مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال نهم، شماره اول، پیاپی سی و سوم، تابستان ۱۳۹۹ (۱۰۱-۸۹)

بررسی تغییرات برخی از پارامترهای خون‌شناسی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در آب‌های شیرین، شور و لب‌شور

سمیرا جعفریان[۱]، محمدرضا بیواره[۲*]، حجت الله جعفریان[۳]
۱. دکتری، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران
۲. کارشناس، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران
۳. دانشیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۶)

چکیده
هرگونه تغییر در پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم می‌تواند ناشی از تغییرات نامطلوب شرایط و یا فاکتورهای استرس‌زا در محیط‌زیست ماهی باشد. در مطالعه حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر پارامترهای خون‌شناسی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در آب‌های با شوری ۰/۵ قسمت در هزار (آب شیرین)، ۳/۰۲ قسمت در هزار (آب لب‌شور) و ۱۸/۲۰ قسمت در هزار (آب شور) در سه ایستگاه مختلف در استان گلستان بررسی شد. بچه‌ماهیان با میانگین وزنی ۸۰ گرم به‌مدت ۵ ماه با استفاده از جیره‌های تجاری مخصوص ماهی قزل‌آلا تغذیه شدند. در پایان دوره، نمونه‌برداری از خون ٦۰ عدد ماهی به‌ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم از هر ایستگاه انجام شد. نمونه‌های سرم با کمک دستگاه سانتریفیوژ از سلول‌های خون جداسازی شد. پارامترهای مورد نظر با استفاده از روش‌های متداول آزمایشگاهی و اندیس‌های گلبولی با استفاده از فرمول‌های مربوطه اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید خون و ایمنوگلوبولین M بین هر سه گروه آزمایشی نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید (۳۱۰±۱٤۳۰۰ عدد در میلی‌متر مکعب) در خون ماهیان پرورشی با آب لب‌شور و بالاترین میزان ایمنوگلوبولین M (۰/۰۰۷±۰/٤۲۸ گرم در لیتر) در خون ماهیان پرورشی با آب شور ثبت شد (p<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، حجم متوسط گلبولی، متوسط هموگلوبین گلبولی و مسیر فرعی کمپلمان (C3 و C4) نیز در خون ماهیان پرورشی با آب لب‌شور در مقایسه با همنوعان پرورشی آن‌ها در آب‌های شیرین و شور از کاهشی معنی‌دار برخوردار بود (p<۰/۰۵)؛ اما اختلاف معنی‌داری در سطح این شاخص‌ها بین ماهیان پرورشی با آب‌های شیرین و شور مشاهده نشد (p>۰/۰۵). غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی نیز بین تیمارهای مختلف آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌داری بود (p>۰/۰۵). درمجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پرورش ماهی قزل‌آلا به‌عنوان یک گونه یوری‌هالین در آب‌های با شوری ۱۸~ قسمت در هزار به‌دلیل تمایل به بازگشت این شاخص‌ها به سطوح اندازه‌گیری‌شده آن‌ها در آب شیرین از وضعیت مطلوب‌تری برخوردار بوده و این گونه در شوری مذکور کمتر تحت تأثیر عامل استرس قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، پارامترهای خون‌شناسی، شوری، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

* نویسندهٔ مسئول: محمدرضا بیواره
Email: mohamadrezabivareh@yahoo.com

Comparative survey of some hematological and immunity parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in fresh, saline and brackish waters

Samira Jafaryan[1], Mohammad Reza Bivareh[2*], Hojatollah Jafaryan[3]
1. Ph.D., Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and natural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
2. M.A., Department of Fisheries Group, Faculty of Agriculture and natural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
3. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and natural resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

(Received: Jan. 20, 2019 - Accepted: May 6, 2019)

Abstract
Any change in hematological and biochemical parameters of plasma could be a predictor of unfavorable environment or effect of different stress factors in fish. The present study was designed to assess different salinity concentration induced changes hematological parameters and immunity indices in rainbow trout fishes reared in fresh (0.5ppt), brackish (3.02ppt) and salt water (18.20ppt) at three different station in Golestan Province. The experiment was beginning with the rainbow trout juvenile with initial average 50g then run for 5 months using the commercial trout feed. At the end of rearing periods, blood samples were taken from 20 individuals was apparently healthy with the mean weight of 250g from each station and serum was separated. Serum was separated with centrifuge machine and blood parameters were analyzed by the routine method used in fish hematology. The results showed a significant difference between WBC and IgM value in tree experimental group (p<0.05). The highest WBC (14300±310 10^3/mm) was found in the blood of fish fry reared in brackish water and the highest IgM value (0.428±0.007 g/l) was recorded in fish fry reared in saline water (p<0.05). RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, C3 and C4 significantly decreased in the blood of fish reared in brackish water (p<0.05). But, these indices not showed any significant difference among the fish reared in the fresh and saline water (p>0.05). But there was no significant difference in the level of these indices between cultivated fish fry with fresh and brackish waters (p> 0.05). Also, was observed no significant differences among the MCHC value in experimental group (p>0.05). In conclusion, the results of this study indicated that rearing of *O. mykiss* as a euryhaline species in saline water of ~18 ppt is more desirable due to the tendency to return these indices to measured level in fresh water and are less affected by stress.

Keywords: Hematological parameters, Immunity, Rainbow trout, Salinities.

مقدمه

ماهیان در محیط‌های طبیعی و مصنوعی همواره در معرض استرس‌های مختلفی قرار دارند (Martini Harrahy, 2000). استرس به‌عنوان هر موقعیتی تعریف می‌شود که تمایل به برهم زدن تعادل بین موجود زنده و محیطزیست دارد (Ranabir & Reetu, 2011). در واقع استرس تغییراتی در عناصر فیزیکی و سیستماتیک است که بر سلامت عمومی بدن تأثیرگذار بوده و منجر به بروز بیماری‌ها و یا بسیاری از علل مرگ‌ومیر می‌گردد (Schulte *et al*., 2014). این فرآیند ممکن است باعث مختل شدن هموستازی (Elarabany *et al*., 2017) و تأثیرات مخرب بر رفتار، رشد، تولیدمثل، عملکردهای ایمنی و تحمل بیماری گردد (Kavya *et al*., 2016).

