



Original Research Paper

The effect of feeding frequency and salinity on blood factors, immunity and stress indicators of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juveniles

Seyedeh Maryam Ahadi ¹, Habib Vahabzadeh ^{1*}, Hossein Khara ¹, Zabih Ollah Pajand ²,
Mohammad Sayad Borani ³

¹ Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

² International Sturgeon Research Institute of the Caspian Sea, Iranian Fisheries Sciences research, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

³ Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences research, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran

Key Words

Stellate
Feeding frequency
Salinity
Blood, Immunity
Stress parameters

Abstract

Introduction: The aim of this study was to evaluate the effect of feeding frequency and salinity on blood factors, immunity and stress indices of farmed stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) in 1399.

Materials & Methods: For this purpose, 810 juvenile stellate sturgeon (average weight 12.24 g) in 9 treatments and each with three replications with three salinity levels and three feeding frequency levels were considered. Treatments included: Treatment 1: Twice daily feeding and zero salinity, Treatment 2: Four times daily feeding and zero salinity, Treatment 3: 6 times daily feeding and zero salinity, Treatment 4: Twice daily feeding and 6 g salinity Per thousand, treatment 5: four times a day feeding and salinity 6 grams per thousand, treatment 6: six times a day feeding and salinity 6 grams per thousand, treatment 7: twice daily feeding and salinity 12 grams per thousand, treatment 8: Four times feeding load 12 grams per day and salinity per thousand and treatment 9: 6 times per day and salinity 12 grams per thousand. The fish were reared for eight weeks. Blood samples were then taken from the fish.

Results: The results showed that in most cases, the number of white blood cells, red blood cells, blood indices in treatments 4 and 6 were higher than other treatments ($P < 0.05$). Also, the amount of IgM, lysozyme and total immunoglobulin in treatments 3 and 4 were higher than other treatments ($P < 0.05$). The results of stress indicators showed that the serum glucose and cortisol levels of fish had a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Conclusion: According to the results, it can be said that it is possible to breed stellate sturgeon in different salinities and increasing the number of feedings helps this fish to withstand different environmental conditions. However, due to economic issues and labor costs, it is recommended to feed the fish 4 times a day.

* Corresponding Author's email: habib.vahabzadeh@gmail.com

Received: 30 March 2021; Reviewed: 3 May 2021; Revised: 9 July 2021; Accepted: 18 August 2021

(DOI): [10.22034/AEJ.2021.294948.2581](https://doi.org/10.22034/AEJ.2021.294948.2581)

مقاله پژوهشی

تأثیر دفعات غذادهی و شوری بر فاکتورهای خونی، ایمنی و شاخص‌های استرس بچه‌ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*)

سیده مریم احمدی^۱، حبیب وهابزاده^{۱*}، حسین خارا^۱، زبیح‌اله پژند^۲، محمد صیادبورانی^۳

^۱ گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

^۲ موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

^۳ پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر دفعات غذادهی و شوری بر فاکتورهای خونی، ایمنی و شاخص‌های استرس بچه‌ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) در سال ۱۳۹۹ انجام شد.

مواد و روش‌ها: به‌همین منظور ۸۱۰ بچه‌ماهی اوزون برون (میانگین وزن ۱۲/۲۴ گرم) در ۹ تیمار و هریک با ۳ تکرار با سه سطح شوری و سه سطح دفعات غذادهی در نظر گرفته شدند. تیمارها شامل این موارد بودند: تیمار ۱: دو بار غذادهی در روز و شوری صفر، تیمار ۲: چهار بار غذادهی در روز و شوری صفر، تیمار ۳: شش بار غذادهی در روز و شوری صفر، تیمار ۴: دو بار غذادهی در روز و شوری ۶ گرم در هزار، تیمار ۵: چهار بار غذادهی در روز و شوری ۶ گرم در هزار، تیمار ۶: شش بار غذادهی در روز و شوری ۶ گرم در هزار، تیمار ۷: دو بار غذادهی در روز و شوری ۱۲ گرم در هزار، تیمار ۸: چهار بار غذادهی در روز و شوری ۱۲ گرم در هزار و تیمار ۹: شش بار غذادهی در روز و شوری ۱۲ گرم در هزار. ماهیان به‌مدت هشت هفته پرورش داده شدند. سپس از ماهیان خونگیری به‌عمل آمد.

نتایج: نتایج نشان داد که در اکثر موارد تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، اندیس‌های خونی در تیمارهای ۴ و ۶ بیش‌تر از سایر تیمارها بودند ($P < 0/05$). هم‌چنین میزان IgM، لیزوزیم و توتال ایموگلوبولین در تیمارهای ۳ و ۴ بیش‌تر از سایر تیمارها بودند ($P < 0/05$). نتایج بررسی شاخص‌های استرس بیان‌کننده آن بود که میزان گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهیان در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری داشتند ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت امکان پرورش ماهی ازون برون در شوری‌های مختلف را داشته و افزایش دفعات غذایی به این ماهی کمک می‌کند شرایط محیطی متفاوت را تحمل نماید. البته با توجه به مسایل اقتصادی و هزینه کارگر توصیه می‌شود ماهیان روزانه ۴ بار در روز غذادهی شوند.

مقدمه

ماهیان خاویاری از ماهیان با اهمیت بیولوژیکی و اقتصادی هستند. بیش تر آن‌ها به دلیل بزرگ بودن، بلوغ جنسی دیررس، مدت طولانی بین تخم‌ریزی و طول عمر در معرض خطر انقراض هستند (۱). از بین تاس‌ماهیان دریای خزر، ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) از اهمیت خاصی برخوردار است. این گونه در سواحل جنوبی دریای خزر در تمام بخش‌ها پراکنش دارد و فراوانی آن در غرب بیش تر از شرق است (۲). در طی سال‌های گذشته تلاش‌های خوبی در جهت پرورش ماهیان خاویاری در محیط آب شیرین و شور صورت گرفته است. به طوری که پرورش با آب شور شامل پرورش در قفس در دریای خزر، پرورش در نواحی ساحل دریای خزر با پمپاژ آب شور دریای خزر و پرورش در داخل ایران با منابع آب شور می‌شود. از طرفی چندین دهه است که بچه‌ماهیان خاویاری از جمله ماهی ازون برون هر ساله به منظور بازسازی ذخایر دریای خزر تکثیر و سپس به رودخانه‌های منتهی به این دریا رهاسازی می‌شوند. بنابراین شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر رشد و بقای ماهیان می‌باشد (۳). شوری مجموعه‌ای از عملکردهای رشد شامل بازدهی تبدیل غذا، نرخ متابولیک، جذب غذا و تعادل هورمون‌های دخیل در متابولیسم را تحت تاثیر قرار دهد. با این وجود بسته به گونه مورد نظر مرحله رشد، فصل و دوره سازگاری، یک سری اختلاف‌ها با توجه به اثر شوری بر جذب غذا اتفاق می‌افتد. پس شوری به عنوان عامل ایجاد استرس می‌تواند وضعیت درونی ماهی را به طور کامل تحت تاثیر قرار دهد (۴). از طرفی غذا و تغذیه ماهیان خاویاری همانند سایر آبزیان از مهم‌ترین عوامل موثر در تولید این ماهیان محسوب می‌گردد. زیرا تغذیه مناسب از مهم‌ترین عوامل موثر در رشد، تولیدمثل و طول عمر ماهی است. امروزه کیفیت غذا و استراتژی‌های غذایی در علم تغذیه از اهمیت بسیاری برخوردارند. از این رو می‌توان با غذاده مناسب، پرورش ماهیان خاویاری را اقتصادی کرده و علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه را نیز افزایش داد. همان‌طور که می‌دانیم فاکتورهای بی‌شماری در میزان رشد ماهی تاثیر گذارند، که یکی از فاکتورهای مهم مدیریت تغذیه و غذایی است. در صورتی که دفعات غذایی مطابق با روند طبیعی تغذیه باشد سبب افزایش رشد، بازماندگی و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود (۵). برنامه تغذیه‌ای مطلوب سبب بهبود شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی، ضریب تبدیل غذایی، کمک به کاهش فضولات ماهی، کاهش اتلاف غذا، کاهش تنوع اندازه، درصد افزایش تولید و بهبود کیفیت آب می‌شود (۶، ۷). جیره روزانه را ممکن است تنها در یک وعده غذا و یا در چند وعده در روز بدهند. البته دفعات مطلوب غذایی برای ماهی و میگو ممکن است بر حسب گونه، سن، اندازه، فاکتورهای

