

Effect of Salinity on Growth Performance, Hematological Variables and Gill Chloride Cells of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

بررسی اثر شوری بر عملکرد رشد، متغیرهای خونی و سلول‌های کلرایدی آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

S. Pourmozaffar^{1*}, M. Nafisi Bahabadi², A. A. Movahedinia³, M. Mohammady⁴, Kh. Pazir⁵

1. MSc of Fisheries Department of Agricultural and Natural Resources College, Persian Gulf University, Boushehr, Iran
2. associate Professor, Fisheries Department of Agricultural and Natural Resources College, Persian Gulf University, Boushehr, Iran.
3. Assistant Professor Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
4. MSc of Fisheries Department of Agricultural and Natural Resources College, Persian Gulf University, Boushehr, Iran.
5. Assistant Professor Iran shrimp research center, Boushehr, Iran

(Received: Apr. 23, 2014; Accepted: Jan. 29, 2015)

سجاد پورمظفر^{۱*}، محمود نفیسی بهابادی^۲،

عبدالعلی موحدی‌نیا^۳، مهرزاد محمدی^۴، خلیل پذیر^۵

۱. کارشناس ارشد گروه شیلات و تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع دانشگاه خلیج فارس بوشهر، ۲. دانشیار گروه شیلات و تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع دانشگاه خلیج فارس بوشهر. ۳. استادیار گروه بیولوژی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۴. کارشناس ارشد گروه شیلات و تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع دانشگاه خلیج فارس بوشهر، ۵. استادیار و عضو هیئت علمی پژوهشکده میگو بوشهر

(تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۳، تاریخ تصویب: ۹۲/۱۰/۲۹)

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of salinity adaptation on some growth factors, hematology and chloride cell changes in the gills of the rainbow trout within 60 days. Experimental groups including fresh water, varied salinities of 15, 20 and 25 parts per thousand (ppt) respectively. The results showed that, increasing salinity caused daily growth and SGR reduction but FCR increased ($P < 0/05$). Blood samplings were performed after day 60. Reduction number of lymphocytes was observed at treatment with 20 ppt (73.56 ± 2.52), 15ppt (76.33 ± 3.51) than fresh water treatment which showed significant differences ($P < 0/05$). Tissue sections were stained with eosin-hematoxylin. The size and density of chloride cells were performed at 7, 15, 30, 45 and 60 day intervals. The results of the study showed that chloride cells concentrated mostly in the filaments and lower in the lamellae in the case of rainbow trout. The results also showed a significant increase of chloride cells at 15 and 25 ppt, ranging between 70% and 100% compared to control group ($p < 0/05$). Size changes and number of chloride cells increased significantly at different salinity levels for the rainbow trout. Salinity adaptation causes the reduction on the number of lymphocytes and causes a decrease in resistance to environmental changes.

Keywords: Chloride Cell, Hematological, *Oncorhynchus mykiss*.

چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر سازگاری به شوری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بر برخی از فاکتورهای رشد، خونی و تغییرات سلول‌های کلرایدی آبشش در طول ۶۰ روز بود. ماهیان انتخابی به ۴ تیمار که شامل تیمار شاهد، تیمار شوری ۱۵، ۲۰ و ۲۵ گرم در لیتر بودند تقسیم شدند. نتایج حاصل نشان داد که افزایش شوری موجب کاهش رشد، رشد روزانه و ضریب رشد ویژه و افزایش ضریب تبدیل غذایی گردید ($p < 0/05$). در روز ۶۰ خون‌گیری از ماهیان انجام گرفت. کاهش تعداد لنفوسیت در تیمارهای شوری ۲۰ گرم در لیتر ($73/56 \pm 2/52$)، شوری ۱۵ گرم در لیتر ($76/33 \pm 3/51$) نسبت به تیمار آب شیرین مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار آب شیرین داشت ($P < 0/05$). برای بررسی اندازه و تراکم سلول‌های کلرایدی، مقاطع بافتی با استفاده از رنگ‌آمیزی اتوزین-هماتوکسیلین در طول مدت تحقیق (روزهای ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰) انجام شد. نتایج نشان داد که جایگاه این سلول‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اکثراً بر روی قاعده فیلامنت‌ها است و کمتر بر روی لاملا شناسایی شدند. نتایج نشان داد که قرارگیری ماهیان در شوری ۱۵ و ۲۵ گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۷۰٪ و ۱۰۰٪ فراوانی سلول‌های کلرایدی نسبت به تیمار شاهد شد ($P < 0/05$). یافته‌های این تحقیق نشان داد که یکی از راهکارهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقابله با تنش شوری سازگار شدن از طریق تغییر در فراوانی و اندازه سلول‌های کلرایدی می‌باشد. مواجهه با شوری موجب کاهش جمعیت لنفوسیتی قزل‌آلا شده که در نتیجه موجب کاهش مقاومت ماهی در برابر استرس‌های محیطی و عوامل بیماری‌زا گردید.

واژه‌های کلیدی: سلول کلرایدی، خونی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان.

مقدمه

موجودات خشکی‌زی و آبی باید فشار اسمزی سلول‌هایشان را به وسیله تنظیم جریان یون‌ها و آب از غشای سلولی (اغلب با صرف انرژی) کنترل و ثابت نگه دارند. شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر رشد و بقای ماهیان می‌باشد که از طریق تنظیم فشار اسمزی این عمل صورت می‌گیرد. یکی از اعمال فیزیولوژیکی که به طور واضح در ماهیان تحت تأثیر شوری قرار دارد، رشد است. با افزایش شوری، ماهی نیاز بیشتری برای اکسیژن پیدا می‌کند و تغییراتی در فیزیولوژی ماهی رخ می‌دهد تا انرژی لازم برای تنظیم فشار اسمزی فراهم شود (Ceccaldi & Yagi, 1990). از جمله تحقیقاتی که در زمینه تأثیر شوری‌های مختلف بر روی رشد و بقای ماهیان انجام شده است، می‌توان به تحقیقاتی در مورد شوری بهینه برای رشد در ماهی سفید دریای خزر (Amiri et al., 2008; Gholampoor et al., 2011)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Nafici Bahabadi et al., 2012)، ماهی بنی (Jamily, 1993) و ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Duston, 1994) اشاره نمود.