پاسخ به استرس در ماهیان به پاسخ‌های اولیه، ثانویه و ثالثه تقسیم می‌شود. از پاسخ‌های هورمونی (کاتکولآمین‌ها و کورتیکواستروئیدها) به‌عنوان پاسخ اولیه و از تغییرات فیزیولوژیکی به‌عنوان تغییرات ثانویه در پاسخ به استرس یاد می‌شود. تغییر در رشد اسموتیک و جمعیت ماهیان نیز به‌عنوان پاسخ‌های نوع سوم مطرح هستند (Kavya *et al*., 2016). ازجمله واکنش‌های استرس در پاسخ به تغییرات فیزیولوژیکی تغییر در ترکیبات خون‌شناسی و مکانیزم‌های ایمنی است (Hamid *et al*., 2013).

در همین ارتباط Chen *et al*. (2004) توضیح دادند که پارامترهای خون‌شناسی می‌توانند ابزار مدیریتی مناسبی برای نظارت بر وضعیت سلامت ماهی مورد استفاده قرار گیرند. Lermen (2004) نیز شاخص‌های شیمیایی خون را به‌عنوان معرف‌های مهمی در پاسخ به استرس‌های فیزیولوژیکی در ماهیان مطرح کرد. کاتکول‌آمین‌ها، کورتیزول، هماتوکریت، هموگلوبین، گلوکز، لاکتات، آمینواسید و گلیکوژن کبدی به‌عنوان شاخص‌های کلاسیک در بررسی استرس طبقه‌بندی می‌شوند (Kavya *et al*., 2016).

از هر دو نوع پارامترهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی به‌عنوان شاخص‌های وضعیت سلامت در گونه‌های مختلف آبزیان بارها استفاده شده است (Ninh *et al*., 2014; Rodriguez *et al*., 2015; Moorman *et al*., 2015). پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی به سطوح مختلف شوری طی مطالعات مختلفی مورد بررسی قرارگرفته است (Hasenbein *et al*., 2013; Kultz *et al*., 2015; Sinha *et al*., 2015). این مطالعات حاکی از تحت تأثیر قرار گرفتن این پارامترها در ماهی تیلاپیا (*Oreochromus niloticuss*) (Elarabany *et al*., 2017)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Al Hilali & Al-Khshali, 2016)، کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) (Makvandi *et al*., 2012) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Ghanei Tehrani *et al*., 2017) تحت تأثیر عامل شوری است. Küçük *et al*. (2013) با بررسی شوری‌های مختلف (۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ قسمت در هزار) شاهد تغییرات معنی‌داری در میزان پروتئین کل، گلوکز، تری‌گلیسرید و یون‌های سدیم، کلراید و پتاسیم در خون ماهی تیلاپیای آبی (*Oreochromis aureus*) بودند. طبق نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه Hosseini *et al*. (2012) قرار گرفتن بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوری‌های ۷ و ۱۱ قسمت در هزار در فواصل زمانی صفر (آب شیرین)، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۲۴۰ ساعت بعد از قرار گرفتن در شوری‌های مذکور تغییرات معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و درصد نوتروفیل گزارش شد. اما اختلاف معنی‌داری در غلظت هموگلوبین، درصد لنفوسیت و مونوسیت گزارش ندادند. Pourmozaffar *et al*. (2015) نیز با بررسی شوری‌های ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر تغییرات معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، لنفوسیت و مونوسیت مشاهده کردند. در مطالعه‌ای دیگر Nafisi & Morshedi Bahabadi (2015) با مطالعه برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون، قبل از مرحله سازش‌پذیری

به آب شور و ۱، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ روز پس از معرفی به شوری‌های مختلف (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ گرم در لیتر) گزارش دادند که با افزایش میزان شوری اسمولاریته، کورتیزول، کلرینیتی، گلوکز، تری یدوتیرونین و تیروکسین خون به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. Afshari *et al.* (2016) نیز با بررسی شوری‌های ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ قسمت در هزار شاهد افزایش میزان کورتیزول و گلوکز خون ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) همسو با افزایش میزان شوری بودند. در تحقیق مذکور میزان پروتئین کل نیز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با ماهیان پرورشی در آب شیرین (گروه شاهد) به شکل معنی‌داری بالاتر بود. در مطالعه Sahafi *et al.* (2013) مقایسه پارامترهای خونی بین بچه‌ماهیان قزل‌آلای پرورشی در آب لب‌شور و آب شیرین اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، درصد هماتوکریت، هموگلوبین، اندیس‌های گلبولی (MCV، MCH و MCHC)، شمارش افتراقی لکوسیت‌ها (لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و ترومبوسیت) و یون‌های سدیم و پتاسیم نشان نداد.

شوری یکی از فاکتورهای مهم آبیوتیک است که درجه مطلوب آن خاص هرگونه بوده و می‌تواند در رشد و بقای هر گونه به شکلی متفاوت تأثیرگذار باشد (Elarabany *et al.*, 2017). در دنیا گرایش به سمت ماهیانی که مناسب پرورش در آب‌های لب‌شور و شور باشند، از مدت‌ها قبل موردتوجه بوده و پرورش آن‌ها در این زمینه از گسترش و تنوع قابل‌توجهی نیز برخوردار است (Ghanei Tehrani *et al.*, 2017). بیش از نیمی از تولیدات آبزی‌پروری در جهان به آب‌های ساحلی شور و لب‌شور اختصاص دارد (Partridge *et al.*, 2008). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های آزادماهیان، با ارزش اقتصادی بالا در پرورش جهانی است که بخش بزرگی از تولیدات آبزیان را به‌خود اختصاص می‌دهد (Azewedo *et al.*, 2004). این گونه جزو گونه‌های یوری‌هالین بوده و به‌خوبی قابلیت پرورش در آب‌های شیرین تا لب‌شور و حتی آب شور دریا در شرایط و اوزان مختلف دارا است (Nafisi, 2014).

به‌دلیل مصرف بخشی از انرژی در دسترس برای تنظیمات اسمزی، شوری معمولاً بر میزان رشد ماهیان یوری‌هالین تأثیرگذار خواهد بود (Iwama, 1996)؛ اما تحقیقات انجام‌شده روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان‌دهنده تغییرات مطلوب پارامترهای رشد در این گونه در آب‌های با شوری بالا است (Alizadeh *et al.*, 2016). برای مثال Grizzle Altinok & (2001) بیان داشتند که ماهی قزل‌آلا در شوری‌های ۳ و ۹ درصد رشد سریع‌تری در مقایسه با شوری ۱ درصد و آب شیرین دارد. Finstad *et al.* (1988) نیز گزارش دادند که این ماهی (۱۲۰–۴۰ گرمی) قابلیت تحمل شوری را پس از انتقال مستقیم از آب شیرین به آب‌شور بدون بروز هرگونه علایم استرسی دارد. Jafaryan (2009) و Ghanei Tehrani *et al.* (2014) نیز با بررسی قابلیت پرورش ماهی قزل‌آلا به‌ترتیب در آب‌های با شوری ۲/۹۵ و ۱۴ قسمت در هزار شاهد رشد بهتر این گونه در مقایسه با ماهیان آب شیرین بودند.