محیطی و کیفیت غذا متفاوت باشد. دفعات مطلوب غذایی برای ماهیان مختلف، از تغذیه دائم برای لارو گربه ماهی آفریقائی *Clarias gariepinus* (۸) تا فقط یک وعده غذای یک روز در میان برای هامور مصبی *Epinephelus salmoides* (۹) و باس دریایی *Dicentrarchus labrax* (۱۰) متغیر می‌باشند. اطلاعات محدود موجود پیشنهاد می‌نمایند که دفعات غذایی را می‌توان برای هر گونه و برای اندازه‌های مختلف ماهیان همان گونه تعیین نمود. تاکنون مطالعات کمی روی اثر توام شوری و دفعات غذایی در ماهیان خاویاری صورت گرفته است. Giberson و Litvak اهمیت دفعات تغذیه روی رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهی خاویاری اقیانوس اطلس (*Acipenser oxyrinchus*) و ماهی خاویاری پوزه کوتاه (*A. brevirostrum*) را بررسی کردند (۱۱). Andrei و همکاران بیان کردند که تغذیه تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) دو بار و یکبار در روز بیش ترین عملکرد رشد را نسبت به غذایی با سه و چهار وعده غذایی در روز داشت، پایدارتر است (۱۲). Yazdani Sadati و همکاران بیان کرد که شاخص‌های رشد و خونی تاسماهی شپ و وابسته به دفعات غذایی نبوده و تغذیه دو بار در روز از نظر اقتصادی مناسب است (۱۳). Lee و همکاران گزارش کردند که تغییر وضعیت تغذیه‌ای بر روی ماهیان خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) باعث کاهش تحمل به شوری ماهیان خاویاری جوان می‌شود (۱۴). با توجه به مطالب بیان شده و توسعه روزافزون پرورش ماهیان خاویاری در منابع آبی مختلف شیرین و شور، درک اثر دفعات غذایی در شوری‌های مختلف در جیره غذایی ماهیان خاویاری پرورشی که به طور معمول زیستگاه اصلی آن‌ها آب‌های لب شور می‌باشد، می‌تواند عاملی موثر و حیاتی برای توسعه پرورش و حفظ ذخایر و بازسازی این گونه‌های با ارزش دریایی محسوب گردد. به همین دلیل این تحقیق به منظور بررسی تأثیر دفعات غذایی و شوری روی شاخص‌های خونی - ایمنی و استرس بچه‌ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۹ و در ایستگاه تحقیقات تاسماهیان گیلان وابسته به مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر (واقع در ساحل روستای چایجان، غرب شهر کلاچای، شهرستان رودسر) انجام گرفت. هم‌چنین اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه ویروم و رشت انجام گرفت. منبع تامین آب شور وان‌های پرورش آب دریای خزر بود که از طریق پمپاژ به ایستگاه انتقال پیدا می‌کرد. آب شیرین نیز از آب چاه تامین می‌شد. قبل از شروع آزمایش، تعداد

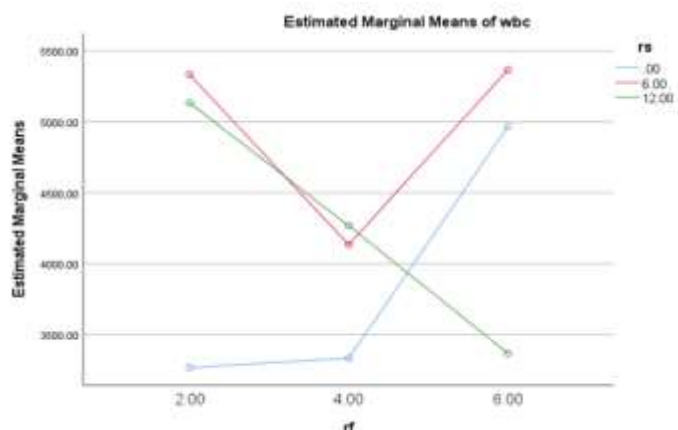
تهیه سرم یا پلاسما در آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور (rpm) سانتریفیوژ شدند (۱۶). اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون، با استفاده از دستگاه اتوالایزر (Eppendorf, EPOS) ساخت کشور آلمان، طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از کیت های آزمایشگاهی انجام شد. در آزمایشگاه برای شمارش گلبول های قرمز و سفید، نمونه خون ها پس از همگن سازی به کمک پیپت ملانژور و محلول رقیق کننده رنگی ریس، رقیق و شمارش شدند (به علت تراکم بالای یاخته های خونی ماهیان) همچنین مقادیر هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، شاخص های گلبول قرمز و تشخیص افتراقی گلبول سفید براساس روش های استاندارد انجام گرفت (۱۷). شاخص های ایمنی شامل Igm با استفاده از روش ایمونوتوربیدی متری Immuno turbidimetric و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد (۱۸، ۱۹)، سطوح لیزوزیم به روش طیفسنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر (۲۰) و توتال ایمونوگلوبولین با استفاده از روش Siwicki و همکاران اندازه گیری شدند (۲۱). فاکتورهای استرس بررسی شده شامل کورتیزول و گلوکز بود. ورتیزول پلاسما براساس واکنش رقابتی با استفاده از کیت تجاری (شرکت ایمنوتک، ماری، فرانسه) به وسیله روش رادیوایمونواسی اندازه گیری شد (۲۲). سنجش گلوکز به روش فتومتری با استفاده از دستگاه اتوالایزر (Autoanalyser) (perstige 24i) و کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) مطابق پروتکل ارائه شده توسط سازنده برحسب میلی گرم بردسی لیتر انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها، ابتدا نرمال بودن داده ها در گروه ها و تکرارها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده ها به منظور مقایسه آماری بین گروه ها در تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) و جهت مقایسه گروه ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. برای مقایسه اثرات متقابل دفعات غذایی و شوری روی شاخص های مختلف خونی، ایمنی و استرس از آزمون چندعاملی استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel ۲۰۰۷ استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان داد که تعداد گلبول های سفید خون ماهیان در تیمارها روند یکسانی نداشته و براساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری داشتند ($P < 0.05$). نتایج نشان می دهد که میانگین تعداد گلبول های سفید در تیمارهای ۴ و ۶ به