تنظیم یونی و اسمزی در ماهیان استخوانی حاصل عملکرد تلفیقی اندام‌های دخیل در این زمینه از قبیل آبشش، کلیه و روده است (Kaneko & Katoh, 2004)، و ماهیان درگیر با تغییر اسمولالیتی محیطی، باید اسمولالیتی و تعادل یونی بدنشان را به وسیله تغییر رفتار مانند نرخ نوشیدن آب، سطوح هورمون‌های مختلف و عملکرد سطوح تنظیم اسمزی حفظ کنند (Felder et al., 2007). ماهیان یوری‌هالاین ظرفیت تنظیم اسمزی تحت شرایط محیطی مختلف (آب شیرین تا آب بسیار شور) را دارند. این ظرفیت فیزیولوژیکی عموماً با استفاده از سنجش فعالیت آنزیمی، کمیت هورمون‌ها، الکترولیت‌ها و متابولیت‌ها، بیان ژن، مطالعه بافت‌ها (آبشش، کلیه، روده) در ماهیان، مورد بررسی قرار می‌گیرد (Boutet et al., 2006).

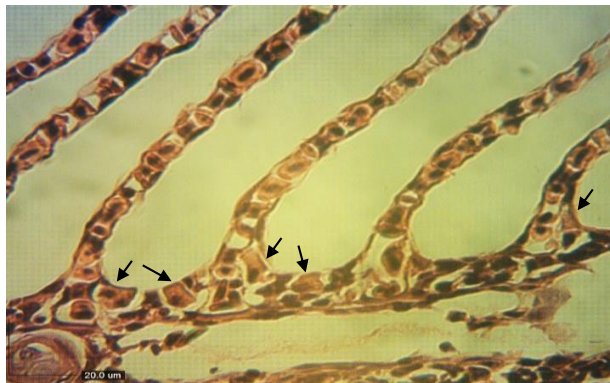
اولین بار سلول‌های کلرایدی به وسیله Keys & Wilmer (1932) شناسایی شد که آنها این سلول‌ها را غنی از میتوکندری و مسئول ترشح کلر در ماهیان استخوانی قرار گرفته در آب شور توصیف کردند (Perieria & Caetano, 2009). پمپ سدیم (Na^+/K^+ -ATPase) نخستین نیروی محرک برای تراوش داخل و خارج سلولی کلراید سدیم است که در قسمت قاعده‌ای - جانبی^۱ سلول‌های کلرایدی قرار دارد. این پمپ در آبشش، روده و کلیه ماهیان قرار دارد (Khodabandeh et al., 2009). در ماهیان استخوانی ساکن آب دریا مقدار این آنزیم در بالاترین حد خود است، اما در چندین گونه از ماهیان یوری‌هالین مثل فلاندر و تیلاپیا^۲ (Marshall & Bryson, 2006; Lee et al., 1998). میزان پمپ سدیم در آب شیرین بیشتر از ماهیان آداپته شده در آب شور بود.

سلول‌های کلرایدی آبشش در سرتاسر اپیتلیال آبشش پراکنده شده‌اند. تغییرات در مورفولوژی سلول‌های کلرایدی به دنبال انتقال به آب شور و آب شیرین به این نکته اشاره دارد که سلول‌های کلرایدی فیلامنتی و لاملایی به ترتیب در تنظیم اسمزی در آب شور و شیرین فعالیت دارند (Felder et al., 2007). افزایش اندازه و تعداد سلول‌های کلرایدی آبشش در اثر افزایش شوری در مطالعات انجام شده بر روی ماهیان استخوانی مانند ماهی آزاد چام^۳ (Uchida et al., 1996)، مارماهی اروپایی^۴ (Fontaine et al., 1995)، ماهی هامور^۵ (Caberoy & Quintio, 2000)، و ماهیان غضروفی - استخوانی تاس ماهی سفید^۶ (Mojazi Amiri et al., 2009) و فیل ماهی^۷ (Hedayati et al., 2008) گزارش شده است.

1. Basolateral
2. *Oreochromis mossambicus*
3. *Oncorhynchus keta*
4. *Anguilla Anguilla*
5. *Epinephelus coioides*
6. *Acipenser transmontanus*
7. *Huso huso*

ماهیان سردآبی کشور را به خود اختصاص داده است. پرورش قزل‌آلا در آب‌های شور و لب شور در کشور ما (با توجه به متوسط بارندگی ۲۴۵ میلی‌متر در سال که جزو کشورهای نیمه خشک و کم آب محسوب می‌شود)، از اهمیت زیادی برخوردار است. این ماهی مقاومت نسبتاً خوبی به شوری آب دارد و پرورش این گونه آب شیرین در آبی با شوری نزدیک به آب دریا در شرایط و اوزان مختلف گزارش شده است (Nafici Bahabadi, 2006). بنابراین درک مکانیسم‌های دفاعی و اسمزی این گونه بسیار مهم و ضروری به نظر می‌رسد. هدف این مطالعه ارزیابی اثرات انتقال ماهی از آب شیرین به آبی با شوری‌های هایپراسموتیک (۱۵، ۲۰ و ۲۵ گرم در لیتر) بر سلول‌های خونی و تعداد و اندازه سلول‌های کلرایدی آبشش بود.

نوسان فاکتورهای خون به عنوان شاخص‌های بیولوژیک که تحت تأثیر عوامل محیطی نظیر صید، حمل و نقل، تراکم بالا، خواص فیزیکی‌وشیمیایی آب و غیره قرار می‌گیرند، دارای اهمیت بسزایی است. شاخص‌های خونی در فیزیولوژی ماهی بسیار تأثیرگذار می‌باشد؛ لذا با شناخت صحیح از وضعیت خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌توان راندمان رشد، حفظ و بازسازی ذخایر و تکثیر و پرورش ماهیان ارزشمند را افزایش داد. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از جمله ماهیان سردآبی است که تولید آن در کشور ما از رشد مناسبی برخوردار بوده است. طبق آخرین آمار سازمان شیلات ایران در سال ۱۳۹۱ (Iranian Fisheries Office of Budget and Planning, 2012)، میزان تولید این گونه در کشور به حدود ۱۰۰ هزار تن در سال رسیده است. این گونه تولید صد در صد مزارع پرورشی



شکل ۱. نمای بخشی از فیلامنت آبششی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سازگار شده در شوری ۱۵ گرم در لیتر (رنگ‌آمیزی اتوزین-هماتوکسیلین $\times 2800$).



شکل ۲. نمای بخشی از فیلامنت آبششی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سازگار شده در شوری ۲۰ گرم در لیتر (رنگ‌آمیزی اتوزین-هماتوکسیلین $\times 2800$).

مواد و روش‌ها

تأمین ماهی

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان این تحقیق، ظاهری سالم با وزن تقریبی $28/20 \pm 2/50$ گرم است که از مزارع تکثیر و پرورش استان اصفهان خریداری و در تانک‌های مخصوص حمل ماهی با تزریق اکسیژن خالص به محل اجرای پروژه (دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر) انتقال داده شد. ماهیان در آکواریوم‌های ۹۶ لیتری (با ابعاد $40 \times 60 \times 40$ سانتی‌متر) نگهداری شدند. تیمارها شامل تیمار آب شیرین (شاهد) و تیمار شورهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ گرم در لیتر بود. ۲۷۶ عدد ماهی بعد از زیست‌سنجی اولیه به مدت ۶۰ روز (۱۵ روز طول

دوره سازگاری به شوری و ۴۵ روز نگهداری در تیمارهای شوری) نگهداری شدند.