در بیشتر مطالعات انجام‌شده به بررسی تأثیر شوری در تغییر پارامترهای رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته‌شده و کمتر به تغییرات پارامترهای خونی و ایمنی در این گونه توجه شده است. به‌دلیل اهمیت اقتصادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در صنعت آبزی‌پروری کشور، طی یک دوره پرورش طولانی‌مدت (۵ ماهه) برخی از پارامترهای خون‌شناسی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در آب‌های شیرین، شور و لب‌شور مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق در ابتدا سه ایستگاه با شوری‌های مختلف جهت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۸۰ گرم در استان گلستان انتخاب شد. کارگاه خصوصی پرورش ماهی هامون واقع در مسیر

جاده آزادشهر به شاهرود (در فاصله ۳۵ کیلومتری استان سمنان) به‌عنوان ایستگاه پرورش ماهی با آب شیرین، کارگاه خصوصی پرورش ماهی ضمیری در روستای زرین گل (علی‌آباد کتول، گلستان) به‌عنوان ایستگاه پرورش ماهی با آب لب‌شور و سایت پرورش میگوی گمیشان واقع در جنوب شرقی دریای خزر، در حدود ۱۷ کیلومتری شمال شهر گمیشان به‌عنوان ایستگاه پرورش ماهی با آب شور دریا در نظر گرفته شد.

در ایستگاه پرورش ماهی با آب شیرین (هامون)، آب موردنیاز استخرها از طریق چشمه آب شیرین و در استخرهای آب لب‌شور (کارگاه ضمیری) از طریق رودخانه تأمین می‌شد که به‌دلیل وارد شدن آب خروجی از یک چشمه آب شور، موجب لب‌شور شدن آب ورودی به کارگاه می‌شد. در سایت پرورش میگوی گمیشان نیز جهت پرورش از آب شور دریا (تالاب گمیشان) استفاده شد. پرورش ماهی در این سه ایستگاه مطابق با روال پرورش ماهی در آن‌ها صورت گرفته و میزان تغذیه و شدت آن مطابق با شرایط اقلیمی و دمای آب در آن مناطق انجام شد.

مساحت استخرهای بتونی ۳×۳۰ متر با عمق ۱/۲ متر با تراکم ۸۰۰۰–۴۰۰۰ قطعه بچه ماهی در ابتدای دوره آزمایش و ۵۰۰۰ قطعه بچه ماهی در انتهای دوره آزمایش بود مساحت استخرهای خاکی نیز ۰/۵ هکتار (۵۰۰۰ مترمربع) با تراکم ۳۰۰۰ قطعه بچه‌ماهیان بود.

این آزمایش طی یک دوره بررسی ۵ ماهه در حدفاصل اوایل آذرماه سال ۱۳۹۰ تا اواخر فروردین‌ماه سال ۱۳۹۱ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، با سه تیمار آب شیرین (۰/۰۲±۰/۵ قسمت در هزار)، لب‌شور (۰/۱۰±۳/۰۲ قسمت در هزار) و شور (۲/۱۵±۱۸/۲۰ قسمت در هزار) هرکدام با سه تکرار انجام شد.

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، شوری، سختی کل و کدورت براساس روش‌های استاندارد (APHA/AWWA, 1998) به‌صورت هفتگی با استفاده از دستگاه مولتی‌پارامتر سنج پرتابل HACK مدل HQ40D اندازه‌گیری و ثبت شد (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه پارامترهای کیفی آب با شوری‌های مختلف در طول دوره آزمایش

پارامتر	آب شیرین	آب لب‌شور	آب‌شور
شوری (قسمت در هزار)	۰/۵۰±۰/۰۲	۳/۰۲±۰/۱۰	۱۸/۲۰±۲/۱۵
دما (°C)	۱۷/۵۰±۱/۲۴	۱۷/۰۸±۰/۹۸	۱۷/۳۱±۱/۵۶
کدورت (NTU)	۱/۳۴±۰/۱۵	۲/۲۱±۰/۳۸	۳/۱۵±۰/۶۷
pH	۷/۶۱±۰/۳۲	۷/۸۹±۰/۲۹	۸/۵۳±۰/۳۶

در انتهای دوره مطالعه (۵ ماه) تعداد ۲۰ عدد ماهی به‌ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم از هر تکرار در ایستگاه‌های مختلف (در مجموع ۶۰ نمونه) به‌طور تصادفی صید شد. با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری و از طریق ورید ساقه دمی مقدار ۳–۲ میلی‌متر خون از هر نمونه تهیه شد. در هنگام خون‌گیری از مواد بی‌هوش کننده به‌دلیل احتمال ایجاد شرایط نامناسب و استرس‌زا و تأثیر آن بر شاخص‌های خونی استفاده نشد (Hasanalipour *et al*., 2013). ماهیان صید شده به‌آرامی درون پارچه‌ای مرطوب قرارگرفته، چشم و سرپوش آبششی به‌طور کامل پوشانده و پس از آرام گرفتن ماهی نسبت به تهیه نمونه‌های خون اقدام شد. نمونه‌های خون تهیه‌شده در کنار کیسه‌های یخ (Icepack) به آزمایشگاه منتقل شد.

از نمونه‌های خون جمع‌آوری به‌صورت تقریباً مساوی مقدار ۱/۵–۱ میلی‌لیتر برای جداسازی سرم به لوله‌های همولیز فاقد ماده ضد انعقاد و ۱/۵–۱ میلی‌لیتر به لوله‌های همولیز حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۱۰ میکرولیتر به‌ازای ۰/۵ میلی‌لیتر خون) منتقل شد. جداسازی سرم از سلول‌های خون، با دستگاه سانتریفیوژ Denley مدل BS400 با دور g ۵۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ انجام شد. نمونه‌های سرم توسط سمپلر به ویال‌های اپندروف منتقل شد و تا زمان شروع آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر با دمای ۲۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (Chebanov & Ronald, 2001).