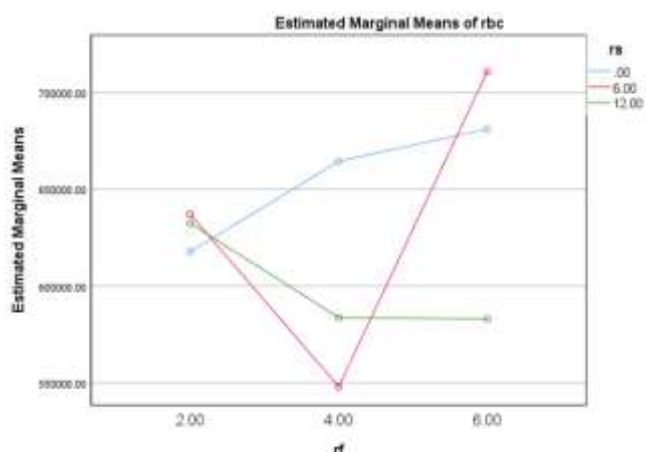
۸۱۰ قطعه اوزون برون پرورشی با میانگین وزن ۱۲/۲۴ گرم با استفاده از تانکرهای مخصوص حمل ماهی از مؤسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر به ایستگاه تحقیقات تاسماهیان گیلان منتقل شدند. قبل از رهاسازی، مخازن به وسیله پرمنگنات پتاسیم و آب نمک غلیظ ۷۰٪ کاملاً ضد عفونی شدند، تا محیط عاری از هرگونه آلودگی و بیماری شود. پس از شستشو، مخازن در مرحله اول با آب شیرین آبگیری شده و ماهیان به مدت یک هفته در آب شیرین نگهداری شدند تا با آن شرایط سازگار شوند. ضمن این که مخازن دارای روکش فایبرگلاس با دریچه های بودند که امکان دسترسی به غذا و نور خورشید را فراهم می آورد. همان طور که بیان شد برای تامین منبع آب شور و شیرین از آب دریای خزر و آب چاه استفاده شد. همچنین برای تامین آب با شوری ppt ۶ اقدام به ترکیب آب شور دریا و آب شیرین چاه شد. جهت تیمار بندی سه سطح شوری (۰، ۶، ۱۲ ppt) و سه سطح دفعات غذایی به شرح ذیل در نظر گرفته شد (۱۵)، به طوری که در مجموع ۹ تیمار (هریک با ۳ تکرار) در نظر گرفته شد که شامل: تیمار ۱: ۲ بار غذایی در روز و شوری صفر، تیمار ۲: ۴ بار غذایی در روز و شوری صفر، تیمار ۳: ۶ بار غذایی در روز و شوری صفر، تیمار ۴: ۲ بار غذایی در روز و شوری ppt ۶، تیمار ۵: ۴ بار غذایی در روز و شوری ppt ۶، تیمار ۶: ۶ بار غذایی در روز و شوری ppt ۱۲، تیمار ۷: ۲ بار غذایی در روز و شوری ppt ۱۲، تیمار ۸: ۴ بار غذایی در روز و شوری ppt ۱۲ و تیمار ۹: ۶ بار غذایی در روز و شوری ppt ۱۲. همچنین زمان های غذایی برای ۲ بار غذایی در روز در ساعت های ۸، ۲۰، ۴ و ۸، ۲۰، ۴ بار غذایی در روز در ساعت های ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ بود. در طول اجرای این تحقیق برخی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد اندازه گیری و کنترل قرار گرفت. فاکتورهای دما، pH، هدایت الکتریکی و اکسیژن محلول آب به صورت روزانه و با استفاده از مولتی متر دیجیتال مدل HQ40d آمریکایی اندازه گیری شدند. در طول دوره آزمایش دمای آب 19.5 ± 1.2 درجه سانتی گراد، اکسیژن 5.60 ± 0.44 میلی گرم در لیتر و درصد اشباعیت اکسیژن محلول $6.0/47 \pm 3/6$ و pH 7.83 ± 0.08 بود. در پایان دوره، خونگیری از بچه ماهیان ازون برون پرورشی جهت انجام آزمایش های خون شناسی - ایمنی و استرس صورت گرفت. بدین منظور جهت جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خونگیری، تغذیه ماهیان قطع گردید و از هر تکرار ۳ عدد ماهی (از هر تیمار ۹ نمونه)، به طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ساقه دمی ماهی با پارچه تمظیف خشک شد و با استفاده از سرنگ ۲ سی سی از ساقه دمی در انتهای باله مخرجی به مقدار حدود ۲ سی سی نمونه خون تهیه و در ۲ لوله اپندورف که یکی هپارینه بوده است تخلیه گردیدند. نمونه ها برای

غذادهی ($P < 0.05$) و میزان شوری ($P < 0.05$) و اثر متقابل آنها ($P < 0.05$) در تعداد گلبول‌های سفید تاثیر داشته است. به‌طوری‌که با افزایش تعداد دفعات غذادهی و افزایش شوری میزان گلبول‌های سفید بچه‌ماهیان افزایش یافته است (شکل ۲).



شکل ۲: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر تعداد گلبول‌های سفید خون

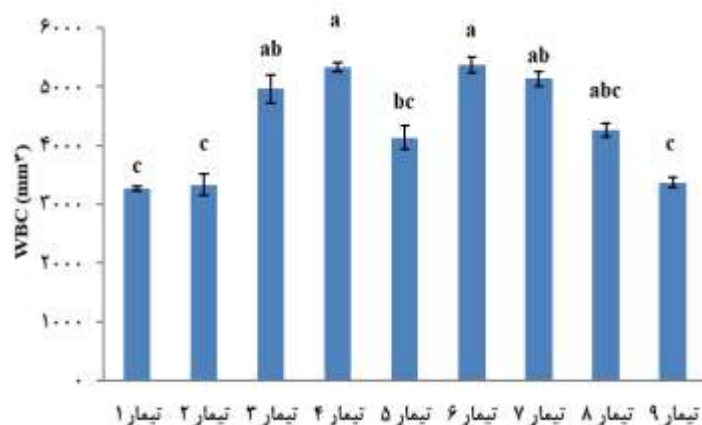
۵ مشاهده گردید (شکل ۳). در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر متغیر گلبول قرمز و براساس آزمون چند عاملی، نتایج نشان داد که تعداد دفعات غذادهی ($P < 0.05$) و میزان شوری ($P < 0.05$) و اثر متقابل آنها ($P < 0.05$) در تعداد گلبول‌های قرمز تاثیر داشته است (شکل ۴).



شکل ۴: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر تعداد گلبول‌های قرمز خون

آماره‌ی مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج حاصله نشان می‌دهد که میانگین هموگلوبین در تیمار ۶ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان هموگلوبین در تیمار ۵ مشاهده گردید (شکل ۳).

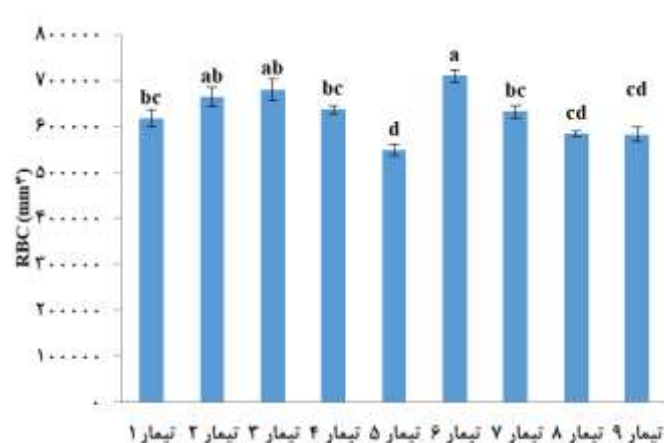
شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱، ۲ و ۹ مشاهده گردید (شکل ۱). در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر متغیر گلبول سفید و براساس آزمون آنالیز چندعاملی، نتایج نشان داد که تعداد دفعات



شکل ۱: مقایسه تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

بررسی‌ها نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان در تیمارها با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن از اختلاف معنی‌دار آماری برخوردار بودند ($P < 0.05$). نتایج بیان می‌کنند که میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ۶ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار

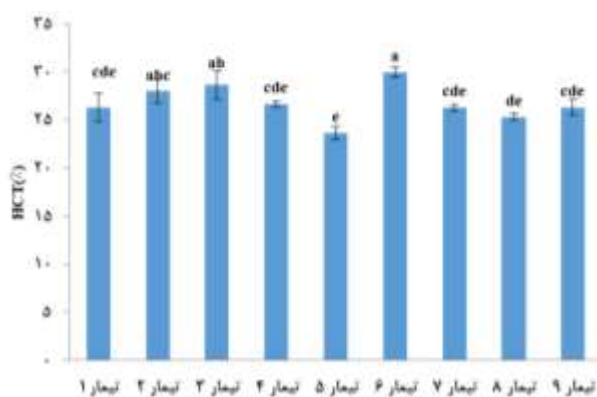


شکل ۳: مقایسه تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

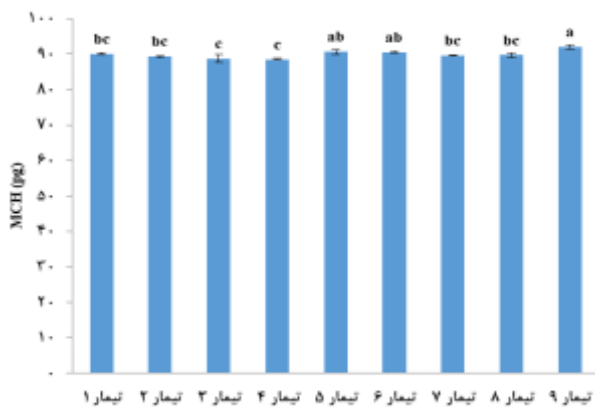
در مورد اندیس‌های خونی یافته‌ها نشان‌دهنده وجود تفاوت در میزان هموگلوبین خون ماهیان بین تیمارها بود، به‌طوری‌که بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار

درصد MCV در تیمارهای ۴ و ۷ مشاهده گردید (شکل ۷). طبق نتایج حاصله در میزان MCH خون ماهیان در تیمارها با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که میانگین MCH در تیمار ۹ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان درصد MCH در تیمارهای ۴ و ۳ مشاهده گردید (شکل ۸). مقایسه داده‌های MCHC خون ماهیان نشان داد که در تیمارهای متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه وجود ندارد ($P > 0.05$) (شکل ۹).



