

اثرات تنش‌های دمایی روی برخی فاکتورهای خونی، شاخص‌های استرس و هیستوپاتولوژیک آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **شهلا خورشیدی:** گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: 41335-3516
- **حسین خارا*:** گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: 1616
- **محدثه احمدنژاد:** پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران، صندوق پستی: 61

تاریخ پذیرش: شهریور 1396

تاریخ دریافت: خرداد 1396

چکیده

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اهمیت و ارزش زیادی از نظر کیفیت گوشت، تکثیر و پرورش آسان و همچنین صید ورزشی برخوردار بوده و مهم‌ترین گونه از ماهیان آزاد پرورشی آب شیرین است. این تحقیق به منظور تعیین اثر تنش‌های دمایی روی بعضی فاکتورهای خونی و بافت آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان روی 300 عدد ماهی انجام شد. برای این منظور ماهیان با وزن 30 گرم به‌طور تصادفی انتخاب شده و در 5 تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) شامل تیمار 1 (شاهد): دمای 14 درجه سانتی‌گراد، تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد، تیمار 3: دمای 25 درجه سانتی‌گراد، تیمار 4: دمای 20 درجه سانتی‌گراد و تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 24 ساعت قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بالاترین تعداد RBC در تیمار 1 (شاهد)، بالاترین تعداد WBC در تیمار 5، بالاترین تعداد هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار 1 (شاهد) و کم‌ترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار 1 (شاهد) وجود داشت ($P < 0/05$). در سایر فاکتورهای خونی (MCH، MCV، MCHC، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و انوزینوفیل) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). همچنین علائمی مانند مرگ و میر، خونریزی شدید، تخریب سلول‌های کلراید، هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، تحلیل دستگاه پیلار، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکروز سلولی و آنوریکسم یا تلانژیکتازی مشاهده گردید. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که دمای 14 درجه سانتی‌گراد برای قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب‌تر می‌باشد. چرا که بالاترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و کم‌ترین میزان کورتیزول و گلوکز در گروه شاهد مشاهده شد.

کلمات کلیدی: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تنش‌های دمایی، فاکتورهای خونی، شاخص‌های استرس، بافت آبشش

مقدمه

تولید آبزیان از دو منبع آبی‌پروری و صید در پنج دهه اخیر به‌طور مستمر افزایش یافته است. این افزایش مصرف سرانه آبزیان نشان‌دهنده استقبال عمومی مردم جهان می‌باشد (Treves-Brown، 2013). ماهی معمولاً در محیط‌های محصور از جمله استخر و قفس‌های توری پرورش داده می‌شود که برای افزایش تولید در چنین مکان‌هایی نیاز به افزایش تراکم در سطح می‌باشد که در نتیجه عوامل استرس‌زای زیادی بر ماهی تأثیر می‌گذارند (Li و همکاران، 2004). به‌طور کلی استرس بر اساس منشاء تولید در ماهیان به سه دسته استرس بیولوژیک، استرس های شیمیایی، استرس فیزیکی تقسیم می‌شود (Wedemeyer، 1969). به‌طور کلی، ماهیان استخوانی همانند موجودات خشکی‌زی به دو صورت به استرس پاسخ می‌دهند: الف: فعال شدن محور

امروزه با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به دستیابی به منابع پروتئینی متنوع و سالم، آبی‌پروری می‌تواند به عنوان یکی از طرق تأمین پروتئین مورد نیاز نقش مهمی را ایفاء کند. از همین‌رو پیش‌بینی می‌شود که در دو دهه آینده، آبی‌پروری نقش به‌سزایی را در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء کند (Bell و Sargent، 2003). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اهمیت و ارزش زیادی از نظر کیفیت گوشت، تکثیر و پرورش آسان و همچنین صید ورزشی برخوردار بوده و مهم‌ترین گونه از ماهیان آزاد پرورشی آب شیرین است (نفیسی‌بهابادی، 1385).