برای سنجش پارامترهای خون‌شناسی از نمونه‌های خون هپارینه استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید و قرمز مطابق روش Blaxhall & Daisley (1973) با

استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار، درصد هماتوکریت مطابق روش England & Walford (1972) به روش استاندارد میکروهماتوکریت، غلظت هموگلوبین به روش سیان‌مت هموگلوبین مطابق روش Blaxhall & Daisley (1973) و اندازه‌گیری ضرایب گلبولی شامل حجم متوسط گلبولی (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) با استفاده از فرمول‌های مربوطه اندازه‌گیری شد (Blaxhall & Daisley, 1973).

$$MCV(fl) = Ht \times 10/RBC$$
$$MCH(pg) = Hb \times 10/RBC$$
$$MCHC(\%) = Hb \times 10/Ht$$

سنجش میزان فعالیت مسیر فرعی کمپلمان (C3 و C4) بر اساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش مطابق با روش توصیفی Amar *et al.* (2000) و سنجش ایمنوگلوبولین M (IgM) با روش توصیفی Siwicki *et al.* (1994) با استفاده از کیت پروتئین تام شرکت پارس آزمون (کرج–ایران) به روش رنگ سنجی براتفورد (Kruger, 1994) انجام شد

به‌منظور تجزیه‌وتحلیل‌های آماری، در ابتدا نرمال بودن داده‌های به‌دست‌آمده با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene موردسنجش قرار گرفت. در صورت تأیید نرمال بودن از آزمون واریانس یک‌طرفه جهت تعیین ارتباط معنی‌دار بین داده‌های هر گروه و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت تأیید نهایی تست آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد. ضریب همبستگی پیرسون نیز بین شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی محاسبه شد و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار با ضریب اطمینان ۹۵ و ۹۹ درصد و ارزش P در محدوده ۰/۰۵ و ۰/۰۱ تعیین شد.

نتایج

شاخص‌های خون‌شناختی

براساس نتایج ارائه‌شده در جدول ۲، تعداد گلبول‌های سفید خون در ماهیان قزل‌آلای پرورشی با آب لب‌شور به شکل معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود (p<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و هموگلوبین متوسط گلبولی نیز در خون این ماهیان در مقایسه با همنوعان پرورشی آن‌ها در آب‌های شیرین و شور به شکل معنی‌داری پایین‌تر بود (p<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های سفید خون در ماهیان پرورشی با آب شور نیز به شکل معنی‌داری بالاتر از ماهیان پرورشی با آب شیرین اندازه‌گیری شد (p<۰/۰۵)، اما اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و هموگلوبین متوسط گلبولی بین ماهیان پرورشی با آب شیرین و شور مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

حجم متوسط گلبولی در خون ماهیان پرورشی با آب شور در مقایسه با ماهیان آب شیرین و لب‌شور به شکل معنی‌داری بالاتر بود (p<۰/۰۵). سطح این شاخص در خون ماهیان پرورشی با آب‌های شیرین و لب‌شور اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). اندازه‌گیری غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی نیز بین تیمارهای آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود (p>۰/۰۵).

شاخص‌های ایمنی

با مقایسه شاخص‌های ایمنی در سرم خون ماهیان قزل‌آلای پرورشی در شوری‌های مختلف (جدول ۳) کاهش معنی‌داری در میزان پارامتر C3 و افزایش معنی‌دار در میزان پارامتر C4 در خون ماهیان پرورشی با آب لب‌شور مشاهده شد (p<۰/۰۵). میزان این دو پارامتر در خون ماهیان پرورشی با آب شیرین و شور اختلاف معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). نتایج سنجش مقدار ایمنوگلوبولین M نیز بین هر سه گروه آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار ایمنوگلوبولین M در خون ماهیان پرورشی با آب‌شور و کمترین مقدار این شاخص در خون ماهیان آب شیرین ثبت شد.

جدول ۲. تأثیر شوری‌های مختلف بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

شاخص	آب شیرین	آب لب‌شور	آب‌شور
گلبول سفید (تعداد×۱۰^۳)	۱۲۳۰۰±۲۵^c	۱۴۳۰۰±۳۱۰^a	۱۳۷۰۰/۲۰±۲۱۰^b
گلبول قرمز (تعداد×۱۰^۶)	۰/۹۶۸۷±۰/۰۳^a	۰/۸۷۱۱±۰/۰۲^b	۰/۹۸۷۷±۰/۰۲^a
هماتوکریت (درصد)	۲۴/۲۰±۰/۸۹^a	۲۱/۲۶±۰/۶۹^b	۲۴/۹۰±۰/۹۴^a
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۸/۲۰±۰/۲۰^a	۶/۸۰±۰/۰۱^b	۸/۴۰±۰/۰۲^a
حجم متوسط گلبولی (فمتولیتر)	۲۴۹/۸۱±۸/۴۹^b	۲۴۱/۶۵±۵/۹۳^b	۲۵۲/۶۶±۹/۴۴^a
هموگلوبین متوسط گلبولی (پیکوگرم)	۸۴/۶۵±۲/۶۷^a	۷۸/۰۶±۳/۲۲^b	۸۵/۰۵±۴/۳۶^a
غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (درصد)	۳۳/۸۸±۱/۱۲^a	۳۲/۳۸±۱/۵۶^a	۳۳/۷۳±۱/۸۷^a

* حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است (p<۰/۰۵).

جدول ۳. تأثیر شوری‌های مختلف بر پارامترهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

شاخص	آب شیرین	آب لب‌شور	آب‌شور
C3 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۳۲۳±۰/۰۲^a	۰/۰۷۵±۰/۰۱^b	۰/۲۹۷±۰/۰۲^a
C4 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۰۹۰±۰/۰۰۹^b	۰/۲۹۷±۰/۰۳۰^a	۰/۰۷۵±۰/۰۰۳^b
IgM (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۲۴۸±۰/۰۰۶^c	۰/۳۲۲±۰/۰۰۹^b	۰/۴۲۸±۰/۰۰۷^a

* حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن است (p<۰/۰۵).

جدول ٤. ضریب همبستگی بین شاخص‌های خون‌شناختی و ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر شوری‌های مختلف

	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	C3	C4	IgM
WBC	−۰/۶۱۹	−۰/۶۴۸	−۰/۵۹۶	−۰/۵۳۸	−۰/۶۹۶	−۰/۷۹۰	−۰/۷۹۳	۰/۶۸۹	۰/۶۰۴
RBC	۱	۰/۹۹۹*	۱/۰۰*	۰/۹۹۵	۰/۹۹۵	۰/۹۷۱	۰/۹۶۹	−۰/۹۹۶	۰/۲۵۲
Hb		۱	۰/۹۹۸*	۰/۹۹۱	۰/۹۹۸*	۰/۹۷۹	۰/۹۷۸	۰/۹۹۹*	۰/۲۱۶
Ht			۱	۰/۹۹۸*	۰/۹۹۱	۰/۹۶۳	۰/۹۶۲	−۰/۹۹۳	۰/۲۸۱
MCV				۱	۰/۹۸۰	۰/۹۴۲	۰/۹۴۰	−۰/۹۸۲	۰/۳۴۷
MCH					۱	۰/۹۹۰	۰/۹۸۹	۱/۰۰*	۰/۱۵۳
MCHC						۱	۱/۰۰*	−۰/۹۸۹	۰/۰۱۱
C3							۱	−۰/۹۸۸	۰/۰۰۷
C4								۱	−۰/۱۶۲