شکل ۶: مقایسه درصد هماتوکریت خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

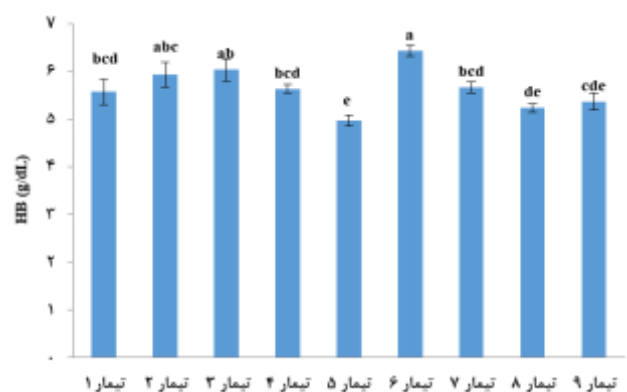


شکل ۸: مقایسه میزان MCH خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

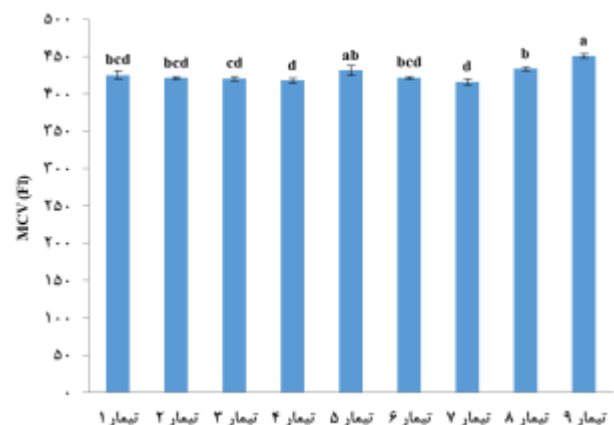
بوده و کم‌ترین میزان نوتروفیل در تیمارهای ۱، ۲ و ۹ مشاهده گردید (شکل ۱۰). براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن درصد لیمفوسیت خون ماهیان در بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P > 0.05$). نتایج حاصل نشان می‌دهد که درصد لیمفوسیت در تیمارهای ۱ و ۹ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از

۵). میزان درصد هماتوکریت خون ماهیان در تیمارها نیز براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). نتایج بیان‌کننده این است که میانگین هماتوکریت در تیمار ۶ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان درصد هماتوکریت در تیمار ۵ مشاهده گردید (شکل ۶). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن مقدار MCV خون ماهیان در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از نشان می‌دهد که میانگین MCV در تیمار ۹ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان



شکل ۵: مقایسه هموگلوبین خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

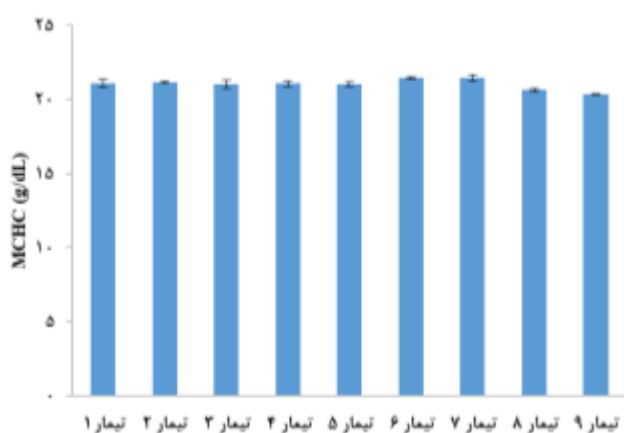


شکل ۷: مقایسه میزان MCV خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

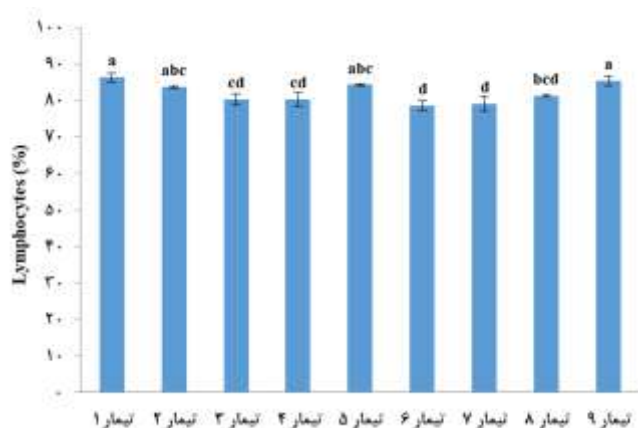
نتایج تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید نشان‌دهنده وجود تفاوت در میزان درصد نوتروفیل خون ماهیان بود، به‌طوری‌که بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($P > 0.05$). نتایج حاصل نشان می‌دهد که درصد نوتروفیل در تیمار ۶ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها

که میزان توتال ایمنوگلوبولین سرم خون ماهیان در تیمارهای ۴ و ۳ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان توتال ایمنوگلوبولین در تیمارهای ۱ و ۹ مشاهده گردید (شکل ۱۸). در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر متغیر IgM، لیزوزیم و توتال ایمنوگلوبولین براساس آزمون آنالیز چند عاملی نتایج نشان داد که تعداد دفعات غذایی ($P>0.05$) تاثیری بر میزان IgM نداشته است. اما میزان شوری ($P<0.05$) و اثر متقابل آن‌ها در میزان IgM تاثیر داشته است (شکل‌های ۱۵، ۱۷ و ۱۹).



شکل ۹: مقایسه میزان MCHC خون در تیمارهای مختلف

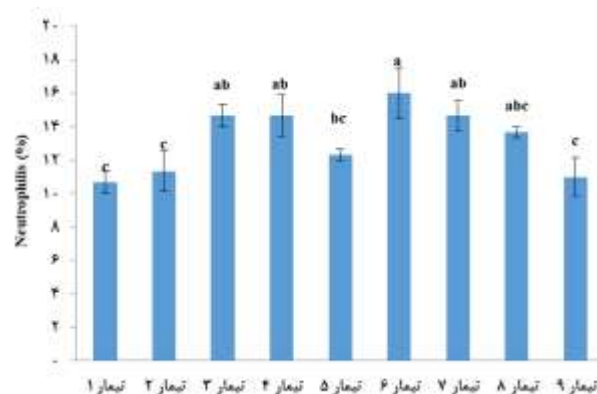
حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است



شکل ۱۱: مقایسه میزان لیمفوسیت خون در تیمارهای مختلف

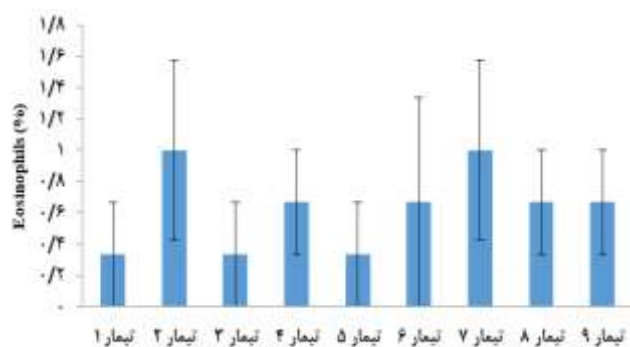
حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان نوتروفیل در تیمارهای ۶ و ۷ مشاهده گردید (شکل ۱۱). نتایج نشان داد که مقدار درصد مونوسیت خون ماهیان در تیمارها بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و دانکن دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($P>0.05$). به‌طوری‌که نتایج نشان می‌دهد که درصد مونوسیت در تیمارهای ۳، ۶ و ۷ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان نوتروفیل در تیمار ۱ مشاهده گردید (شکل ۱۲). مقدار درصد ائوزینوفیل خون ماهیان در تیمارهای مختلف نزدیک به هم بود و براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0.05$). (شکل ۱۳). آزمایش‌های شاخص‌های ایمنی نشان داد که میزان IgM سرم خون ماهیان در تیمارها متغیر بوده و براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و دانکن اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0.05$). نتایج نشان می‌دهد که میزان IgM سرم خون ماهیان در تیمارهای ۳ و ۴ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان IgM در تیمار ۹ مشاهده گردید (شکل ۱۴). براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و دانکن میزان لیزوزیم سرم خون ماهیان در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0.05$). نتایج نشان می‌دهد که میزان لیزوزیم سرم خون ماهیان در تیمارهای ۳ و ۴ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان لیزوزیم در تیمارهای ۱ و ۹ مشاهده گردید (شکل ۱۶). براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و دانکن میزان توتال ایمنوگلوبولین سرم خون ماهیان در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P<0.05$). نتایج حاصله بیان‌کننده آن است

