ها از قسمت قدامی کلیه به خون می‌گردد. Wendelaar (1997) بیان کرد که استرس منجر به کاهش لنفوسیت‌ها در خون محیطی می‌شود. در مطالعه حاضر کاهش لنفوسیت‌ها نسبت به گروه شاهد جزئی بوده و این اختلاف بسیار اندک می‌باشد، می‌توان عنوان نمود که محل زیست طبیعی ماهی بنی تقریباً آب لب‌شور می‌باشد و احتمالاً تحت استرس شوری قرار نگرفته است. درصد ائوزینوفیل فقط از روز هفتم با تیمار ۱۲ گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$) اما از روز چهاردهم اختلاف معنی‌دار، با تیمار شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$) اما بررسی‌های اندکی در خصوص افزایش ائوزینوفیل‌ها انجام شده است. به طور کلی میزان ائوزینوفیل‌ها در خون ماهیان پایین بوده و در شرایط طبیعی ۲ تا ۳ درصد از کل لوکوسیت‌های خون ماهیان را تشکیل می‌دهد و به ندرت گزارشاتی مبنی بر ۱۰ درصد دیده شده است (McDonald and Milligan, 1992). از این رو این شاخص، شاخص قابل اعتمادی نیست. با توجه به جدول‌های ۱ الی ۵ شاخص‌های خونی در روز اول و روز بیست و یکم در کلیه تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند که نشان دهنده‌ی این است که ماهی در معرض شوری ۴ گرم بر لیتر در روز چهاردهم و در شوری ۸ گرم بر لیتر از روز هفتم و در شوری ۱۲ گرم بر لیتر از روز سوم اکثر تغییرات خود را نشان دادند و سپس با افزایش طول مدت ماندگاری در شرایط استرس با محیط سازگار شده و شاخص‌های خونی ماهی به میزان طبیعی خود بازگشته‌اند. محدوده‌ی سطوح کورتیزول مشاهده شده در این مطالعه در تیمارهای مختلف بین ۱۵ و ۴۹/۵ بود. محدوده‌ی طبیعی سطوح کورتیزول پلازما در ماهیان استخوانی بین ۲۰/۵۴۹ و ۱۰۲/۷۴۷ نانومول بر لیتر مشاهده شده است (Othman *et al.*, 2015). در این تحقیق نتایج سطح کورتیزول سرم خون ماهیان بنی، در معرض با شوری‌های مختلف در زمان‌های مختلف نوساناتی را نشان داد، اما میزان هورمون کورتیزول با افزایش شوری فقط در تیمار مربوط به شوری ۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). افزایش سطح کورتیزول سرم به عنوان شاخص اصلی پاسخ به استرس در نظر گرفته می‌شود (McDonald and Milligan, 1992). احتمالاً علت افزایش سطح کورتیزول در شوری ۴ گرم در لیتر نسبت به شوری‌های ۸ و ۱۲ گرم در لیتر می‌تواند این باشد که ماهی بنی از لحاظ فیزیولوژیکی با آب‌های لب‌شور سازگارتر است. در مطالعه‌ای که توسط Othman و همکاران (2015) روی هیبرید TGGG در شوری‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ انجام شد، سطوح

⁸. Cytolytic

کورتیزول در شوری ۵ گرم در لیتر و سپس شوری‌های ۳۵ و ۱۵ گرم در لیتر به طور معنی داری بالا بود ($p < 0.05$). نصیری (۱۳۸۶) با بررسی اثرات استرس‌زایی شوری‌های مختلف (۰، ۴، ۸ و ۱۲ گرم در لیتر) روی بچه تاس ماهیان ایرانی و اندازه گیری میزان کورتیزول، دریافت که سطح کورتیزول خون در شوری ۴ گرم در لیتر در ساعات ۰-۱۲ و ۰-۲۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. Lim و Webster (2001) در مطالعه‌ای که روی تیلاپیای نیل انجام دادند به این نتیجه رسیدند که این ماهی در شوری ۲۰ قسمت در هزار دارای سطح کورتیزول بیش‌تری نسبت به آب شیرین و شوری ۱۰ قسمت در هزار است که احتمالاً علت آن ایجاد استرس و افزایش هورمون کورتیزول و همچنین تأیید نقش آن به عنوان هورمونی جهت سازگاری به آب شور گزارش شده است. کورتیزول سطوح یونی و اسمولالیتی پلازما را در ماهیان استخوانی سازگار شده با آب شور کاهش داده و مقاومت به شوری را پس از انتقال از آب با شوری کم به آب با شوری بالاتر ارتقاء می‌دهد (Laiz-Carrion *et al.*, 2003). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد شاخص‌های خونی و هورمون کورتیزول در این ماهی می‌تواند تحت تأثیر شوری محیط قرار گیرد اما با این وجود ماهیان بنی در این مقطع از زندگی می‌توانند شوری‌های ۸ و ۱۲ گرم در لیتر را تحمل کرده و با توجه به بحران کم‌آبی و شور شدن تدریجی منابع آبی در کشور، آب لب شور می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای پرورش و بهره‌برداری از این گونه مطرح شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با استفاده از امکانات دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گردید، در این خصوص از مسئولان محترم دانشگاه خصوصاً بخش آبزیان دانشکده‌ی دامپزشکی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