فاکتورهای کیفی آب

عوامل فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH همه روزه به وسیله دستگاه‌های دیجیتال قابل حمل با مارک WTW با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱، محاسبه شد. اکسیژن محلول بین ۷-۹ میلی گرم در لیتر ثبت شد. pH آب در حدود ۷/۲۵-۸/۱۵ قرار داشت. دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین ۱۱-۲۰ سانتی‌گراد ثبت گردید. ترکیب یونی آب در شورهای مختلف در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. ترکیب یونی آب در شرایط آزمایشگاهی

Salinity (gr/lit)	هدایت الکتریکی ($EC \times 10^6$)	HCO_3^- (mEq/L*)	Cl^- (mEq/L)	Na^+ (mEq/L)	Mg^{2+}, Ca^{2+} (mEq/L)
۲/۷۴	۴۳۳۴	۶	۱۸	۱۹	۳۴
۱۵	۲۲۶۶۲	۵	۲۲۵	۲۴۰	۳۷
۲۰	۲۹۶۱۰	۶	۳۱۰	۳۵۰	۳۸
۲۵	۳۶۶۶۰	۵	۴۳۰	۴۴۶	۴۸

* میلی‌اکی‌والان بر لیتر.

غذادهی

غذای مورد نیاز ماهی‌ها به صورت اکسترودر^۱ با علامت اختصاری (EX-TG) از شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط ترکیبات غذایی، پروتئین خام ۴۵٪، چربی خام ۱۴٪، فیبر خام ۲٪، رطوبت ۱۰٪ و قطر خوراک ۲/۲-۲/۴ میلی‌متر می‌باشد. ۱/۵ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و بعدازظهر غذا به ماهیان خورانده شد.

خون‌گیری

نمونه‌گیری از خون ماهیان بی‌هوش شده (از هر تکرار

۳ عدد) با استفاده از عصاره گل میخک بعد از زیست‌سنجی در پایان روز ۶۰ (۴۵ روز بعد از سازگاری به شوری) انجام شد. خون‌گیری با فروبردن سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین در سیاهرگ دمی^۲ به روش حذفی و ۴۵ روز بعد از سازگاری به شوری انجام پذیرفت. شمارش گلبول‌های سفید^۳ و گلبول‌های قرمز^۴ با استفاده از محلول دایسیس^۵ با رقیق کردن خون با غلظت ۱:۵۰ از طریق لام هموسیتمتر انجام شد. شمارش افتراقی گلبول‌های

2. Caudal vein
3. White Blood Cell
4. Red Blood Cell
5. Dacies fluid

1. Extruder

تصادفی انتخاب شد. جهت بررسی تحت میکروسکوپ نوری، کمان دوم از سمت چپ سر ماهی در پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت ۳ روز تثبیت و سپس در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. به منظور تهیه مقاطع بافتی از رنگ‌آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین استفاده شد (Movahedinia *et al.*, 2009). برای تعیین تعداد (در هر میلی‌متر رشته آبششی) و مساحت (میکرومترمربع) سلول‌های کلرایدی در اپیتلیوم فیلامنتی، ۳ منطقه بین لامایی متوالی (فضای بین ۴ لاملا) در ۸ تصویر از هر ماهی با استفاده از نرم‌افزار Dinocapture (version 3.9.H) شمارش شد. پراکنش نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف-اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، اختلاف موجود بین تیمارها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار تعیین شد و نتایج حاصله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه^۳، با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین ضریب همبستگی پیرسون پارامترها با استفاده از SPSS16 مورد بررسی قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها از تست چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که همبستگی میان شوری با وزن نهایی، رشد روزانه و ضریب رشد ویژه یک رابطه منفی معنی‌دار ($P < 0.05$) دارند، در حالی که با ضریب تبدیل غذایی یک رابطه مثبت معنی‌دار بود (جدول ۲) ($P < 0.05$).

بر اساس جدول ۳، حداکثر وزن نهایی معادل $46/72 \pm 0/59$ مربوط به آب شیرین و با افزایش شوری رشد کاهش، به طوری که در تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر معادل $39/36 \pm 0/94$ و در تیمار شوری

سفید با تهیه اسمیر (گسترش خونی) و با استفاده از گیمسا ۵ درصد (ARJ:1013) به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد (Haghighi, 2009).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

وزن هر ماهی با استفاده از ترازوی دیجیتال AND مدل C0006 با دقت ۰/۰۱ گرم ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد. طول متوسط، وزن متوسط، میزان رشد روزانه، ضریب رشد ویژه^۱، راندمان تبدیل غذایی و ضریب تبدیل غذایی^۲ از جمله فاکتورهایی بودند که مورد بررسی قرار گرفت.

$$\text{وزن کل ماهی‌ها} \\ \text{تعداد ماهی‌ها} = \text{وزن متوسط} \\ \text{(Nafici Bahabadi et al., 2012)}$$

$$\text{افزایش وزن متوسط ماهی‌ها} \\ \text{تعداد روزهای پرورش} = \text{میزان رشد یا افزایش} \\ \text{وزن روزانه} \\ \text{(Nafici Bahabadi et al., 2012)}$$

$$\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \\ \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی} \\ \text{تعداد روزهای پرورش} \times 100 = \text{ضریب رشد} \\ \text{ویژه} \\ \text{(Nafici Bahabadi et al., 2012)}$$

$$\text{مقدار غذای مصرفی} \\ \text{افزایش وزن توده زنده} = \text{ضریب تبدیل غذایی} \\ \text{(Nafici Bahabadi et al., 2012)}$$

نمونه‌گیری از آبشش

نمونه‌برداری از آبشش برای بررسی تعداد و اندازه سلول‌های کلرایدی در زمان‌های ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز انجام شد. همچنین از هر تکرار ۲ نمونه به طور

1. Specific Growth Rate
2. Feed Conversion Rate

اندازه‌گیری هماتوکریت، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در شوری‌های متفاوت در جدول ۵ نمایش داده شده است.