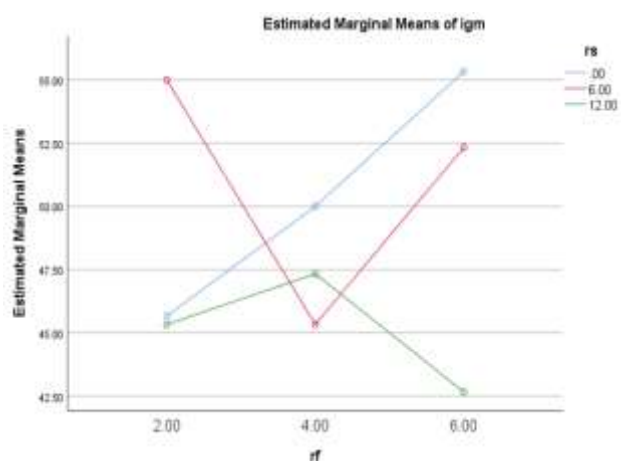


شکل ۱۰: مقایسه میزان نوتروفیل خون در تیمارهای مختلف

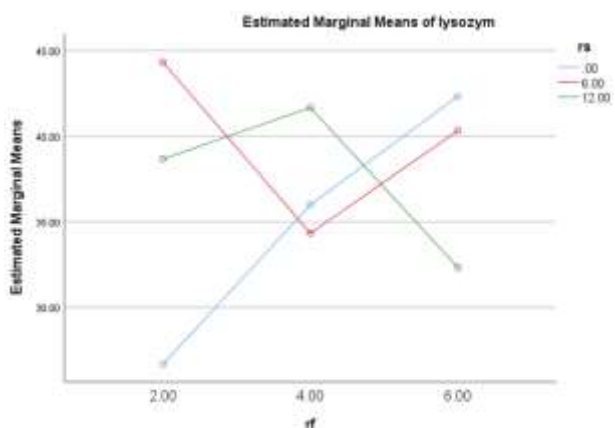
حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است



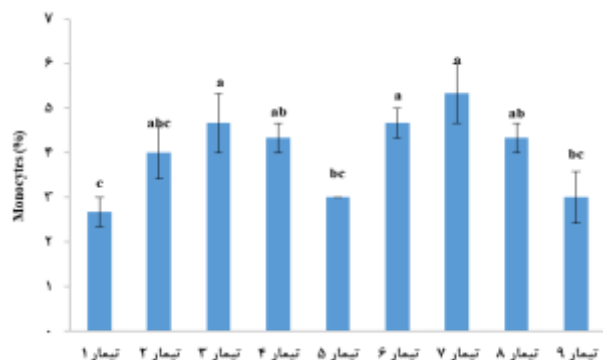
شکل ۱۳: مقایسه میزان ائوزینوفیل خون در تیمارهای مختلف



شکل ۱۵: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر میزان IgM

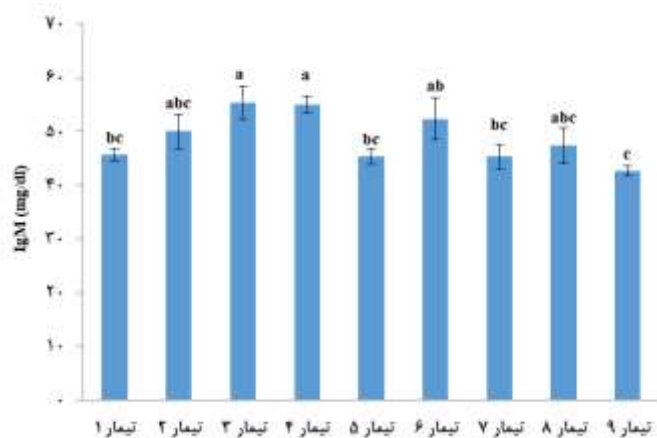


شکل ۱۷: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر میزان لیزوزیم



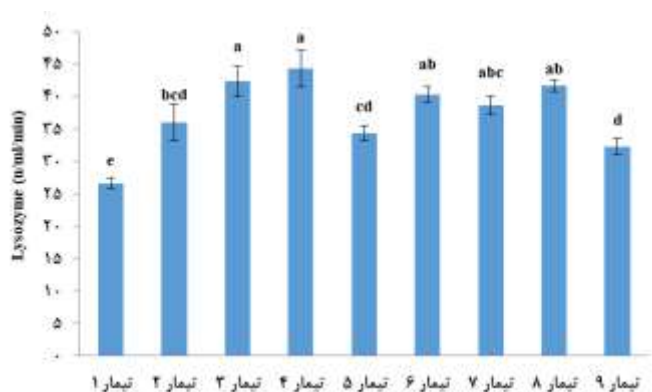
شکل ۱۲: مقایسه میزان مونوسیت خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است



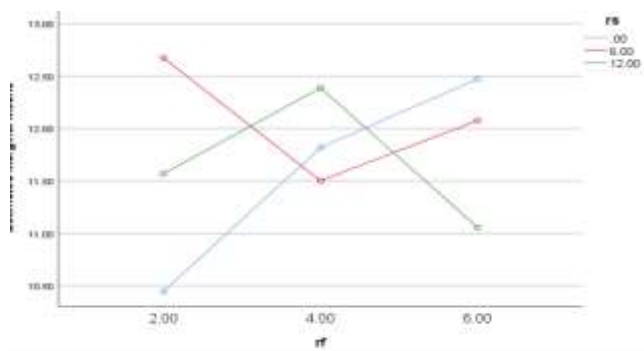
شکل ۱۴: مقایسه میزان IgM خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است



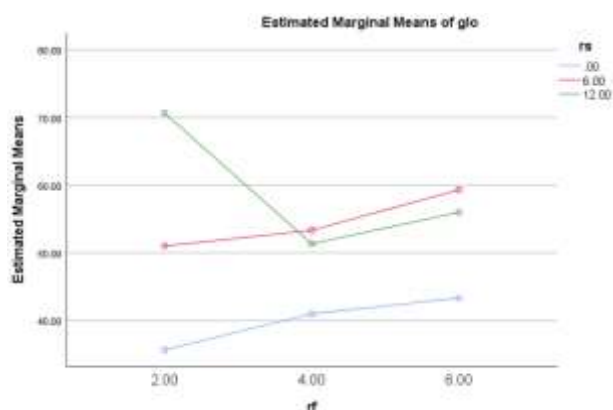
شکل ۱۶: مقایسه میزان لیزوزیم خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

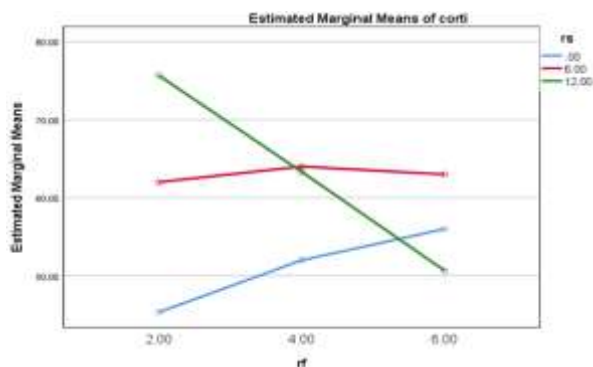


شکل ۱۹: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر میزان توتال ایمنوگلوبولین

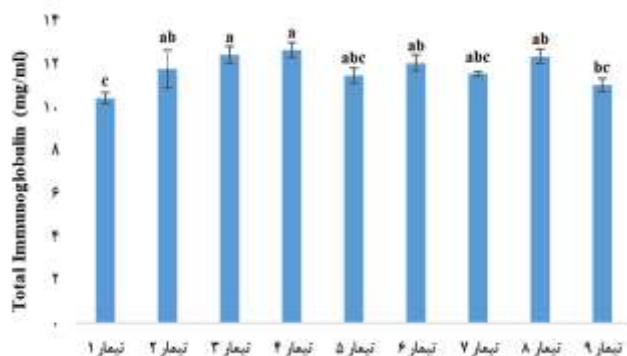
در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر متغیر گلوکز و براساس آزمون آنالیز چند عاملی نتایج نشان داد که تعداد دفعات غذایی ($P > 0.05$) تاثیری بر میزان گلوکز نداشته است. اما میزان شوری ($P < 0.05$) و اثر متقابل آن‌ها ($P < 0.05$) درمیزان گلوکز تاثیر داشته است (شکل‌های ۲۱ و ۲۳).