آزمایش ساختاری و ماکروسکوپی بافت‌های ماهی به‌آسانی قابل تشخیص نیست را نشان می‌دهد (Hao و همکاران، 2013). تاکنون مطالعاتی درباره اثر تنش‌های دمایی روی فاکتورهای خونی و هیستوپاتولوژیک آبشش آبیان مختلف انجام شده است. در میان اکثر مطالعاتی که درباره تحمل دمایی ماهیان انجام شده است، بر محدوده‌های کشنده، درجه حرارت کشنده اولیه (ILT)، روش‌های گرمایی حاد (CTM) و روش‌های کشنده دراز-مدت (CLM) تمرکز دارد و معمولاً از روش‌های آماری و روش-های پویا برای بررسی درجه حرارت نهایی یا نقطه‌ای که ماهی می‌تواند تحمل کند، استفاده می‌کند (Lopez-Olmeda و Sanchez-Vazquez، 2011؛ Mora و Maya، 2006؛ Ford و Beitinger، 2005؛ Rajaguru و Ramachandran، 2001؛ Beitinger و همکاران، 2000). مطالعات نشان می‌دهد که آبشش به‌عنوان یک شاخص محرک در مقابل درجه حرارت آب محسوب می‌شود و اولین بافت هدف در آسیب‌های گرمایی است. از طرف دیگر، درجه حرارت بالا باعث واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی و متابولیسم انرژی می‌شود (Flores-Lopes و Thomaz، 2011). تعداد زیادی از مطالعات نیز تاثیر درجه حرارت پایین را بر بقای ماهیان بررسی نموده‌اند. به‌طوری‌که بیان شده است که حداقل دمای حاد برای قزل‌آلای رنگین‌کمان حدود 1 تا 2 درجه سانتی‌گراد است (Finstad و همکاران، 1988) و در درجه حرارت پایین تغذیه و هضم مختل شده یا رشد ماهیان کند می‌گردد (Belkovskiy و همکاران، 1991). این پژوهش با هدف تعیین اثر تنش‌های دمایی بر فاکتورهای خونی، فاکتورهای استرس و بافت آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز 1393 در شرکت پرورش ماهی قزل‌آلای درنا واقع در قلعه رودخان در 20 کیلومتری جنوب‌غربی شهر فومن در استان گیلان انجام شد. برای انجام این آزمایش از 300 عدد ماهی 30 گرمی استفاده شد. 15 عدد وان به حجم 50 لیتر در کنار یکدیگر قرار داده شد و آب مورد نیاز وان‌ها از آب رودخانه قلعه رودخان تأمین گردید. وان‌ها به‌وسیله پمپ هواده اکسیژن‌رسانی شدند. برای بررسی تنش‌های بالای دمای آب از هیتر و برای دماهای پایین از یخ استفاده شد. پس از آماده‌سازی وان‌ها و رساندن آن‌ها به دماهای موردنظر ماهیان به وان‌ها انتقال یافتند و به‌مدت 24 ساعت در دمای موردنظر قرار گرفتند. این تحقیق شامل 5 تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) بود. تیمارها به‌ترتیب شامل تیمار 1 یا شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد، تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد، تیمار 3: دمای 25 درجه سانتی‌گراد، تیمار 4: دمای 20 درجه سانتی‌گراد و تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد بودند. همچنین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن و درجه حرارت با استفاده از دستگاه اکسی‌متر (OXI3230B/SET) سه بار در روز و pH با استفاده از دستگاه pHmeter مدل (PH330i/SET) یک بار در روز اندازه‌گیری شدند.

در هر آزمایش، پس از قرار گرفتن ماهیان در دمای مورد-نظر در سه تکرار در زمان‌های 12 و 24 ساعت خونگیری و نمونه‌برداری از بافت آبشش صورت گرفت. ماهیان هر

هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال که موجب تولید کورتیزول می‌شود. ب: محور اعصاب سمپاتیک-سلول‌های کرومافین که موجب ترشح کاتاکولامین می‌گردد (Iwama و همکاران، 1997). بررسی در مورد انعطاف‌پذیری فیزیولوژیک مثل تحریک محیطی و اندازه‌گیری پروتئین‌های شوک حرارتی و ارتباط اکسیژن مصرفی و دما ثابت کرده که بی‌مهرگان آبی ضمن توانایی احساس حرارت، یک رفتار تنظیمی در برابر تغییر دمای محیط را نشان می‌دهند. با این حال هنوز روشن نشده است که چه تغییراتی در وضعیت محیط و دما باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در این موجودات خونسرد می‌شود (Helmuth و Hofmann، 2001).