۲۰ گرم در لیتر معادل $33/18 \pm 1/01$ بود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج حاصل از شمارش گویچه‌های قرمز و سفید،

جدول ۲. میزان ضریب همبستگی پیرسون میان فاکتورهای رشد با شوری آب

ضریب همبستگی پیرسون	فاکتور شوری	وزن ثانویه	رشد روزانه	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی
ضریب همبستگی پیرسون	شوری	-۰/۹۹۱	-۰/۹۵۴	-۰/۸۹۰	-۰/۷۵۶

جدول ۳. مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) برخی از شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوری‌های متفاوت ($n=23$)

رشد	تیمار	تیمار آب شیرین	تیمار ۱۵ گرم در لیتر	تیمار ۲۰ گرم در لیتر	تیمار ۲۵ گرم در لیتر
وزن اولیه (gr)	$30/10 \pm 1/74^a$	$28/01 \pm 2/96^a$	$26/85 \pm 0/22^a$	$29/79 \pm 1/75^a$	
وزن نهایی (gr)	$46/72 \pm 0/59^a$	$39/36 \pm 0/94^b$	$33/18 \pm 1/01^c$	**	
افزایش وزن بدن (gr)	$16/62 \pm 1/63^a$	$11/36 \pm 2/32^b$	$6/33 \pm 0/87^c$	**	
افزایش وزن (درصد)	$55\%^a$	$40\%^b$	$23\%^a$	**	
رشد روزانه (gr)	$0/37 \pm 0/037^a$	$0/25 \pm 0/05^b$	$0/14 \pm 0/01^c$	**	
ضریب رشد ویژه	$0/98 \pm 0/12^a$	$0/76 \pm 0/20^a$	$0/47 \pm 0/06^b$	**	
ضریب تبدیل غذایی	$1/16 \pm 0/11^a$	$1/83 \pm 0/35^b$	$1/84 \pm 0/11^b$	**	

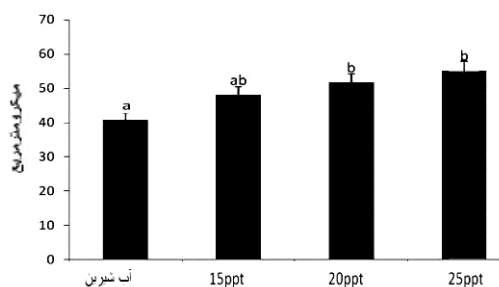
میانگین‌ها در هر ردیف با حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند ($P < 0/05$).

** ماهیان قرار گرفته در شوری ۲۵ گرم در لیتر پس از دوره سازگاری به آب شور و رسیدن به شوری ۲۵ گرم در لیتر به تدریج تا پایان دوره تلف شدند.

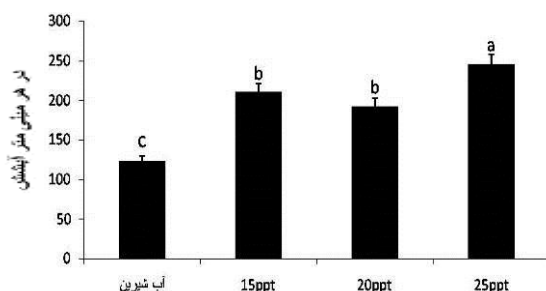
شوری، تراکم این سلول‌ها افزایش یافت و حداکثر تراکم در شوری ۲۵ گرم در لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0/05$). قرار گرفتن ماهیان در شوری ۱۵ گرم در لیتر موجب افزایش ۷۰ درصدی فراوانی سلول‌های کلرایدی نسبت به تیمار شاهد شد ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که با افزایش شوری آب یا سطح سلول‌های کلرایدی به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار آب شیرین افزایش پیدا کرد (نمودار ۱) ($P < 0/05$).

نتایج حاصل از جدول ۴ نشان داد که هیچگونه رابطه همبستگی میان شوری با گلبول سفید وجود ندارد، در حالی که رابطه میان شوری با لنفوسیت یک رابطه منفی معنی‌دار ($P < 0/05$) و رابطه میان شوری با نوتروفیل مثبت غیرمعنی‌دار بود ($P > 0/05$). همچنین رابطه همبستگی میان شوری و گلبول قرمز یک رابطه مثبت معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

نتایج به دست آمده نشان داد که بالاترین تعداد گویچه‌های قرمز و درصد هماتوکریت در تیمار شوری ۲۰ گرم در لیتر ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ($P < 0/05$). نتایج حاکی از آن بود که هیچگونه رابطه همبستگی میان شوری و گلبول سفید وجود ندارد ($P > 0/05$). در شمارش افتراقی گویچه‌های سفید، تعداد لنفوسیت‌ها با افزایش شوری کاهش یافت و رابطه منفی معنی‌داری با شوری نشان داد ($P < 0/05$). اما رابطه میان شوری با نوتروفیل، مثبت و غیرمعنی‌دار بود و حتی تفاوت معناداری بین تیمارها مشاهده نگردید ($P > 0/05$). شمارش تراکم سلول‌های کلرایدی در هر میلی‌متر آبشش با استفاده از روش رنگ‌آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین در نمودار ۲ نمایش داده شده است. اکثر سلول‌های کلرایدی بر روی فیلامنت آبششی مشاهده شد (شکل ۳). با افزایش میزان



نمودار ۱. مقایسه تغییرات اندازه (میکرومتر مربع) سلول‌های کلرایدی سازگار شده به شوری‌های متفاوت



نمودار ۲. مقایسه تغییرات تراکم سلول‌های کلرایدی (در هر میلی متر از آبشش) سازگار شده به شوری‌های متفاوت

جدول ۴. میزان ضریب همبستگی پیرسون میان فاکتورهای خونی با شوری آب

فاکتور پارامتر	هماتوکریت	گلبول قرمز	گلبول سفید	لنفوسیت	نوتروفیل
ضریب همبستگی پیرسون	۰/۴۲۳	۰/۸۵۱	۰/۰۷۱	-۰/۶۶۶	۰/۶۰۲

جدول ۵. مقایسه میانگین (± انحراف معیار) برخی از شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوری‌های متفاوت (n=۲۳)

شاخص‌های خونی	تیمار شاهد	تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر	تیمار شوری ۲۰ گرم در لیتر
گوپچه قرمز × (۱۰ ^۳) عدد در هر میلی‌متر مکعب	۸۴۷±۹۲/۰۴ ^b	۸۶۷/۶۷±۲۲/۵۰ ^b	۹۷۴/۳۳±۴۴/۹۶ ^a
گوپچه سفید × (۱۰ ^۳) عدد در هر میلی‌متر مکعب	۱۲/۳±۲/۱۳ ^a	۱۲/۶±۲/۰۳ ^a	۱۲/۳۳±۱/۲۱ ^a
هماتوکریت (درصد)	۳۵/۶۶±۵/۲۸ ^b	۳۲/۶۶±۱/۳۵ ^b	۳۹/۷±۲/۷۰ ^a
درصد لنفوسیت	۸۱/۳۳±۴/۰۴ ^a	۷۶/۳۳±۳/۵۱ ^b	۷۳/۶۶±۲/۵۲ ^b
درصد نوتروفیل	۱۶/۶۷±۲/۸۹ ^a	۲۱/۳۳±۴/۰۵ ^a	۲۳/۳۳±۵/۶۹ ^a