شکل ۲۱: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر میزان گلوکز

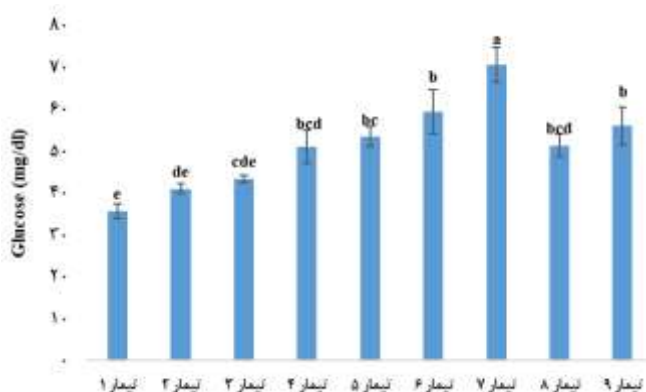


شکل ۲۳: اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر میزان کورتیزول



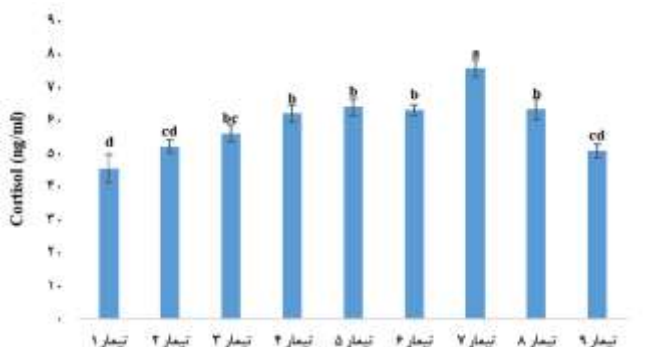
شکل ۱۸: مقایسه میزان توتال ایمنوگلوبولین خون در تیمارهای مختلف حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

نتایج بررسی شاخص‌های استرس بیان‌کننده آن بود که میزان گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهیان در تیمارها براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و دانکن دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($P < 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که میزان این دو هورمون در تیمار ۷ به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده و کم‌ترین میزان کورتیزول در تیمار ۱ مشاهده گردید (شکل‌های ۲۰ و ۲۲).



شکل ۲۰: مقایسه میزان گلوکز خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است



شکل ۲۲: مقایسه میزان کورتیزول خون در تیمارهای مختلف

حروف غیرهمنام کوچک در ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

بحث

شاخص‌های خونی به‌طور عمده برای ارزیابی سلامت ماهیان (۲۳)، استرس محیطی (۲۴)، تغذیه (۲۵)، جنس (۲۶)، اندازه ماهی (۲۷) و اختلافات فصلی و تخم‌ریزی (۲۸) نقش مهمی دارند. بیماری، نوع تغذیه، آلودگی، دما، استرس و ... می‌توانند در تغییر فاکتورهای خونی موثر باشند. تغییر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی در فصول مختلف، تغذیه با جیره‌های غذایی مختلف و بیماری‌ها ثابت شده است (۲۹). شرایط مختلف پرورش نظیر دماهای غیر متعارف، کمبود غذا یا کاهش غلظت اکسیژن در آب اثرات منفی روی شاخص‌های خونی می‌گذارند (۳۰). نتایج این تحقیق نشان داد که میزان گلبول‌های سفید در تیمارهای ۴ (۲ بار غذادهی و شوری ppt ۶) و ۶ (۶ بار غذادهی و شوری ppt ۶) به شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. این بدان معنی است که افزایش و کاهش شوری در کاهش میزان گلبول‌های سفید تاثیر بیش‌تری داشته است. به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار گلبول قرمز نیز در تیمار ۶ مشاهده شد. ضمن این‌که اکثر اندیس‌های خونی نیز تابع این روند بودند. همان‌طور که بیان شد اصولاً پارامترهای خونی نشانه‌ای از وضعیت فیزیولوژیک موجود بوده و می‌تواند تحت تأثیر مواد غذایی خورده شده توسط آن جانور باشد (۳۱). Ranjbar و همکاران گزارش کردند که افزایش شوری باعث تغییر در شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد، به‌طوری‌که با افزایش شوری میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش پیدا کرد (۳۲). در تحقیقات مشخص شده است، ماهیانی که در معرض فقر غذایی، طی شدن مراحل رسیدگی جنسی، استرس و کاهش غلظت اکسیژن محلول باشند، میزان هماتوکریت افزایش می‌یابد. زیرا این شرایط سبب آزاد شدن کاتکولامین‌ها، تحریک و بسیج یاخته‌های قرمز خون از طحال (که معمولاً با تأخیر صورت می‌گیرد) و در نتیجه متورم شدن یاخته‌های قرمز می‌گردد (۳۳) و طحال یاخته‌های قرمز خون جدید را به سمت خون رهاسازی می‌کند. این پدیده سبب افزایش تعداد یاخته‌های قرمز خون، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین می‌گردد. همه این تغییرات سبب افزایش ظرفیت حمل اکسیژن محلول خون در تنظیم ذخیره تقاضای منابع اکسیژن در شرایط استرس‌زا (مانند قرار گرفتن ماهی در محلول بیهوشی) می‌گردد (۳۴). بنابراین شرایط استرس‌زا سبب افزایش تعداد یاخته‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون می‌گردد و به پیروی از این تغییرات، شاخص‌های یاخته‌های قرمز خون (MCH، MCV و MCHC) نیز ممکن است دچار تغییر شوند. برعکس نتایج حاضر Yazdani Sadati در ماهی شپ (۱۳) و Dicu و همکاران، در ماهی ازون برون (۳۵) عدم تاثیر دفعات غذادهی را روی شاخص‌های خونی