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نظر McCormick (2001) هرگونه تغییر در پارامترهای خون‌شناختی به‌عنوان بخشی از پاسخ‌های اولیه ماهی در برابر استرس در نظر گرفته می‌شود. شوری نیز به‌عنوان یک عامل استرس‌زا منجر به کاهش یا افزایش پارامترهای خونی می‌گردد (Al Hilali & Al-Khshali, 2016). تغییر در پارامترهای خون‌شناسی به خارج شدن ماهی از حالت تعادل اشاره دارد و این موضوع به شکل تلاش‌های فیزیولوژیکی برای بازگشت به ثبات داخلی پس از قرار گرفتن در معرض غلظت‌های مختلف نمک نمایان می‌گردد (Schreck, 1990). این موضوع ممکن است منجر به تغییر در میزان مصرف اکسیژن، انرژی و یا تغییر در ورود و خروج یون‌ها از طریق افزایش پارامترهای خونی منعکس شود که به‌عنوان یک واسطه برای دستیابی به سطوح اکسیژنی بالاتر و انتقال بهتر یون‌ها در خون فعالیت می‌کنند (Akinrotimi *et al*., 2007). نتایج مطالعه حاضر تغییرات محسوسی در پارامترهای اندازه‌گیری شده در خون ماهیان قزل‌آلا پرورشی در آب لب‌شور (۳~

قسمت در هزار) در مقایسه با ماهیان آب‌های شیرین (۰/۵~ قسمت در هزار) و شور (۱۸~ قسمت در هزار) نشان داد.

به‌طوری‌که تعداد گلبول‌های قرمز در خون ماهیان آب لب‌شور در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی کاهش معنی‌داری نشان داد؛ به‌تبع تغییرات مشابهی نیز در خصوص تغییر مقدار هموگلوبین، درصد هماتوکریت و میزان MCV، MCH و MCHC مشاهده شد. این کاهش را می‌توان به اختلال در تنظیمات اسمزی ناشی از استرس شوری نسبت داد که باعث شکنندگی اریتروسیت‌ها می‌شود (Girling *et al.*, 2003). در واقع فشار اسمزی به‌دلیل افزایش اسمولالیته خون باعث خروج آب از سلول و کاهش درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در شوری‌های پایین می‌گردد (Soltanian & Fereidouni, 2017). از طرفی ممکن است رقیق شدن خون نیز در نتیجه نقص در اریتروپویزیز (تولید اریتروسیت‌ها) ناشی از اختلال در تنظیم اسمزی در نتایج به‌دست‌آمده تأثیرگذار باشد (Gabriel *et al.*, 2007).

افزایش تعداد گلبول‌های قرمز به‌طور عمده از طریق طحال حاصل می‌شود که مسئول ایجاد این سلول‌ها است. این اندام در اثر استرس متورم شده و باعث افزایش تولید گلبول‌های قرمز و هموگلوبین به‌عنوان یک واکنش فیزیولوژیکی به افزایش نمک در محیط پاسخ می‌دهد (Milligan & Wood, 1982). علاوه بر این، افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت ممکن است ناشی از اختلاف در مقدار آب موجود در خون نیز باشد. افزایش مقدار هماتوکریت با توجه به کاهش نسبی آب بدن به‌دلیل قرار گرفتن ماهی در آب‌های با شوری بالا و تفاوت در یون‌های موجود در محیط‌های داخلی و خارجی پذیرفته است (Martinez-Alvarez *et al.*, 2001). مطابق با یافته‌های Martinez Alvarez *et al.* (2002) در آغاز مواجه با محیط هایپراسموتیک، با کم شدن آب بدن غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت خون افزایش می‌یابد. افزایش جبرانی در مصرف آب، رقیق‌شدگی پارامترهای خون را به همراه خواهد داشت. درنهایت سطح این شاخص‌ها در اثر فعالیت مکانیسم‌های تنظیم اسمزی به مقادیر اولیه بازمی‌گردند که در بازسازی حجم خارج سلولی فعالیت می‌کنند (Mortinez Alvarez *et al.*, 2002). این یافته‌ها به‌طور کامل نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر در خصوص تمایل به بازگشت پارامترهای خون‌شناسی در آب‌های شور به سطوح اندازه‌گیری شده‌ی آن‌ها در آب‌های شیرین را توضیح می‌دهد. عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار در پارامترهای اندازه‌گیری شده بین محیط‌های آب شور و شیرین احتمالاً به‌دلیل سازگاری بهتر ماهی قزل‌آلا به شوری‌های بالا تا سطح ۱۸~ قسمت در هزار و تمایل به بازگشت این پارامترهای پس از سازگاری به مقادیر نرمال خود در آب شیرین است. به گفته Jones & Randall (1978) غلظت هموگلوبین و هماتوکریت در نتیجه افزایش فعالیت عضلانی و حرکت هم‌زمان آب از پلاسما به عضله نیز افرایش می‌یابد. Yamamoto *et al.* (1980) و Wells & Weber (1990) نیز دلیل افزایش غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت را القاء انقباضات طحالی و بسیج گلبول‌های قرمز ذخیره‌شده عنوان کردند.

در تأیید نتایج به‌دست‌آمده افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در ماهی کفال راه‌راه (*Mugil cephalus*) (Fazio *et al.*, 2013) و ماهی گلخورک (*Mudskipper periophthalmus*) (Soltanian & Fereidouni, 2017) شد. در مطالعه Elarabany *et al.* (2017) قرار دادن ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) در معرض شوری‌های صفر، ۴، ۸ و ۱۲ گرم در لیتر به‌مدت ۱۴ روز کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین را در پی داشت. درحالی‌که متوسط MCV، MCH و MCHC در تحقیق مذکور اختلاف