خون یکی از مهم‌ترین مایعات زیستی بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی

شاخص‌های خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزار مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های ماهیان بوده است (شاهسونی و همکاران، 1380). شناخت فاکتورهای خونی علاوه بر شناخت فیزیولوژی آبی شاخص مهم و منحصربه‌فرد هر گونه است که آن را از سایر ماهیان متمایز می‌کند. اهمیت این شناخت نه تنها در تشخیص گونه مهم است بلکه از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Abdel-Tawwab و Bahmani، 2005؛ همکاران، 2001).

آبشش جزو اولین قسمت‌هایی است که با آب تماس مستقیم دارد و همیشه تحت تاثیر عوامل خارجی موجود در محیط و آب قرار می‌گیرد. این امر آبشش را به یکی از حساس‌ترین اندام‌های ماهی تبدیل کرده است (کیریتی و همکاران، 1389). از آنجایی-که آبشش ماهیان نقش بسیاری در مکانیسم‌های تنظیم یونی بر عهده دارد (کوهکن، 1395) یک اندام تنظیم یونی مهم محسوب می‌شود و

همچنین به‌عنوان اندام مبادله‌کننده گازهای تنفسی اصلی به‌کار می‌رود (Takabe و همکاران، 2012). ویژگی آبشش‌ها، داشتن نواحی سطحی وسیع و تبادل گازی بسیار کارآمد است. تعداد زیادی از

تیغه‌های ریز در دو طرف رشته‌های آبششی قرار گرفته‌اند و محل-های اصلی تبادل گاز به‌حساب می‌آیند (Wang و همکاران، 2013). ماهیان در موارد لزوم با افزایش تیغه‌ها و نزدیک‌تر کردن فاصله بین آن‌ها و افزایش طول تیغه‌ها، ناحیه سطحی آبشش‌ها را جهت دریافت اکسیژن بیش‌تر افزایش می‌دهند (Bowden و همکاران، 2014). بافت آبشش به‌عنوان اندامی که مبادله گازها، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید باز و دفع مواد زائد نیتروژنی را بر عهده دارد، به‌دلیل تماس مستقیم با محیط آبی و داشتن لایه اپیتلیال نازک، یکی از اندام‌های هدف برای ایجاد آسیب توسط مواد سمی بوده و اندام مهمی برای مطالعات آسیب شناسی بافتی می‌باشد (Farkas و همکاران، 2011). بافت‌شناسی یکی از شاخه‌های علم ریخت-شناسی است و درباره ساختمان میکروسکوپی سلول‌های سالم، بافت‌ها و اعضای موجود زنده بحث می‌نماید (پوستی و صدیق-مروستی، 1378). آسیب‌شناسی بافتی روشی مفید برای ارزیابی سلامت آبیان بوده و اولین نشانه‌های آسیب یا تغییراتی که به‌وسیله

اسپکتروفتومتر و بر حسب میلی گرم در دسی لیتر تعیین شد (Thrall و همکاران، 2004).

جهت بررسی هیستوپاتولوژیک آبشش ماهیان، در ابتدا به اندازه یک سانتی متر از بافت آبششی را برداشته و در محلول بوئن فیکس کردیم. نمونه های فیکس شده توسط الکل 1-بوتانول با درجات مختلف (50، 70، 80، 96) آگیری شده و در مرحله بعدی عمل شفاف سازی (جایگزینی کلروفرم به جای الکل و جذب چربی بافت) صورت گرفت. پس از شفاف نمودن، نمونه های بافت آبششی به وسیله پارافین مذاب پارافینه و قالب گیری شدند (پوستی و همکاران، 1382؛ بهمنی و کاظمی، 1377). با استفاده از میکروتوم از قالب های پارافینه حاوی بافت آبشش برش های بافتی به ضخامت 7 میکرون (Akhundov و Fedorov، 1995) تهیه و برش های بافتی به روش انوزین-هماتوکسیلین رنگ آمیزی شدند. نمونه بافت ها پس از رنگ آمیزی به وسیله میکروسکوپ نوری (مدل N-180M، شرکت NOVEL، چین) مجهز به دوربین (MD130، شرکت OME-TOP system، تایوان) و متصل به کامپیوتر مورد مطالعه قرار گرفتند (حلاجیان و همکاران، 1390).