گزارش کردند. به‌طور کلی مقادیر شاخص‌های ایمنی نیز در تیمارهای با شوری ppt ۶ نیز بیش از سایر تیمارها بوده است. زمانی که به مقادیر فاکتورهای استرس نگاه می‌شود، متوجه می‌شویم که افزایش شوری در افزایش کورتیزول نقش دارید و ماهی با ترشح مقادیر بالای گلوکز سعی در مقابله با افزایش کورتیزول داشته است. مقدار گلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ‌های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی (۳۶). گلوکز اصلی‌ترین ماده حاصل از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می‌باشد (۳۷) که تغییرات روزانه آن با تغییرات هورمون‌های کورتیزول و تیروئید در ارتباط است. افزایش غلظت گلوکز خون از طریق مکانیزمی رخ می‌دهد که در آن واکنش بیوشیمیایی گلیکوژن و تغییر بافت گلیکوژن به گلوکز رخ می‌دهد و گلوکز در داخل خون تجمع می‌یابد (۳۸). مقدار گلوکز خون بسته به گونه ماهی در محدوده ۳۵-۳۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (۳۸) متغیر می‌باشد. هم‌چنین Asadi و همکاران، سطح غلظت گلوکز خون تاسماهی ایرانی و ازون برون جوان سواحل جنوبی دریای خزر را بالاتر از تاسماهی آتلانتیک (*A. oxyrinchus*) (۳۹)، تاسماهی پوزه کوتاه (۴۰) اعلام و بیان کردند که بالاتر بودن سطح گلوکز خون تاسماهی ایرانی و ازون برون به دلیل بالاتر بودن نرخ رشد و ضریب تبدیل غذایی در این گونه‌ها می‌باشد. از طرف دیگر Xiaotao و همکاران، با بررسی مقادیر گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در دو گونه تاسماهی چینی (*A. sinensis*) و تاسماهی آمور (*A. schrenckii*) بیان داشتند که غلظت این پارامترهای بیوشیمیایی در دو گونه با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار است (۴۱). بر این اساس آن‌ها اعلام کردند که این اختلاف به تکامل این دو گونه در محیط‌های مختلف برمی‌گردد. زیرا تاسماهی چینی گونه‌ای آنادروموس و تاسماهی آمور، گونه‌ای رود زیست می‌باشد. Azodi و همکاران، نیز در ماهی دریایی سی باس گزارش کردند که تغییر شوری موجب تغییر در شاخص‌های استرس می‌گردد (۴). البته McKenzie و همکاران، نیز با مطالعه روی تاس‌ماهیان، نوسانات معنی‌داری در سطح کورتیزول سرم خون در شوری‌های مختلف (۰، ۱۱ و ۲۳ گرم در لیتر) مشاهده نکردند (۴۲). مشابه این تحقیق توسط Yazdani Sadati در ماهی شپ (۱۳) و Mirhosseini Moghadam در ماهی استرلیاد مبنی بر عدم تاثیر دفعات غذادهی روی شاخص‌های استرس گزارش شده است (۴۳). اما Farabi و همکاران، دریافتند که در تمامی گروه‌های بچه‌فیل ماهیان، افزایش سطح کورتیزول در بالاترین شوری وجود داشت (۴۴). مشابه این نتایج در ماهی سفیدک سیستان از لحاظ شاخص‌های خونی و استرس دیده شده است (۴۵). نقش عامل شوری در تغییر مقادیر شاخص‌های خونی و استرس در ماهیان آب‌شیرین مانند ماهی کپور (۴۶، ۴۷)، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

- Fisheries Science and Technology. 5(2): 99-112. (In Persian)
5. Bernadette N., Raedemaeker, F., McGrath, D. and Brophy, D., 2011. An experimental investigation of salinity effects on growth, development and condition in the European flounder (*Platichthys flesus* L.). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 410: 39-44.
 6. Jain, N.C., 1993. Essentials of Veterinary, Lea and Febiger, Philadelphia, USA. 417 p.
 7. Marklund, S. and Marklund, G., 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the auto-oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 469-474.
 8. Hung, S.S.O., Groff, J.M., Lutes, P.B. and Koffiynn-Aikins, F., 1990. Hepatic and intestinal histology of juvenile white sturgeon fed different carbohydrates. Aquaculture. 87: 349-360.
 9. Chebanov, M. and Billard, R., 2001. The culture of sturgeon in Russia: Production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources. 14: 375-381.
 10. Kaneko, T. and Katoh, F., 2004. Functional morphology of chloride cells in killifish (*Fundulus heteroclitus*) a euryhaline teleost with seawater preference. Fish Science. 70: 723-733.
 11. Giberson, A.V. and Litvak, M.K., 2003. Effect of feeding frequency on growth, food conversion efficiency, and meal size of juvenile Atlantic sturgeon and shortnose sturgeon. N. Am. J. Aquacult. 65: 99-105.
 12. Andrei, R.C., Cristea, V., Dediu, L., Crețu, M. and Docan A.I., 2017. Morphometric characteristics and length-weight relationship of Russian sturgeon juveniles fed with different ratio. Bulletin UASVM. Animal Science and Biotechnologies. 74(2): 119-126.
 13. Yazdani Sadati, M.A., Jafari, M. and Khara, H., 2016. The Effect of Feeding Frequency on Growth and Biochemical Factors of Cultured Ship Juvenile Sturgeon (*Acipenser nudiiventris*). Journal of Oceanography. 7(25): 87-94. (In Persian)
 14. Lee, S., Fadel, J.G., Haller, L.Y., Verhille, C.E., Fangue, N.A. Hung, S.S.O., 2015. Effects of feed restriction on salinity tolerance in white sturgeon. Comp Biochem Physiol A. 188: 156-167.
 15. Vaz, P.G., Kebreab, E., Hung, S.O., Fadel, J.G., Lee, S. and Fangue, N.A., 2015. Impact of Nutrition and Salinity Changes on Biological Performances of Green and White Sturgeon. plos one. 10(4): e0122029.
 16. Nikookar, S.H., Moosa-Kazemi, S.H., Yaghoobi-Ershadi, M.R., Vatandoost, H., Oshaghi, M.A., Ataei, A. and Anjamrooz, M., 2015. Fauna and Larval Habitat Characteristics of Mosquitoes in Neka County, Northern Iran. J Arthropod-Borne Dis. 9(2): 253-266.
 17. Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H. and Li, Y., 2007. Hematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: a comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology 147: 1001-1008.
 18. Saqha, H.R. and Soroush Nia, M., 2003. Comprehensive book of laboratory products equipment. Mir Kitab Publications. 2687 p.
 19. Khoshbavar-Rostami, H.A., Soltani, M. and Hassan, H.M.D., 2007. Immune responses of great sturgeon (*Huso huso*) to *Aeromonas hydrophila* bacterin. Journal of Fish Biology. 70: 1931-1938.

(۳۲) و ماهی فیتوفاگ (۴۸) نیز به اثبات رسیده است. Zaker و همکاران، نیز تغییر شاخص‌های ایمنی در ماهی سفید دریای خزر در نتیجه تغییر میزان شوری گزارش کرده‌اند (در آب شور بیش‌تر از آب شیرین بود) (۴۹). Marc و همکاران با مطالعه بر قزل‌آلای قهوه‌ای، پس از انتقال به آب دریا افزایش در سطح لایزوزیم را مشاهده نمودند (۵۰). Yada و همکاران نتیجه گرفتند که فعالیت لایزوزیم در قزل‌آلای رنگین‌کمان در نمونه‌های آب شور ۳/۵ برابر بیش‌تر از آب شیرین بود (۵۱). البته مطالعات گذشته نشان داده است که تغییرات در شوری محیط در گونه‌های یوری‌هالین همراه با تغییر در هورمون‌های درونی است (۵۲، ۵۳). آن‌چه مشخص است این‌که تغییر شاخص‌های استرس ناشی از تغییر مقادیر شوری آب محیط پرورش موجب تغییر مقادیر شاخص‌های خونی و ایمنی می‌گردد. البته در این تحقیق افزایش تعداد دفعات غذایی به ماهیان اوزون برون کمک کرد تا با افزایش میزان گلوکز خون به مقابله با افزایش کورتیزول بپردازند. به‌طوری‌که بالاترین افزایش وزن در شوری ۱۲ ppt و با ۶ بار غذایی (تیمار ۹) دیده شد. با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت امکان پرورش ماهی اوزون برون در شوری‌های مختلف را داشته و افزایش دفعات غذایی به این ماهی کمک می‌کند شرایط محیطی متفاوت را تحمل نماید. البته با توجه به مسایل اقتصادی و هزینه کارگر توصیه می‌شود ماهیان روزانه ۴ بار در روز غذایی شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از ریاست محترم موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر و ریاست محترم ایستگاه تحقیقات تاسماهیان گیلان به‌دلیل حمایت‌هایشان نهایت سپاس و تشکر را دارند.