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف لاتین غیر همنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

لیتر وزن نهایی ماهیان به ترتیب به میزان ۱۵/۸ درصد و ۲۹ درصد نسبت به تیمار آب شیرین کاهش یافت. چنین کاهش‌ی موجب کاهش رشد روزانه در شوری ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر به ترتیب به میزان ۳۲ درصد و ۶۲ درصد گردید. همچنین ضریب رشد ویژه به میزان ۱۲ درصد در شوری ۱۵ و ۵۲ درصد در شوری ۲۰ گرم در لیتر نسبت به تیمار آب شیرین

در این مطالعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توانایی تطبیق با افزایش تدریجی شوری (طی ۱۵ روز و تغییرات اسمولالیتیه محیط تا شوری ۲۰ گرم در آزمایش (۴۵ روز)) داشته و مرگ‌ومیری را با آب شور نشان نداد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که با افزایش میزان شوری آب به ۱۵ و ۲۰ گرم در

شوری منجر به کاهش رشد و افزایش مرگ و میر می‌شود (Duston, 1994; Dusan *et al.*, 2007). همچنین مطالعات سایر محققین نشان داد که شوری ۲۰ گرم در لیتر برای ماهی چار قطبی (Arnesen, 1993a,b) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Macleod, 1977; McKay & Gjerde, 1985; Bjerknes *et al.*, 1992) برای پرورش این ماهیان مناسب و ایمن بوده، اگر چه با افزایش شوری میزان رشد کاهش می‌یابد.

پارامترهای خون‌شناسی به عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی استرس در تغییرات محیط داخلی و خارجی ماهیان استفاده می‌شود (Cataldi *et al.*, 1998). توجه به خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان، در پرورش آنها نقش مهمی دارد و یکی از حیاتی‌ترین بخش‌های بدن جانداران، خون می‌باشد. لذا آگاهی از وضعیت خونی ماهی قزل‌آلا و شناخت اثر محیط‌هایی با شرایط جدید پرورشی بر شاخص‌های خونی می‌تواند در پیشبرد اهداف حفظ، تکثیر، نگهداری و پرورش ماهیان مؤثر باشد. در شمارش افتراقی گویچه‌های سفید با افزایش شوری، تعداد لنفوسیت‌های خون به طور معنی‌داری کاهش داشت ($P < 0/05$) (جدول ۵). در پاسخ به استرس، هورمون‌های کورتیکواستروئیدی از غده درون ریز آدرنال ترشح و موجب کاهش فعالیت بافت لنفاوی در قسمت قدامی کلیه و سنتز لنفوسیت گردیده و در نتیجه کاهش تعداد لنفوسیت‌ها را به دنبال دارد (Woo *et al.*, 1987; Synderman, 1990). بیشترین سطح هماتوکریت و تعداد گویچه‌های قرمز در بالاترین شوری مشاهده شد (جدول ۵). افزایش سطح هماتوکریت می‌تواند بازخورد استرس در ماهی‌ها (Franklin *et al.*, 1992) و یا افزایش معنی‌دار ظرفیت حمل اکسیژن در خون باشد. تغییرات در شوری می‌تواند باعث افزایش متابولیسم پایه و نتیجتاً نیازمندی ماهی به اکسیژن شود (Maxime *et al.*, 1990; Jarvis *et al.*, 2003). افزایش شوری از ۱۰ به ۲۰ گرم در لیتر، باعث افزایش هماتوکریت خون قزل‌آلای رنگین‌کمان شد (Zeitoan

کاهش داشت (جدول ۳). به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش شاخص‌های رشد ماهیان در شوری‌های ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر نسبت به ماهیان آب شیرین و همچنین افزایش ضریب تبدیل غذایی در آنها، به واسطه افزایش میزان مصرف انرژی برای تنظیم اسمزی ماهیان بوده است (Nafici Bahabadi *et al.*, 2012). در این تحقیق ماهیان قزل‌آلای جوانی که در شوری ۲۵ گرم در لیتر قرار گرفتند، پس از پایان دوره سازگاری شوری به تدریج تلف شدند. وقتی که ماهی در محیط هایپر تونیک قرار می‌گیرد، از طریق مصرف انرژی و پدیده انتقال فعال سعی دارد یون‌های اضافی در محیط را که به همراه آب ورودی به خون راه یافته‌اند مبادله و تغییرات فشار اسمزی را تعدیل نماید. انتقال فعال این یون‌ها می‌تواند درصد قابل توجهی از انرژی به دست آمده از غذا را به مصرف رسانده و از یک سو موجب افزایش ضریب تبدیل غذایی و از سوی دیگر باعث کاهش میزان رشد ماهی شود. در مطالعه‌ای، به اثر تغییر شوری بر روی رشد و بقای ماهی سوف اوراسیایی^۱ پرداخته شد. برای این مطالعه ماهیان در شوری‌های صفر، ۱۰ و ۱۸ گرم در لیتر نگه داری شدند. نتایج نشان داد که ایتیمم رشد این گونه در شوری‌های صفر تا ۴ گرم در لیتر رخ می‌دهد و با افزایش شوری میزان رشد کاهش می‌یابد. به طوری که در شوری ۱۰ گرم در لیتر میزان رشد ۵۰ درصد کمتر از آب شیرین بود (Overton *et al.*, 2008). از طرفی انتقال ماهی جوان هالیبوت اقیانوس اطلس^۲ به شوری ۳۲ گرم در لیتر موجب کاهش پارامترهای رشد شد (Immland *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای که بر روی ماهی چار قطبی^۳ و ماهی آزاد اقیانوس اطلس^۴ در شرایط متفاوت آب محیط پرورش انجام گرفت، مشخص شد که افزایش