پس از پایان خونگیری و نمونه برداری از بافت آبشش ماهیان، طول کل و وزن کل در تمام تیمارها و تکرارها اندازه گیری گردید که برای این کار از خطکش مخصوص زیست سنجی 150 سانتی متری و ترازوی دیجیتالی استفاده شد. وزن با دقت 0/1 گرم و طول با دقت میلی متر اندازه گیری شد.

جهت انجام آنالیزهای آماری نرم افزار SPSS18 مورد استفاده قرار گرفت. پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA، تجزیه و تحلیل داده ها انجام شد و برای بررسی میانگین داده های مورد بررسی از آزمون Duncan یا Tukey استفاده شد. در صورت عدم نرمال بودن داده ها آزمون کروسکال-والیس و تست Mann-whitney مورد استفاده قرار گرفت. همچنین جداول و نمودارها با کمک نرم افزار Excel2013 رسم شدند.

نتایج

در دمای بالا ماهیان نآرام شده، میزان تنفس افزایش یافته و نزدیک به سطح آب جمع می شدند. در میان 300 عدد بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان مورد مطالعه 57 عدد تلفات مشاهده شد. بنابراین تلفات برابر با 19% و بازماندگی برابر با 81% می باشد. این تلفات تنها در تیمار 2 و دمای 28 درجه سانتی گراد روی داده و مابقی تیمارها بدون تلفات می باشند.

با توجه به به نتایج به دست آمده، بیشترین مقدار گلبول سفید مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی گراد (854/4±9700) و

کمترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 سانتی گراد (200±6000)، بیشترین مقدار گلبول قرمز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی گراد (577666/7±14189/2) و کمترین نیز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی گراد (7094/6±434333/3)، بیشترین مقدار هموگلوبین مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی گراد (6/90±0/2) و کمترین نیز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی گراد (5/17±0/12) و بیشترین

تکرار پس از انجام مراحل بی هوشی توسط پودر گل میخک، از طریق قطع ساقه دمی خونگیری شدند و پس از انتقال به داخل ویال های محتوی ماده ضد انعقاد هپارین در یک کلمن حاوی یخ و به دور از تکان های شدید به یک آزمایشگاه هماتولوژی معتبر منتقل شدند. برای تهیه سرم، 1 میلی لیتر خون از ماهیان هر تکرار دریافت شد و به مدت دو ساعت در دمای معمولی اتاق قرار گرفت تا منعقد گردد و سپس با سرعت 3500 دور در 5 دقیقه سانتریفیوژ گردید (Panigrahi و همکاران، 2005). نمونه های سرم در فریزر در دمای 20- درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از جمع آوری تمام نمونه ها تعداد کل گلبول های سفید (WBC)، تعداد کل گلبول های قرمز (RBC)، هموگلوبین (HB)، درصد هماتوکریت (HCT)، MCV، MCH، MCHC، نوتروفیل ها، لنفوسیت ها، مونوسیت ها و انوزینوفیل ها، کورتیزول و گلوکز تعیین شد. شاخص های خونی WBC و RBC به وسیله یک پیپت ملانژور سفید برای گلبول سفید و یک پیپت ملانژور قرمز برای گلبول قرمز انجام شد و شمارش با استفاده از محلول رقیق کننده Rees و لام نوبار پیشرفته صورت گرفت (Simmons، 1997).

تعداد گلبول قرمز در میلی متر مکعب خون:

$$10000 \times (\text{تعداد گلبول قرمز در } 5 \text{ مربع کوچک}) \times X$$

تعداد گلبول سفید در میلی متر مکعب خون:

$$50 \times (\text{تعداد گلبول سفید در } 4 \text{ مربع کوچک}) \times X$$

مقدار هموگلوبین هر نمونه خون به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل 6505 UV/VIS، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) با طول موج 540 نانومتر انجام شد که این کار با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران، بر حسب گرم در دسی لیتر محاسبه شد. برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. لوله ها در داخل میکروسانتریفوژ (مدل D-78532 Tuttlingen ساخت شرکت Hettrich آلمان) قرار داده شد و به مدت زمان 5 دقیقه با دور 7000 سانتریفیوژ گردید. پس از اندازه گیری فاکتورهای خونی با استفاده از اعداد به دست آمده و روابط ریاضی می توان شاخص های خونی زیر را محاسبه نمود (Klontz، 1994):