منابع

1. Billard, R. and Lecointre, G., 2001. Biology and Conservation of sturgeon and paddlefish. Rev. Fish Biol. Fish. 10: 355-392.
2. Naderi Jolodar, M. and Abdoli, A., 2004. Fish species atlas of south Caspian Sea basin (Iranian waters), Iranian Fisheries Research Organization Press. Tehran, Iran. 80 p.
3. Pourmozaffar, S., Nafisi Bahabadi, M., Movahedinia, A.A., M. Mohammadi, M. and Pazir, Kh., 2014. Effect of Salinity on Growth Performance, Hematological Variables and Gill Chloride Cells of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Experimental Animal Biology. 2(4): 1-14. (In Persian)
4. Azodi, M., Nafisi Bahabadi, M., Morshedi, V., Ebrahimi, H. and Hamed, Sh., 2016. The effects of different levels of water salinity on growth, feeding performance, body composition and physiological responses in Asian sea bass (*Lates calcarifer*). Journal of

- dietary vitamins C on growth performance of *stellate sturgeon* (*A. stellatus*, Pallas, 1771). *Animal Science and Biotechnologies*. 46: 244-249.
36. Yousefi, M., Abtahi, B. and Kenari, A., 2011. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clinical Pathology*. 1-6. doi: 10.1007/s00580-011-1225-4.
 37. Zhou, H., Fujimoto, T., Adachi, S., Yamaha, E. and Arai, K., 2009. Genome size variation estimated by nuclear DNA content flow cytometry in ten sturgeon species and several interspecific hybrids reared in Japan. 6th international symposium on sturgeon. October 25-31, Wuhan, Hubei Province, China. Abstracts Oral Presentations. 61-62.
 38. Ahmdifar, A., Akrami, R., Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A., 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. Springer.
 39. Asadi, F., Hallajian, A., Asadian, P., Shahriari, A. and Pourkabir, M., 2009. Serum lipid, free fatty acid, and proteins in juvenile sturgeons: *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. *Comparative Clinical Pathology*. 18: 287-289.
 40. Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*. 66: 208-221.
 41. Xiaotao, Sh.D., Ping, Z., Fen, N. and Liangqi, L., 2006. Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*, and Chinese surgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 32(1): 63-66. DOI: 10.1007/s10695-006-7134-9.
 42. McKenzie, D.J., Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A., Romano P., Anferri S., Bronzi P. and Cataudella S., 1999. Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon: II. Morphophysiological adjustments to hyperosmotic environments. *Journal of Applied Ichthyology*. 15: 61-65.
 43. Mirhosseini Moghadam, S.M., Vahabzadeh, H. and Khara, H., 2015. Optimum feeding frequency and ratio of pre-spawners of asterliad fish *Acipenser ruthenus*. National Aquaculture and Sustainable Aquatic Ecosystem Conference.
 44. Farabi, S.M.V., Hajimoradloo, A. and Bahmani, M., 2007. Study on salinity tolerance and some physiological indicators of ion -osmoregulatory system in juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) in the south Caspian Sea: Effects of age and size. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 6(2): 15-32.
 45. Rahdari, A., Khosravanizadeh, A., Gharaei, A., Afshari, A. and Sarani, S., 2021. The efficacy of clove powder *Eugenia caryophyllata* as an anesthetic for snow trout *Schizothorax zarudnyi* broods and measurement of blood biochemical and immunity parameters. *Journal of Animal Environmental*. 13(1): 239-246. (In Persian)
 46. Beikzade Takori, A., Imanpoor, M.R. and Taghizadeh, V., 2015. Long time effect of oral cortisol on resistant to salinity changes in Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) fingerling. *Nova Biologica Reperta*. 2(2): 103-112. (In Persian)
 47. Hafez amini, P., Oryan, Sh. and Parivar, K., 2003. Effects of NaCl stress on blood glucose and cortisol in
 20. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assay. In: Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Robertson, B.S., editors. *Techniques in fish immunology*. Fair Haven, NJ, USA: SOS Publication. 101-103.
 21. Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Rumsey, G.L., 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 41(1-2): 125-39. doi: 10.1016/0165-2427(94)90062-0.
 22. Barry, T.P., Malison, J.A., Held, J.A. and Parrish, J.J., 1995. Ontogeny of the cortisol stress response in larval rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*. 97: 57-65. <https://doi.org/10.1006/gcen.1995.1006>.
 23. Bhaskar, B.R. and Rao, K.S., 1985. Some hematological parameters of tarpon, *Megalops cyprinoils* (Broussonet) from Visakhapatnam harbor. *Masty*. 11: 63-69.
 24. Hickey, C.R., 1982. Fish hematology, its uses and significance. *Game Journal*. 23(2): 170-175.
 25. Casillas, E. and Smith, L.S., 1977. Effect of stress on blood coagulation and hematology in rainbow torot (*Salma grindneri*). *Journal of Fish Biology*. 10: 481-491.
 26. Collazos, M.E., Ortega, E., Barriga, C. and Rodrigueuez, A.B., 1998. Seasonal variation in hematological parameters of male and female *Tinca tinca*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 183: 165-168.
 27. Garcia, M.P., Echevarian, G., Matrinez, F.J. and Zamora, Z., 1992. Influence of Blood Sample collection on the hematocrit value of two teleost rainbow trout (*Oncahrhynchus bus mykiss*) and European Sea bass (*Dicentrachus has labrax* L). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 101: 733-736.
 28. Kieffer, J.D., Fuhlbrigge, R.C., Armerding, D., Robert, C., Ferenczi, K., Camphausen, R.T. and Kupper, T.S., 2001. Neutrophils, monocytes, and dendritic cells express the same specialized form of PSGL-1 as do skin homing memory T cells: cutaneous lymphocyte antigen. *Biochem Biophys Res Commun*. 285: 577-587. [PubMed: 11453631]
 29. Aldrin, J.F., Messenger, J.L. and Laurencin, F.B., 1982. La biochimie clinique en aquaculture. Interet et Perspect CNEXO Actes Colloq. 14: 291-326.
 30. Wedemeyer, G.A., McLeay, D.J. and Goodyear, C.P., 1984. Assessing the tolerance of fish and fish populations to environmental stress; The problems and methods of monitoring. In: Contaminant effects on fisheries (eds. Cairns, W.V., Hodson, P.V. and Nriagu, J.O.,). 164-195. John Wiley and Sons, Inc., New York.
 31. Kumar, R., Beguin, S. and Hemker, C., 1995. The effect of fibrin clots and clot-bound thrombin on the development of platelet procoagulant activity. *Thrombosis and Haemostasis*. 74: 962-968.
 32. Ranjbar, M., Mohammad Nejad, M. and Ghomi, M.R., 2020. Effect of Different Salinity on Growth Factors, Survival and Hematology Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal physiology and development*. 14(1): 87-98. (In Persian)
 33. Beyea, J.A., Olson, D.M. and Harvey, S., 2005. Growth Hormone (GH) Action in the Developing Lung: Changes in Lung Proteins After Adenoviral GH Overexpression. *Developmental Dynamics*. 234: 404-412.
 34. Hoseini, S.M. and Ghelichpour, M., 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, *Huso huso* (L.). *Fish Physiol Biochem*. 38(2): 493-498. doi: 10.1007/s10695-011-9529-5.
 35. Dicu, M.D., Cristea, V., Mirea, C., Placinta, S., Petrea, M. and Coadă, M.T., 2013. Effects of different levels of

- common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Scientific Fisheries Journal. 12(3): 35-42. (In Persian)
48. **Mohammadi Makundi, Z., Kochinin, P. and Pasha Zanusi, H., 2011.** Effect of salinity on growth and survival of phytophagous fish (*Hypophthalmichthys molitrix*). Aquatics and fisheries Journal. 3(11): 19-26. (In Persian)
 49. **Zaker, F., Imanpour Namin, J., Sattari, M. and Hadavi, M., 2016.** Lysozyme activity in blood serum and epidermal mucus of *Rutilus frisii* in brackish and freshwater ecosystems. Journal of Aquaculture Development. 10(1): 53-61. (In Persian)
 50. **Marc, A.M., Quentel, C., Severe, A., Lebail, P.Y. and Boeuf, G., 1995.** Changes in some endocrinologic and nonspecific immunological parameters during seawater exposure in the brown trout. Journal of Fish Biology. 46: 1065- 1081.
 51. **Yada, T., Azuma, T. and Takagi, Y., 2001.** Stimulation of non-specific immune functions in seawater-acclimated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* with reference to the role of growth hormone. Comparative Biochemistry and Physiology, part B: Biochemistry & Molecular Biology. 129: 695-701.
 52. **Hirano, F., Sakamoto, T., Mabuchi, A., Norose, Y. and Yokomuro, K., 1993.** Modification of T-lymphocyte subsets in peripheral blood, the liver, and the spleen during liver regeneration after partial hepatectomy of mice. Reg Immunol. 5(5): 293-298.
 53. **Sakamoto, T. and Hirano, T., 1991.** Growth hormone receptors in the liver and osmoregulatory organs of rainbow trout: characterization and dynamics during adaptation to seawater. Journal of Endocrinology. 130: 425- 433.