عبدلی، ا. ۱۳۷۸. ماهیان آب‌های داخلی ایران. چاپ دوم. انتشارات نقش مانا. تهران.
 محمدیان، ت.، کوچنین، پ.، نیکو، س.، شیخ‌الاسلامی، م.، بیتا، س.، اسکندری، غ.، ابهری سه‌گنبد، ح. ۱۳۸۸. مقایسه‌ی تأثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی‌دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینیپه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) بر شاخص‌های رسیدگی جنسی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله‌ی دامپزشکی ایران. سال پنجم، شماره ۲. صفحات ۸۰-۷۱.
 محمدی‌مکوندی، ز.، کوچنین، پ.، پاشا‌زانوسی، ح. ۱۳۹۰. بررسی اثرات شوری بر مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت ماهی کپور نقره‌ای انگشت قد (*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله تالاب. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال دوم، شماره ۷، صفحات ۱۷-۱۱.
 نصیری، ل. ۱۳۸۶. بررسی اثرات استرس‌زایی نوسانات شوری در تاسماهی انگشت قد ایرانی با تأکید بر شاخص‌های خونی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد. ۹۷ ص.

- Al Mukhtar, M.A., Al Noor, S.S., Saleh, J.H. 2006. General Reproductive Biology of Bunnei (*Barbus sharpeyi* Gunther, 1874) in Al Huwaizah Marsh, Basra- Iraq. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 6: 149-153.
- Balabanova, L.V., Mikryakov, D.V., Mikryakov, V.R. 2009. Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocytes to hormoneinduced stress. Inland Water Biology. 2(1): 86-88.
- Bayunova, L., Barannikova, I., Semenkova, T. 2002. Sturgeon stress reactions in aquaculture. Journal of Applied Ichthyology. 18: 397-404.
- Benfey, T.C., Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture. 184: 167-176.
- Binukumari, S., Anbarasi, S. 2011. Effects of stressors on hematological parameters in the fresh water fish, *cyprinus carpio*. International Journal of Current Research. 3(9): 042-044.
- Brett, J.R. 1958. Implications and assessments of environmental stress. In: The Investigation of Fish-Power Problems. Larkin, P.A. (ed.). University of BC: Institute of Fisheries. pp. 69-93.
- Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A., Cataudella, S. 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology. 121: 351-354.
- Chen, C., Wooster, G.A., Bowser, P.R. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of Tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. Aquaculture. 239: 421-443.