نشان نداد. این نتایج در خصوص MCV و MCH در مغایرت با نتایج حاضر و در خصوص MCHC در تأیید نتایج حاضر بود. ضمن آن‌که در ماهیان گلخورک (Soltanian & Fereidouni, 2017) و تیلاپیا (*Tilapia guineensis*) (Akinrotimi *et al*., 2012) نیز تغییر شوری منجر به ایجاد اختلاف معنی‌داری در اندیس‌های گلبولی در این دو گونه نشد. در مطالعه Al Hilali & Al-Khshali (2016) بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون در ماهی کپور معمولی در بالاترین غلظت نمک در آب گزارش شد. در تحقیقی مشابه Ghanei Tehrani *et al*. (2017) نیز با بررسی پارامترهای خون‌شناسی در شوری‌های ۱۳ و ۲۰ قسمت در هزار شاهد روندی صعودی در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و میزان MCV خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش میزان شوری بودند. در مطالعه Pourmozaffar *et al*. (2015) نیز بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت در خون ماهیان قزل‌آلای در معرض شوری‌های بالا ثبت شد. این محققین شاهد مرگ تمامی ماهیان در معرض شوری ۲۵ گرم در لیتر به‌تدریج و تا پایان دوره مطالعه بودند. در مغایرت با نتایج حاضر نیز Sahafi *et al*. (2013) پس از یک دوره پرورش ۱۳۵ روزه شاهد افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC خون در ماهیان قزل‌آلای پرورشی با آب لب‌شور در مقایسه با ماهیان پرورشی در آب شیرین بود.

تعداد گلبول‌های سفید ازجمله شاخص‌های مناسب در تعیین وضعیت استرس‌های فیزیولوژیکی در ماهی شناخته می‌شوند (Svobodova *et al*., 2001). در مطالعه حاضر تعداد این شاخص در خون ماهیان پرورشی با آب لب‌شور کاهش معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی نشان داد. ثابت‌شده است که لکوسیتوپنی یا کاهش کلی تعداد گلبول‌های سفید یک پاسخ غیراختصاصی ماهی به استرس‌های محیطی است (Binuramesh & Michael, 2011). نتایج حاضر نیز ممکن است به‌دلیل مقاومت کم ماهیان قزل‌آلا در برابر شوری‌های پایین و بروز استری شوری باشد که به کاهش تعداد گلبول‌های سفید و درنتیجه کاهش ایمنی در این گونه منجر شد. در تأیید نتایج به‌دست‌آمده، Pourmozaffar *et al*. (2015) گزارش دادند که تعداد گلبول‌های سفید خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزایش میزان شوری تا g/l ۱۵در مقایسه با ماهیان آب شیرین روندی صعودی داشت؛ اما با افزایش میزان شوری از g/l ۱۵ به g/l ۲۰ این روندی سیر نزولی نشان داد. Sahafi و همکاران (۲۰۱۳) نیز شاهد افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید خون در ماهی قزل‌آلای پرورشی با آب لب‌شور در مقایسه با همنوعان آب شیرین آن‌ها بودند. بالاترین تعداد گلبول‌های سفید در خون ماهی بارب نقره‌ای (*Barbonymus gonionotus*) نیز در آب لب‌شور گزارش شد (Amin, 2014).

مطالعات خیلی کمی به بررسی تأثیر شوری بر تغییر پارامترهای ایمنی در ماهیان پرداخته است (Cuesta *et al*., 2005). سیستم ایمنی و پاسخ ماهیان به‌طور کامل تحت تأثیر انواع فاکتورهای خارجی مانند دما، نور، کیفیت آب، شوری و انواع مختلف عوامل استرس‌زا قرار دارد (Magnadottir, 2010). افزایش شوری باعث افزایش پارامترهای ایمنی مانند IgM در خون ماهی می‌گردد (Uribe *et al*., 2011)؛ اما دلیل این تغییرات تا به امروز ناشناخته است (Cuesta *et al*., 2005). برخی از محققین پیشنهاد داده‌اند که افزایش شوری احتمالاً باعث افزایش بار پاتوژن‌ها برای تولید یک محیط اسمزی مطلوب‌تر می‌گردد (Bowden, 2008).

در مطالعه حاضر بالاترین میزان IgM در ماهیان آب‌شور و کمترین میزان آن در ماهیان آب شیرین ثبت شد. این نتایج ممکن است نشان‌دهنده تأثیر

افزایش شوری بر افزایش میزان IgM خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. نتایج مشابهی در زمان انتقال ماهی تیلاپیا (*O. mossambicus*) از آب شیرین به آب‌شور مشاهده شد (Yada *et al*., 2002). در ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) نیز بالاترین میزان IgM در بالاترین میزان شوری ثبت شد (Elaraban *et al*., 2017).

با توجه به این‌که میزان فعالیت سیسم فرعی کمپلمان در بسیاری از موقعیت‌های تنش‌زا کاهش می‌یابد، پیشنهاد شده است که میزان فعالیت این سیستم می‌تواند نشانگر خوبی از کاهش میزان فعالیت ایمنی در حیوانات تحت استرس باشد (Boshra *et al*, 2006). در کنار تولید ایمنوگلوبین، سطح کمپلمان C3 افزایش و C4 کاهش می‌یابد (Safari *et al*., 2016). در تأیید این موارد در مطالعه حاضر با افزایش صعودی میزان IgM شاهد کاهش میزان فعالیت C3 و افزایش C4 در ماهیان آب لب‌شور بودیم. درحالی‌که اختلاف معنی‌داری بین ماهیان آب شیرین و شور در خصوص پارامترهای مذکور مشاهده نشد. این نتایج نیز نشان‌دهنده تحمل پایین ماهی قزل‌آلا در برابر شوری‌های پایین و تمایل به بازگشت این شاخص‌ها به سطوح اندازه‌گیری شده آن‌ها در آب شیرین بود. در تأیید نتایج به‌دست‌آمده، بررسی پارامترهای ایمنی در ماهی شانک زرد باله (*Sparus aurata*) تحت تأثیر شوری‌های مختلف نشان داد که میزان IgM بعد از ۱۴ روز با افزایش میزان شوری به شکل معنی‌داری افزایش یافت و بالاترین مقدار آن در آب‌های با شوری بسیار بالا (۵۸ قسمت در هزار) ثبت شد. درحالی‌که فعالیت سیستم کمپلمان در آب‌های با شوری‌های بالا (۳۶ و ۵۸ قسمت در هزار) در مقایسه با شوری پایین (۶ قسمت در هزار) کاهش معنی‌داری نشان داد. باگذشت ۱۰۰ روز از زمان پرورش ماهی شانک زرد باله اختلاف معنی‌داری در میزان IgM خون بین شوری‌های مختلف مشاهده نشد؛ اما میزان فعالیت کمپلمان همچنان در خون ماهیان پرورشی با آب لب‌شور (۱۲ قسمت در هزار) و آب دریا (۳۸ قسمت در هزار) به شکل معنی‌داری بالاتر از مقادیر اندازه‌گیری شده در خون ماهیان پرورشی در شوری پایین (۶ قسمت در هزار) بود (Cuesta *et al*., 2005).

درمجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییر در شوری منجر به تغییر در پارامترهای خون‌شناختی و ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پاسخ به استرس جهت سازگاری با تغییرات محیط می‌گردد. این تغییرات در ماهی قزل‌آلا به‌عنوان گونه‌ای یوری‌هالین در آب‌های لب‌شور (۳~ قسمت در هزار) منجر به بروز پاسخ‌های شدیدتری در مقایسه با ماهیان آب‌های شیرین و شور گردید. درحالی‌که در ماهیان آب شور میزان استرس مشاهده شده به‌دلیل نزدیک بودن مقادیر اندازه‌گیری شده به مقادیر آب شیرین به‌مراتب کمتر بود. این نتایج پتانسیل پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را جهت پرورش در آب شور دریای خزر به‌خوبی تأیید می‌نماید.

REFERENCES

Afshari, A.; Sourinejad, I.; Sheybak, H.; Arabnejad, S. (2016). Effect of salinity stress on the growth rate, biochemical parameters and cortisol level of the blood in Sistan's loach *Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897). Journal of Applied Ichthyology Research; 4 (3): 43-52. (In Persian).

Akinrotimi, O.; Agokei, E.; Aranyo, A. (2012). Changes in blood parameters of Tilapia guineensis exposed to different salinity levels. Journal of Environmental Engineering and Technology; 1: 4-12.

Akinrotimi, O.A.; Gabriel, U.U.; Anyanwu, P.E.; Anyanwu, A.O. (2007). Influence of sex, acclimation methods and period on haematology of *Sarotherodon*

melanotheron. Research Journal of Biological Sciences; 2(3): 348-352.

Alizadeh, M.; Dadgar, Sh.; Hafezieh, M. (2016). Review on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farming in desert underground brackish water in Iran. Journal of Survey in Fisheries Sciences; 3(1): 21-35.

Altinok, I.; Grizzle, M. (2001). Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juvenile euryhaline and fresh water stenohaline fish. Fish Biology; 59(5): 1142-1152.

Amar, E.C.; Kitron, V.; Satoh, S.; Okamoto, N.; Watanabe, T. (2000). Effect of dietary β- carotene on immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science; 66: 1068-1075.

Azewedo, P.A.; Leeson, S.; Cho, C.Y.; Bureau, D.P. (2004). Growth and feed utilization of large size rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in fresh water: diet and species effects, and responses over time. Aquaculture Nutrition, 10: 401-411.

Binuramesh, R.; Michael, D. (2011). Diel variations in selected serum immune parameters in *Oreochromis mossambicus*. Fish and Shellfish Immunology; 30(3): 824-829.

Blaxhall, P.C.; Daisley, K.W. (1973). Routine hematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-781.

Boshra, H.; Li, J.; Sunyer, J.O. (2006). Recent advances on the complement system of teleost fish. Fish and Shellfish Immunology; 20: 239-262.

Bowden, T.J. (2008). Modulation of the immune system of fish by their environment. Fish and Shellfish Immunology; 25: 373-383.

Chebanov, M.; Ronald, B. (2001). The culture of sturgeon in Russia; production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources; 14: 375-381.

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 (1-4): 421-443.

Cuesta, A.; Laiz-Carrio´n, R.; Martin del Rio, M.P.; Meseguera, J.; Mancerab, J.M.; Estebana, M.A. (2005). Salinity influences the humoral immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish & Shellfish Immunol; 18(3): 255-261.

Elarabany, N.; Bahnasawy, M.; Edrees, G.; Alkazagli1, R. (2017). Effects of Salinity on Some Haematological and Biochemical Parameters in Nile Tilapia, *Oreochromus niloticus*. Agriculture, Forestry and Fisheries; 6(6): 200-205.

England, J.M.; Walford D.M. (1972). Re-assessment of the reliability of haematocrit. British Journal of Hematology; 23 (2): 247-253.

Fazio, F.; Marafioti, S.; Arfuso, F.; Piccione, G.; Faggio, C. (2013). Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet, Mugil cephalus. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology 46: 211-218.

Finstad, B.; Staurnes, M.; Reite, O.B. (1988). Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri.* Aquaculture; 72: 319-328.

Gabriel, U.U.; Anyanwu, P.E.; Anyanwu, A.O.; Akinrotimi, A.O. (2007). Effect of freshwater challenge on the blood characteristics of *Sarotherodon melanotheron*. Agricultural Journal 2: 388-391.

Ghanei Tehranei, M.; Farabi, S.M.V.; Azari, A.H.; Behrouzi, SH.; Ramazani, H.; Golaghaei Darzi, M.; *et al*. (2017). Survey of potential adaptation (Ion-Osmotic) Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling with Caspian Sea

water. Iranian Fisheries Science Research Institute, 35p. (In Persian).

Ghanei Tehrani, M.; Farabi, S.M.V.; Pourgholam, R.; Nasrollahzadeh Saravi, H.; Saeidi, A.A.; Ramzani, H.; *et al*. (2014). Indicators growth rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in earthen ponds with use of underground brackish water. Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch. 8(3), 29-39. (In Persian).

Girling, P.; Pupper, J.; Nowal, B. (2003). Effect of acute salinity and water quality change on juvenile green back flounder, *Rhombosolea taprina*. Acta Ichthyologia Pistorica; 22: 1-16.

Hamid, S.A.; Ahmed, F.M.; Mohammed, I.A.; Ali, S.M. (2013). Physical and Chemical Characteristics of Blood of two Fish Species (*Oreochromis niloticus* and C*larias lazera*). World's Veterinary Journal; 3: 17-20.

Hasenbein, M.; Komoroske, L.M.; Connon, R.E.; Geist, J.; Fangue N.A. (2013). Turbidity and salinity affect feeding performance and physiological stress in the endangered delta smelt. Integrative and comparative biology; 53: 6 20-634.

Hosseini, P.; Vahabzadeh, H.; Sayyad bourani, M.; Kazemi, R.; Zamini, A.A. (2012). Effects of Salinity increase on some Blood factors in juveniles Rainbow trout (*Oncorhynchus myki*ss). Journal of Marine Biology; 4 (2): 45-56. (In Persian).

Iwama, G.K. (1996). Growth of Salmonids. In Principles of Salmonid Culture (Pennell,W. & Barton, B. A., eds), Amsterdam: Elsevier, pp. 467–516.

Jafaryan, H. (2009). The comparison of brackish and fresh water on growth and feeding performance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of agricultural sciences and natural resources; 16(2): 89-98. (In Persian).