$$M.C.V = \frac{HCT(\%) \times 10}{RBC / \text{million}}$$

$$M.C.H = \frac{Hb(\text{gr}\%) \times 10}{RBC / \text{million}}$$

$$M.C.H.C = \frac{Hb \times 100}{HCT}$$

تشخیص افتراقی گلبول های سفید به وسیله متانول 96% و محلول 10% گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) جهت رنگ آمیزی و شمارش انواع گلبول های سفید نظیر نوتروفیل ها، بازوفیل ها، لنفوسیت ها، مونوسیت ها و انوزینوفیل ها به روش زیگزاگ با استفاده از دستگاه شمارنده دستی انجام شد (Klontz، 1994). سطوح گلوکز و کورتیزول توسط دستگاه

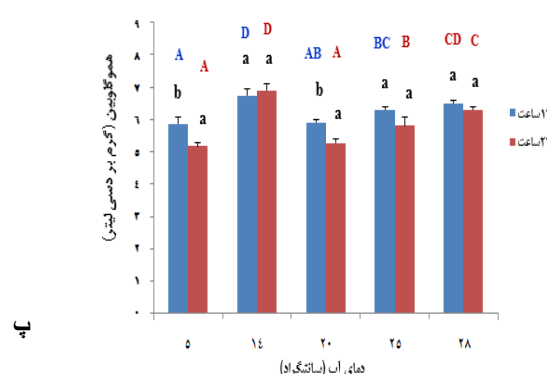
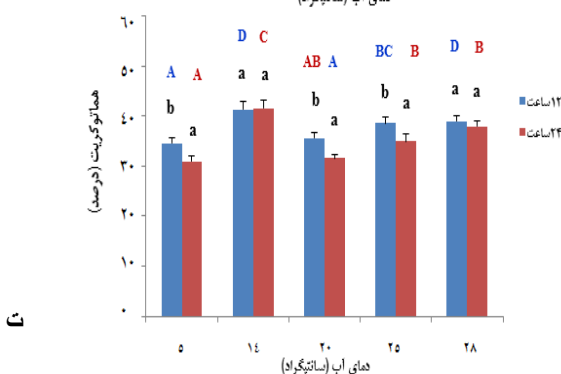
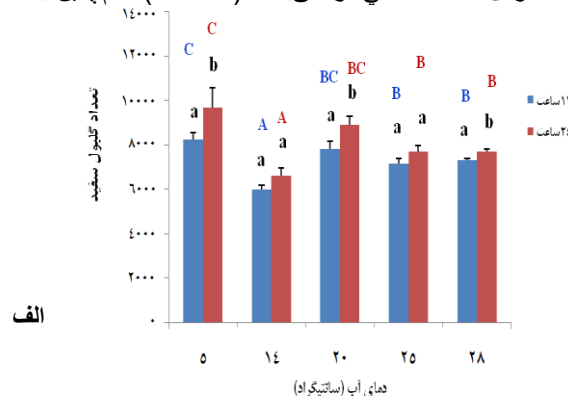
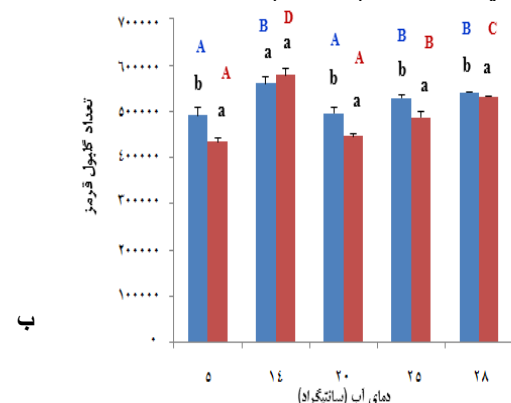


توجه به آزمون کروسکال-والیس مشخص گردید که تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان MCHC دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند ($P>0/05$) (شکل 2).