- Cheesbrough, M. 2005. Blood cell production; distinct laboratory practice in tropical countries. 2nd edition. Cambridge University. United Kingdom.
- Coad, B.W. 1991. Fishes of the Tigris-Euphrates Basin: a critical check list syllogus. Canadian Museum of Nature Canada. 68: 1-50.
- Coad, B.W., 1995. Freshwater fishes of Iran. Acta Science. National Academy of Science Brno. 29 (1):1-64.
- Dobsikova, R., Svobodova, Z., Blahova, j., Modra, H., Velisek, J. 2009. The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Czech Journal of Animal Science. 54(11): 510-518.
- Emelike, F.O., Odeyenuma, C., Jeremiah, Z.A., Obigwe, B.U. 2008. The use of anti-coagulated and defibrinated blood samples for the evaluation of red cell osmotic fragility. International Journal of Natural and Applied Sciences. 4(2): 204-208.
- Engelsma, M.Y., Hougee, S., Nap, D., Hofenk, M., Rombout, J.H., Van Muiswinkel, W.B., Lidy Verburg-Van Kemenade, B.M. 2003. Multiple acute temperature stress affects leukocyte populations and antibody response 517 in common carp, (*Cyprinus carpio* L). Fish and Shellfish Immunology. 15: 397-410.
- Erfan, S., Dae-jung, K., Mohseni, M., Yun, H., Bai, S. 2015. Effects of salinity changes on hematological responses in juvenile ship sturgeon *Acipenser nudiventris*. Fisheries and Aquatic Sciences. 18(1): 45-50.
- Feist, G., Van Enennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, C.B., Schneider, R.P., Fitzpatrick. 2004. Early identification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. Aquaculture. 232: 581-590.
- Feldman, B., Zinkl, J., Jain, N. 2000. Schalm's veterinary hematology . 5th edition. Lippincott. Williams and Wilkins. A Wolterscompany. Philadeia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo.
- Goos, H.J.T., Consten, D. 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. Molecular and Cellular Endocrinology. 197: 105-116.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. 2000. Red blood cells, anemia, and polycythemia. Textbook of Medical Physiology. 9: 388-9.
- Houston, A.H., Rupert, R. 1997. Immediate response of hemoglobin system of gold fish (*Cyprinus auratus*) to tempera change. Canadian Journal of Zoology. 54: 1731-1741.
- Kahkesh, F.B., Yooneszadeh Feshalami, M., Amiri, F., Nickpey, M. 2010. Effect of Ovaprim, Ovatide, HCG, LHRH-A2, LHRHA2+CPE and Carp Pituitary in Benni (*Barbus sharpeyi*). Artificial Breeding. Global Veterinaria. 5: 209-214.
- Katoh, F., Hyodo, S., Kaneko, T. 2004. Vacuolar- type proton pump in the basolateral plasma membrane energizes ion uptake in branchial mitochondria-rich cells of killifish, *Fundulus heteroclitus*, adapted to a low ion environment. Journal of Experimental Biology. 206: 793-803.
- Laiz-Carrion, R., Sangiao-Alvarellos, S., Guzman, J.M., Martin del Rio, M.P., Miguez, J.M., Soengas, J.L., Mancera, J.M. 2003. Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. Fish Physiology and Biochemistry. 27: 179-188.
- Lim, C., Webster, C. 2001. Nutrition and Fish Health. Food Products Press (imprint of the Haworth Press Inc.). New York. 365 p.
- Martínez-Álvarez, R.M., Hidalgo, M.C., Domezain, A., Morales, A.E., García- Gallego, M., Sanz, A. 2002. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. The Journal of Experimental Biology. 205: 3699-3706.
- McCormick, SD. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. American Zoologist. 41: 781-794.
- Mc Donald, D.G., Milligan, C.L. 1992. Chemical properties of the blood. Fish Physiology. 12: 55-133.
- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 9: 211-268.
- Morales, A.E., Cardenete, G., Abellan, E., Garcia-Rejon, L. 2005. Stressrelated physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). Aquaculture Reaserch. 36: 33-40.
- Morgan, I.D., Iwama, G.K. 1991. Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 48: 2083-2094.

- Ortuno, J., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2001. Effects of short-term crowding stress on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response. *Fish and Shellfish Immunology*. 11: 187-197.
- Othman, A.R., Kawamura, G., Senoo, Sh., Fui, C.F. 2015. Effects of Different Salinities on Growth, Feeding Performance and Plasma Cortisol Level in Hybrid TGGG (Tiger Grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* Giant Grouper, *Epinephelus lanceolatus*) Juveniles. *International Research Journal of Biological Sciences*. 4(3): 15-20.
- Pyka, J., Bartel, R., Szczerbowski, J.A., Epler, P. 2001. Reproduction of gattan (*Barbus xanthopterus* Heckel), shabbout (*Barbus grypus* Heckel), and bunni (*Barbus sharpeyi* Gunther) and rearing stocking material of these species. *Archives of Polish Fisheries*. 9 (1): 235-246.
- Ruane, N.M., Carballo, E.C., Komen, J. 2002. Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Aquaculture Research*. 33: 777-784.
- Ruane, N.M., Wendelaar Bonga, S.E., Balm, P.H.M. 1999. Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiological performance during confinement. *General and Comparative Endocrinology*. 115: 210-219.
- Salonius, K., Iwama, G.K. 1993. Effects of early rearing environment on stress response, immune function and disease resistance in juvenile Cho and Chinwok Salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 50: 759-766.
- Svobodova, Z., Vykusova, B., Machova, J. 1994. The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish.
- Thrall, M.A. 2004. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins. New York. 402 p.
- Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in fish: a Comparative review. *Biochemical and Physiology*. 141: 401-429.
- Wendelaar-Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*. 77: 591-625.
- Wiik, E., Andersen, K., Uglenes, I., Egidius, E. 1989. Cortisol-induced increase in susceptibility of Atlantic salmon, *Salmo salar*, to *Vibrio salmonicida*, together with the effects on the blood cell patterns. *Aquaculture*. 83: 201-215.
- Witeska, M. 2005. Stress in fish hematological and immunological effect of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology*. 1: 35-41.
- 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.