Jones, D.R.; Randall, D.J. (1978). The respiratory and circulatory systems during exercise. In Fish Phytiology, vol. 7 (ed. W. S. Hoar and D. J. Randall), New York: Academic Press, pp. 425-501.

Kavya, K.S.; Jadesh, M.; Kulkarni, R.S. (2016). Hematology and serum biochemical changes in response to change in saline concentration in fresh water fish *Notopterus notopterus*. World Scientific News; 32: 49-60.

Kruger, N.J. (1994). The Bradford Method for Protein Quantitation. In: Walker J.M. (eds) Basic Protein and Peptide Protocols. Methods in Molecular Biology™, vol 32. Humana Press.

Küçük, S.; Karul, A.; Yildirim, S.; Gamsiz, K. (2013). Effects of salinity on growth and metabolism in blue tilapia (*Oreochromis aureus*). African Journal of Biotechnology; 12(19): 2715-2721.

Kultz, D. (2015). Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. Journal of Experimental Biology 218, 1907-1914.

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 (1-4): 497-507.

Magnadottir, B. (2010). Immunological control of fish diseases. Journal of Marine Biotechnology, 12: 361–379.

Makvandi, H.; Khodadadi, M.; Keyvanshokoh, S.; Mohammadi Makvandi, Z. (2012). Effect of salinity stress on cortisol hormone and glucose in Grass carp fingerlings (*Ctenopharyngodon idella*). Journal of Aquatic Animals and Fisheries; 2(8): 77-84.

Martinez-Alvarez, M.; Hidalgo, M.C.; Domezain, A.; Morales, A.E.; Garcia-Gallego, M.; Sanz, A. (2002). Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity.

Journal of experimental Biology; 205: 3699-3706.

Martini Harrahy, N.L. (2001). The Effects of Elevated Temperature and Stress on Immune Function in Juvenile Chinook Salmon *(Oncorhynchus tshawytscha)*. A thesis submitted to Oregon State University, 99p.

McCormick, S.D. (2001). Endocrine control of osmoregulation in fish. American Zoologist 41 (4), 781–794.

Moorman, B.P.; Lerner, D.T.; Grau, E.G.; Seale, A.P. (2015). The effects of acute salinity challenges on osmoregulation in Mozambique tilapia reared in a tidally changing salinity. Journal of Experimental Biology; 218: 731-739.

Nafisi Bahabadi, M.; Morshedi, V. (2015). Changes osmolarity, cortisol and thyroid hormones (T3, T4) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to different salinity levels. Quarterly Journal of Experimental Animal Biology; 4(1): 67-78.

Nafisi, M. (2014). Growth performance and endocrine response of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in adaptation to different environmental salinities. Journal of Animal Researches; 27(3): 417-429. (In Persian).

Ninh, N.H.; Thoa, N.P.; Knibb, W.; Nguyen, N.H. (2014). Selection for enhanced growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish water (15–20ppt) in Vietnam. Aquaculture; 428-429: 1-6.

Partridge, G.J.; Lymbery, A.J.; George, R.J. (2008). Finfish mariculture in inland Australia: A review of potential water sources, species and production systems. Journal of the World Aquaculture Society; 39: 291-310.

Pourmozaffar, S.; Nafisi Bahabadi, M.; Movahedinia, A.A.; Mohammady, M.; Pazir, Kh. (2015). Effect of Salinity on Growth Performance, Hematological Variables and Gill Chloride Cells of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Experimental Animal Biology; 2(4): 1-14. (In Persian).

Rodriguez-Montes de Oca, G.A.; Roman-Reyes, J.C.; Alaniz-Gonzalez, A.; Omar, C.; Serna-Delval, G.M-C.; Rodriguez-Gonzalez, H. (2015). Effect of salinity on three tilapia (*Oreochromis* sp.) strains: hatching rate, length and yolk sac size. International Journal of Aquatic Science; 6(1): 96-106.

Safari, R.: Nasrolahzadeh, H.; Saeidi, A.A.; Farabi, M.V.; Mokarami, A.; Yaghobzadeh, Z.; *et al*. (2016). Production of bacterial probiotic from trout (*Oncorhynchus mykiss*) for improvment of immune system and challenge to *streptococcusis* Apprpved. Iranian Fisheries Science Research Institute, 62p. (In Persian).

Sahafi, H.H.; Masaeli, S.; Alizadeh, M.; Negarestan, H.; Naji, T. (2013). A study on growth parameters, blood factors and proximate composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in underground brackish and freshwater. Iranian Journal of Fisheries Sciences; 12: 836-842.

Schreck, C.B. (1990). Physiological behavioral and performance indicators of stress, In biological Indicators of stress in fish (S.M. Adams, ed). Bethesda USA: American Fisheries Society. pp. 29-37.

Schulte PM. (2014). What is environmental stress? Insights from fish living in a variable environment. Journal of Experimental Biology; 217: 23-34.

Sinha, A.K.; AbdElgawad, H.; Zinta, G.; Dasan, A.F.; Rasoloniriana, R.; Asard, H.; *et al*. (2015). Nutritional status as the key modulator of antioxidant responses induced by high environmental ammonia and salinity stress in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). PloS one, 10(8):e0135091.

Siwicki, A.K.; Anderson, D.P.; Rumsey, G.L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affect non-specific immunity and protection againstfurunculosis. Veterinary Immunology and

Immunopathology; 41 (1-2): 125-139.

Soltanian, S.; Fereidouni, M.S. (2017). Haematological, Blood Biochemical and Immunological Responses to Gradual Acclimation to Low-Salinity Water in Walton's Mudskipper *Periophthalmus Waltoni* Koumans, 1941 (Perciformes: Gobiidae). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine; DOI: 10.15547/bjvm.2021.

Svobodova, Z.; Flajšhans, M.; Kolařova, J.; Modra, H.; Svoboda, M.; Vajcova V. (2001). Leukocyte profiles of diploid and triploid tench, *Tinca tinca* L. Aquaculture; 198: 159-168.

Uribe, C.; Folch, H.; Enriquez, R.; Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. Veterinarni Medicina; 56(10): 486–503.

Wells, R.M.G.; Weber, R.E. (1990). The spleen in hypoxic and exercised rainbow trout. Journal of Experimental Biology; 150(1): 461-466.

Yada, T.; Uchida, K.; Kajimura, S.; Azuma, T.; Hirano, T.; Grau, E. (2002). Immunomodulatory effects of prolactin and growth hormone in the tilapia, Oreochromis mossambicus. Journal of endocrinology; 173: 483-492.

Yamamoto, K.I. (1988). Contraction of spleen in exercised freshwater teleost. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology; 89(1): 65-66.