1. *Perca fluviatilis*

2. *Hippoglossus hippoglossus*

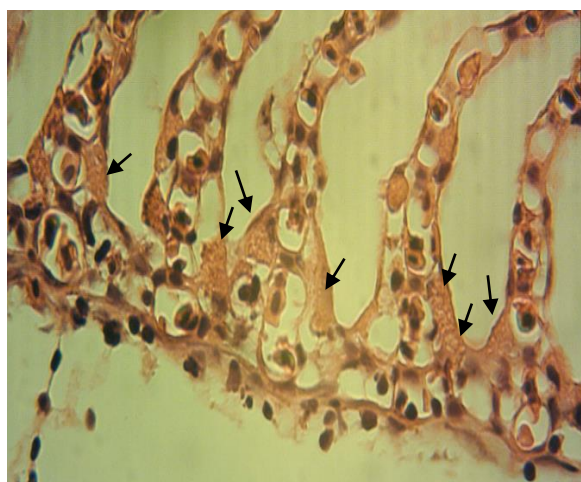
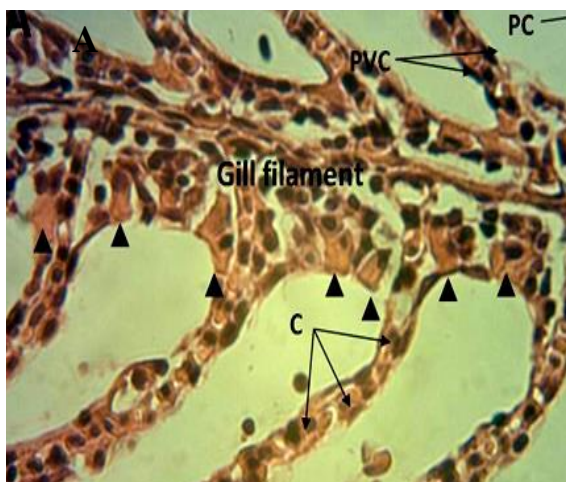
3. *Salvelinus alpinus*

4. *Salmo salar*

حضور آنها بر روی لاملاها به ندرت به ثبت رسید که نشان‌دهنده درگیر بودن اپیتلیوم فیلامنتی آبششی در تبادل یون و لاملای ثانویه مسئول مبادله گاز می‌باشد (Marshall, 2002). سلول‌های کلرایدی به وسیله سلول‌های سنگفرشی و پیرامونی احاطه شده است. در این مطالعه قرارگیری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوک هایپراسموتیک موجب افزایش اندازه و تراکم این سلول‌ها گردید، به طوری که با توجه به افزایش دو برابری تعداد سلول‌های کلرایدی در شوری ۲۵ گرم در لیتر، این ماهیان تلف شدند (نمودار ۲) ($P < 0.05$). در مطالعات مختلف الگوهای متفاوتی در مورد سازش سلول‌های کلرایدی در شوری‌های مختلف ارائه شده است. در برخی از موارد تفاوتی در تراکم سلول‌های کلرایدی در دامنه وسیعی از شوری‌ها مشاهده نشد. به‌عنوان مثال، تراکم سلول‌های کلرایدی در ماهی گل‌خورک^۳ طی سازگاری با آب دریا تغییری نکرد (Yoshikawa *et al.*, 1993).

(*et al.*, 1974). در پاسخ به استرس، سیستم عصبی سمپاتیک واکنش نشان داده و موجب انقباض طحال و رها شدن تعداد زیادی گلبول قرمز به جریان خونی می‌گردد. در مقابل در مطالعه‌ای نشان داده شد که افزایش شوری تأثیر معنی‌داری بر روی هماتوکریت خون ماهی سفید دریای خزر ندارد که دلیل آن ممکن است به دلیل استرس‌زا نبودن سطح شوری ۰ تا ۱۰ گرم در لیتر برای این ماهیان در طولانی مدت باشد (Gholampoor *et al.*, 2011). همچنین افزایش شوری، تأثیری بر هماتوکریت هیبرید تیلاپپای قرمز^۱ و تیلاپپای موازمبیک^۲ نداشت (Verdegem *et al.*, 1977).

در ماهیان استخوانی تبدلات یونی به وسیله سلول‌های خاصی در اپیتلیوم آبششی که سلول کلرایدی یا غنی از میتوکندری نامیده می‌شود، انجام می‌گیرد. سلول‌های کلرایدی در آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بر روی فیلامنت‌ها (در فضای بین لاملایی و پایه لاملاها) مشاهده شد (شکل ۳) و



شکل ۳. نمای بخشی از فیلامنت آبششی ماهی (رنگ‌آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین $\times 2800$) (A). بخشی از فیلامنت آبششی ماهی سازگار شده در شوری ۲۵ گرم در لیتر (رنگ‌آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین $\times 2800$) (B). سر پیکان‌ها، سلول‌های کلرایدی در اپیتلیوم آبششی را نشان می‌دهد. C: مویرگ خونی، PC سلول پیلار، PVC سلول اپیتلیوم سنگفرشی.

کلرایدی را می‌توان با انتقال ماهی از آب شیرین به شور مشاهده کرد (Hwang & Hirano, 1985; Ayson, 1996; Uchida & Kaneko, 1995). ماهیان مقاوم به شوری یا دیادروم سازگار شده از آب‌شیرین به شوری‌های بالاتر، اغلب افزایشی در تعداد سلول‌های غنی از میتوکندری نشان می‌دهند (Altinok *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 1999b; McCormick, 2001).

Khodabandeh *et al.* (2009) با بررسی تغییرات اندازه سلول‌های کلرایدی شاه ماهی^۱ دریای خزر قرار گرفته در آب با شوری ۳۶ و ۴۶ گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۳/۳ و ۵/۱ از لحاظ اندازه در این سلول‌ها شد. این پاسخ (افزایش اندازه و تعداد سلول غنی از میتوکندری) با نیاز به ظرفیت انتقال یون بیشتر، مرتبط است و احتمالاً نشانه افزایش و فعال‌تر شدن پمپ‌ها و ناقلین یون است. قابل تصور است که سلول‌های بزرگ‌تر می‌توانند تعداد پمپ بیشتری داشته باشند و بنابراین افزایش اندازه و تعداد آن به افزایش فعالیت آنزیمی ارتباط دارد (Laiz *et al.*, 2005).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قزل‌آلای رنگین‌کمان قادر به تحمل دامنه وسیعی از شوری‌ها و حفظ حالت هموستازی بدن در محیط‌های هایپراسموتیک می‌باشد. همچنین امکان پرورش این ماهی با وزن تقریبی ۳۰ گرم تا شوری ۲۰ گرم در لیتر امکان پذیر است، اما در مقایسه با آب شیرین رشد کاهش یافته و ضریب تبدیل غذایی افزایش می‌یابد. شناسایی سلول‌های کلرایدی آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از روش رنگ‌آمیزی ائوزین - همتوکسیلین مشخص شد که این سلول‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیشتر بر روی قاعده فیلامنت‌ها حضور دارد و به ندرت بر روی لاملا دیده