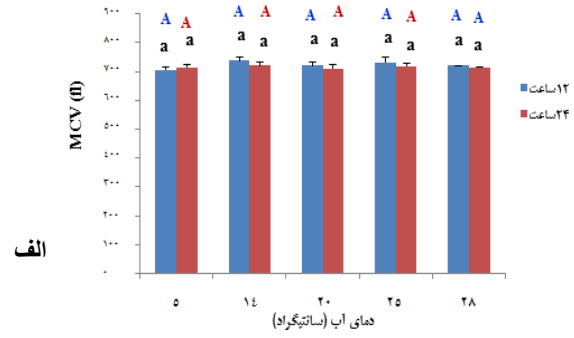
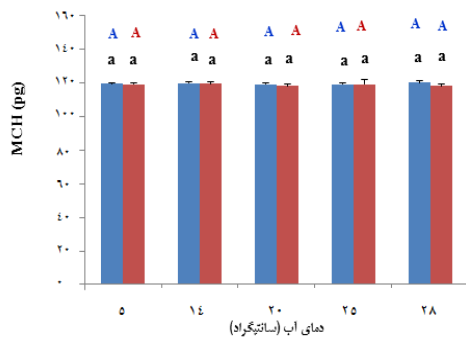
با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین مقدار نوتروفیل مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد ($37/33 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 سانتی‌گراد (1 ± 28)، بیش‌ترین مقدار لنفوسیت مربوط به تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد ($67 \pm 1/12$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد ($58/33 \pm 1/16$)، بیش‌ترین مقدار مونوسیت مربوط به تیمار 4: دمای 20 درجه سانتی‌گراد (112 ± 4) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد (3 ± 0) و بیش‌ترین مقدار ائوزینوفیل مربوط به تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد ($1/67 \pm 0/58$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار 4: دمای 20 درجه سانتی‌گراد ($0/33 \pm 0/58$) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار نوتروفیل و لنفوسیت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

مقدار هماتوکریت مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد ($41/67 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد (31 ± 1) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تیمارهای مورد بررسی از نظر تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$) (شکل 1).

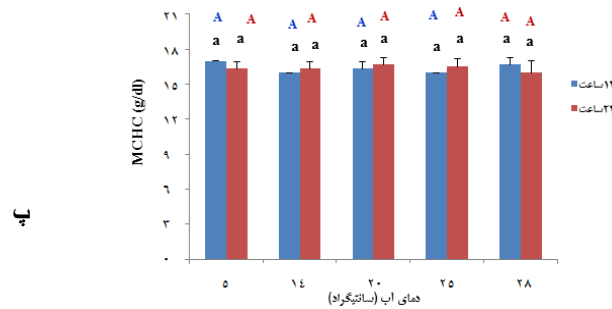
با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین مقدار MCV مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد ($737/3 \pm 13/05$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد ($10/54 \pm 705$)، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار MCH مربوط به تیمار 2: دمای 28 درجه سانتی‌گراد (118 ± 1) و بیش‌ترین مقدار MCHC مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد (17 ± 0) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد (16 ± 0) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص گردید که تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان MCV و MCH دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند ($P>0/05$). همچنین با



شکل 1: الف: روند تغییرات تعداد گلبول سفید در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات تعداد گلبول قرمز در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ج: روند تغییرات هماتوکریت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری. حروف A، B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a، b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.



الف

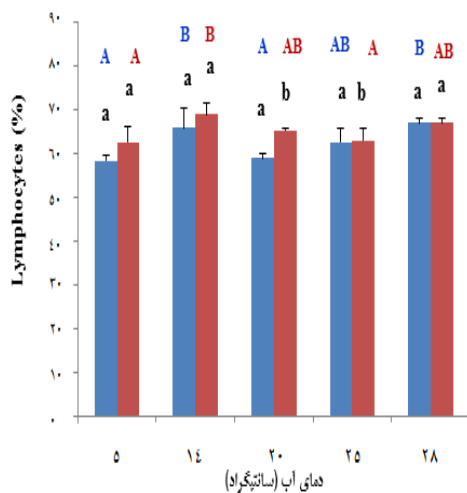


ب

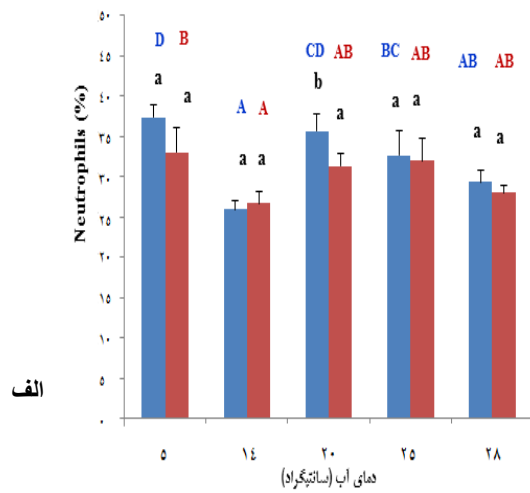
شکل 2: الف: روند تغییرات MCV در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات MCH در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، پ: روند تغییرات MCHC در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری
حروف A، B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a، b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.