در مطالعه‌ای دیگر، فراوانی سلول‌های غنی که از میتوکندری پس از سازگاری با آب‌دریا، تفاوتی با ماهی سازگار با آب‌شیرین در باس راه‌راه^۲ و تیلاپیا^۳ نداشت ولی اندازه آنها افزایش یافت (Cioni *et al.*, 1991; Madsen *et al.*, 1994). در مقابل مطالعات متعددی نشان داده‌اند که ماهیان یوری‌هالاین یا دیادروم سازگار شده از آب‌شیرین به شوری‌های بالاتر، اغلب افزایشی در تعداد سلول‌های غنی از میتوکندری نشان می‌دهند (Altinok *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 1999b; McCormick, 2001). بر اساس نتایج این مطالعه تعداد سلول‌های کلرایدی در مواجهه با شوری‌های ۲۰ و ۲۵ گرم در لیتر به ترتیب ۵۵ و ۱۰۰ درصد افزایش را نشان داد. همچنین در تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر، تعداد این سلول‌ها با افزایش ۷۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (نمودار ۲) ($p < 0.05$). از نظر اندازه نیز سلول‌های کلرایدی ماهیان آداپته شده در شوری‌های ۲۵ و ۲۰ گرم در لیتر به ترتیب ۳۶ و ۲۵ درصد بزرگتر از سلول‌های کلرایدی تیمار شاهد بود (نمودار ۱) با نتایج سایر محققین همخوانی و مطابقت دارد. در مطالعه Fielder *et al.* (2007)، قرارگیری ماهی اسنپر^۴ در شوری ۴۵ گرم در لیتر موجب افزایش اندازه سلول‌های کلرایدی شد و با کاهش شوری، تعداد و اندازه این سلول‌ها کاهش یافت. کاهش در اندازه و تعداد سلول‌های کلرایدی در ماهی اسنپر انتقال یافته نشان‌دهنده بازخوردی از کاهش نیاز این ماهی برای دفع یون‌های سدیم و کلر در محیط‌های هایپراسموتیک است. با مطالعه بر روی ماهی شانک زرد باله^۴ با استفاده از تکنیک هیستوشیمیایی نشان داده شد که شوک هایپراسموتیک (۶۰ گرم در لیتر) موجب افزایش تعداد و اندازه سلول‌های کلرایدی نیز می‌شود (Movahedinia *et al.*, 2009). پاسخ سریع در مورفولوژی سلول‌های

1. *Morone saxatilis*

2. *Oreochromis mosambicus*

3. *Pagrus auratus*

4. *Acanthopagrus latus*

همچون دریای خزر و مناطقی همچون استان یزد، می‌توان به عنوان جایگزینی مناسب برای پرورش و بهره‌برداری از این گونه در آب شیرین مطرح کرد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس به‌خاطر مساعدت و حمایت‌هایشان در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

شد. براساس نتایج به دست آمده قرارگیری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوک هایپراسموتیک منجر به ایجاد تغییراتی در سلول‌های کلرایدی می‌شود، به طوری که با افزایش شوری، تعداد و سایز این سلول‌ها نیز افزایش می‌یابد. با توجه به بحران کم‌آبی و شور شدن تدریجی منابع آبی در کشور و همچنین پتانسیل بالای بالقوه تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوری کمتر از ۲۰ گرم در لیتر در مکان‌هایی

REFERENCES

- Altinok, IM.; Galli, S.; Chapman, FA.; (1998) Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). Comparative Biochemistry and Physiology, 120: 609-616.
- Amiri, A.; Sayyad Bourani, M.; Moradi, M.; Pourgholami, A.; (2008) The Effect of Water Salinity on Growth and Survival of *Rutilus frisii kutum* Fingerlings. Iranian Journal Fishery Science, 17: 23-30.
- Arnesen, AM.; Jorgensen, EH.; Jobling, M.; (1993b) Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, (*Salvelinus alpinus* L.), transferred from freshwater to saltwater at 8°C during summer and winter. Fish Physiology and Biochemistry, 12: 281-292.
- Arnesen, AM.; Jorgensen, EH.; Jobling, M.; (1993a) Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, (*Salvelinus alpinus* L.), following abrupt transfer from freshwater to more saline water. Aquaculture, 114: 327-338.
- Ayson, FG.; Kaneko, T.; Hasegawa, S.; Hirano, T.; (1995) Cortisol stimulates the size and number of mitochondrionrich cells in the yolk-sac membrane of embryos and larvae of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in vitro and in vivo. Journal of Experimental Zoology, 272: 419-425.
- Bjerknes, V.; Duston, J.; Knox, D.; Harmon, P.; (1992). Importance of body size for acclimation of underyearling Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) to seawater. Aquaculture, 104: 357-366.
- Boutet, I.; LongKy, C.L.; Bonhomme, F.; (2006) A transcriptomic approach of salinity response in the euryhaline teleost, (*Dicentrarchus labrax*). Gene, 379: 40-50.
- Caberoy, NB.; Quintio, GF.; (2000) Changes in Na⁺-K⁺-ATPase activity & gill chloride cell morphology in the grouper (*Epinephelus coioides*) larvae and juveniles in response to salinity and temperature. Fish Physiology & Biochemistry, 23: 83-94.
- Cataldi, E.; Di Marco, P.; Mandich, A.; Cataudella, S.; (1998) Serum parameters of Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*): effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology, 121: 351-354.
- Cioni, C.; De Merich, D.; Cataldi, E.; Cataudella, S.; (1991) Fine structure of chloride cells in freshwater and seawater adapted (*Oreochromis niloticus*) and (*Oreochromis mossambicus*). Journal Fish Biology. 39: 197-209.
- Dusan, P.; Claire, B.; Andreasen, DM.; Herolt, BW.; AMenzel, J.; (2007) Immunomodulatory effects of β-glucan on neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas*). Developmental and Comparative Immunology, 30: 817-830.
- Duston, J.; (1994) Effect of salinity on survival and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and smolts.

- Aquaculture, 121: 115-124.
- Fielder, DS.; Allan, GL.; Pepperall, D.; Pankhurst, PM.; (2007) The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, (*Pagrus auratus*). Aquaculture, 272: 656-666.
- Fontaine, YA.; Pisam, M.; Le Moal, C.; Rambourg, A.; (1995) Silvering & gill mitochondria rich cells in the Eel (*Anguilla anguilla*). Cell & Tissue Research, 281: 465-471.
- Franklin, CE.; Forster, ME.; Davison, W.; (1992) Plasma cortisol and osmoregulatory changes in sockeye salmon transferred to sea water: comparison between successful and unsuccessful adaptation. Journal of Fish Biology, 41: 113- 122.
- Gholampoor, E.; Imanpoor, MR.; Shabanpoor, B.; Hosseini, SA.; (2011) The Study of Growth Performance, Body Composition and Some Blood Parameters of (*Rutilus frisii kutum*) Fingerlings at Different Salinities. Journal of Agricultural Science and Technology 13: 869-876.
- Haghighi M.; (2009) Fish hematology laboratory methods, 1st ed: Tehran, Academic Press aquatic, 63-68.
- Hedayati, SAA.; Bagheri, T.; Yavari, W.; Bahmani, M.; Alizadeh, M.; (2008) Examination of Some Biochemical Factors of Blood Serum in Beluga (*Huso huso*) Cultured in Brackish Water. Journal Biology Iran, 4: 658-666.
- Hwang, PP.; Hirano, R.; (1985) Effects of environmental salinity on intercellular organization and junctional structure of chloride cells in early stages of teleost development. Journal of Experimental Zoology, 236: 115-126.
- Imsland, AK.; Gústavsson, A.; Gunnarsson, S.; Foss, A.; Árnason, J.; Arnarson, I.; Arnar, F.; Smáradóttir, H.; Thorarensen, H.; (2008) Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 274: 254-259.
- Iranian Fisheries Office of Budget and Planning. (2012) Statistical Yearbook of Fisheries. Fisheries organization. P 64.
- Jamily, SH.; (1993) Determine the effect of salinity on growth and survival rate of fish. Iranian Fisheries Journal, 2: 45-50.
- Jarvis, PL.; Ballantyne, JS.; (2003) Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile shortnose sturgeon (*Acipenser reirostrum*). Aquaculture, 219: 891-909.
- Kaneko, T.; Katoh, F.; (2004) Functional morphology of chloride cells in killifish (*Fundulus heteroclitus*) a euryhaline teleost with seawater preference. Fish Science, 70: 723-733.
- Kelly, SP.; Chow, INK.; Woo, NYS.; (1999b) Haloplasticity of Black Seabream (*Mylio macrocephalus*): Hypersaline to Freshwater Acclimation. Journal of Experimental Zoology, 283: 226-241.
- Khodabandeh, S.; Shahriari Moghaddam, M.; Abtahi, B.; (2009) Changes in Chloride Cell Abundance, Na⁺, K⁺-ATPase Immunolocalization and Activity in the Gills of Golden Grey Mullet, (*Liza aurata*), Fry During Adaptation to Differend Salinities. Yakhteh Medical Journal 11: 49-54.
- Laiz-Carrión, R.; Guerreiro, PM.; Fuentes, J.; Canario, AVM.; Martín del Río, MP.; Mancera, JM.; (2005) Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, (*Sparus auratus*). Journal of Experimental Zoology, 303: 557-563.
- Lee, KM.; Kaneko, T.; Katoh, F.; Aida, K.; (2006) Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu (*Takifugu rubripes*) exposed to a hypoosmotic environment. General and Comparative Endocrinology, 149: 285-293.
- MacLeod, MG.; (1977) Effects of salinity on food intake, absorption and

- conversion in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Marine Biology*, 43: 93-102.
- Madsen, SS.; McCormick, SD.; Young, G.; Endersen, JS.; Nishioka, RS.; Bern, HA.; (1994) Physiology of seawater acclimation in the striped bass, (*Morone saxatilis*) *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 1-11.
- Marshall, W.; Bryson, SE.; (1998) Transport mechanisms of seawater teleost chloride cells: an inclusive model of a multifunctional cell. *Comparative Biochemistry and Physiology* 119: 97-106.
- Maxime, V.; Peyraud-Waitzenegger, M.; Claireaux, G.; Peyraud, C.; (1990) Effects of rapid transfer from sea water to fresh water on respiratory variables, blood acid- base status and O₂ affinity of haemoglobin in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 160: 31- 39.
- McCormick, SD.; (2001) Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American Zoologist*, 41: 781-794.
- McKay, LR.; Gjerde, B.; (1985) The effect of salinity on growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 49: 325-331.
- Mojazi Amiri, B.; Baker, DW.; Morgan, JD.; Brauner, CJ.; (2009) Size dependent early salinity tolerance in two sizes of juvenile White sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 286: 121-126.
- Movahedinia, AA.; Savari, A.; Morovvati, H.; Kochanian P.; Marammazi, JG.; Nafisi, M., (2009) The Effects of Changes in Salinity on Gill Mitochondria-Rich Cells of Juvenile Yellowfin Seabream (*Acanthopagrus latus*). *Journal of Biological Sciences*, 9: 710-720.
- Nafici Bahabadi, M.; (2006) Practical Guide to Hatching and culture rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), 2nd ed: Bandarabbas, Babdarabbas university, 180-183.
- Nafici Bahabadi, M.; Soltani, M.; Falahati Marvast, A.; (2012) Effect salinity on growth performance and blood biochemical factors on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Science Kharazmi University*, 9(4): 625-641.
- Overton, JL.; Mark, B.; Helge, P.; Tobias, W.; (2008) Salinity tolerance of cultured Eurasian perch, (*Perca fluviatilis* L.) Effects on growth and on survival as a function of temperature. *Aquaculture*, 277: 282-286.
- Pereira, BF.; Flavio Henrique, C.; (2009) Histochemical technique for the detection of chloride cells in fish. *Micron*, 40: 783-786.
- Synderman, CJ.; (1990) *Principale diseases of marine fish and shell fish*, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, London, England, 516 p.
- Uchida, K.; Kaneko, T.; Yamauchi, K.; Hirano, T.; (1996). Morphometrical Analysis of Chloride Cell Activity in the Gill Filaments and Lamellae and Changes in Na⁺/K⁺- ATPase Activity During Seawater Adaptation in Chum Salmon Fry. *Journal of Experimental Zoology*, 276: 193-200.
- Verdegem, MCI.; Hilbrands, AD.; Boon, H.; (1997) Influence of Salinity and Dietary Composition on Blood Parameter Values of Hybrid Red Tilapia, (*Oreochromis niloticus Linnaeus*) × (*O. mossambicus* Peters). *Aqua Research*, 28: 453-459.
- Woo, PTK.; Leatherland, JF.; Lee, MS.; (1987) *Cryptobia salmositica*. Cortisol increases the susceptibility of rainbow trout (*Salmo bairdneri*) susceptibility of rainbow trout (*Salmo bairdneri richardson*) to experimental cryptobiosis. *Journal of fish Diseases*, 10: 75-83.
- Yagi, H.; Ceccald, HJ.; (1990) Combined influence of temperature and salinity oxygen consumption of the larval of the pink shrimp (*Palaemon sersatus*). *Aquaculture*, 86: 77-92.
- Yoshikawa, JSM.; McCormick, SD.; Young, G.; Bern, H.; (1993) Effects of salinity on

chloride cells and Na⁺/K⁺-ATPase activity in the teleost (*Gillichthys mirabilis*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105: 311-317.
Zeitoan, IH.; Ullrey, DE.; Tack, PI.;

(1974) Effects of Water Salinity and Dietary Protein Levels on Total Serum Protein and Hematocrit of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Fingerlings. *Fish Research*, 31: 1133-1134.