معنی‌دار نمی‌باشند ($P > 0/05$) (شکل 3).

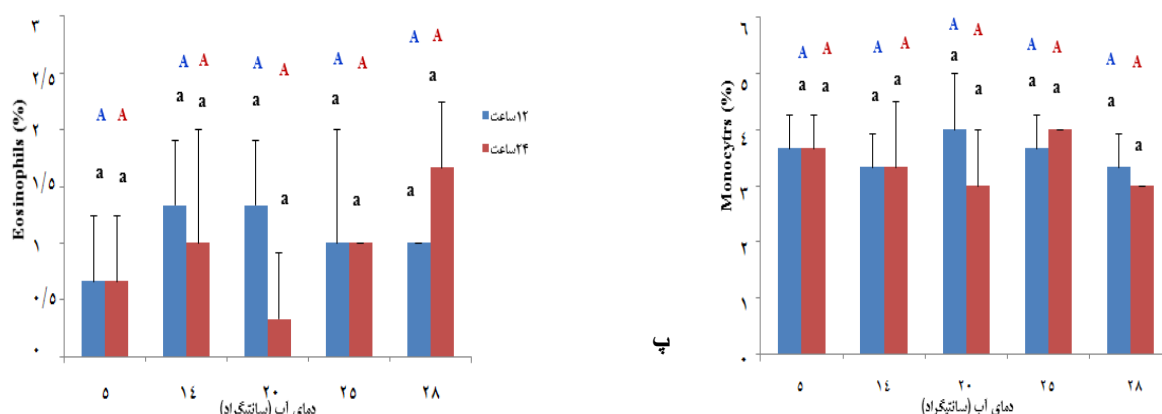
همچنین با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه بیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار مونوسیت و ائوزینوفیل دارای اختلاف



ج



د

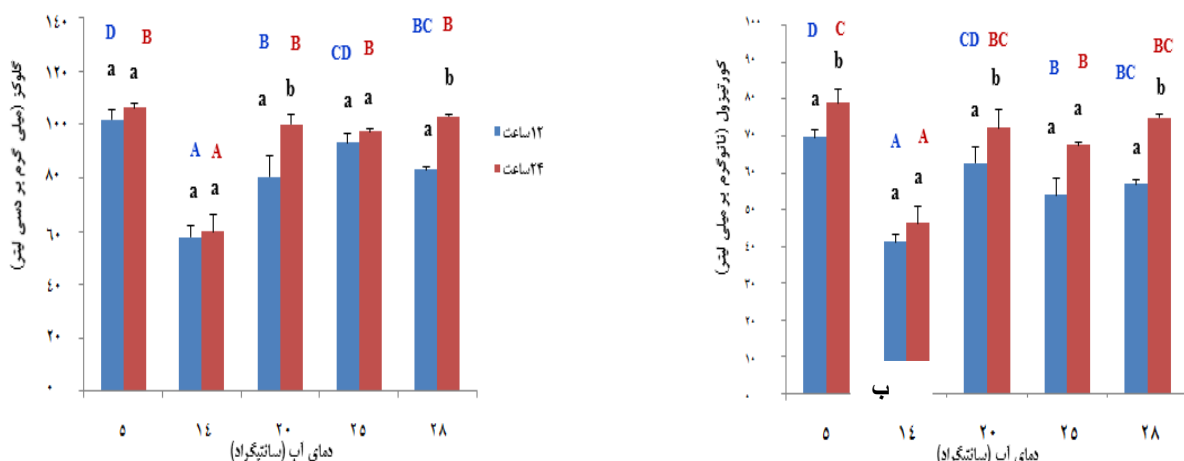


شکل 3: الف: روند تغییرات نوتروفیل در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات لنفوسیت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ج: روند تغییرات مونوسیت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ح: روند تغییرات ائوزینوفیل در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری. حروف A، B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a، b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.

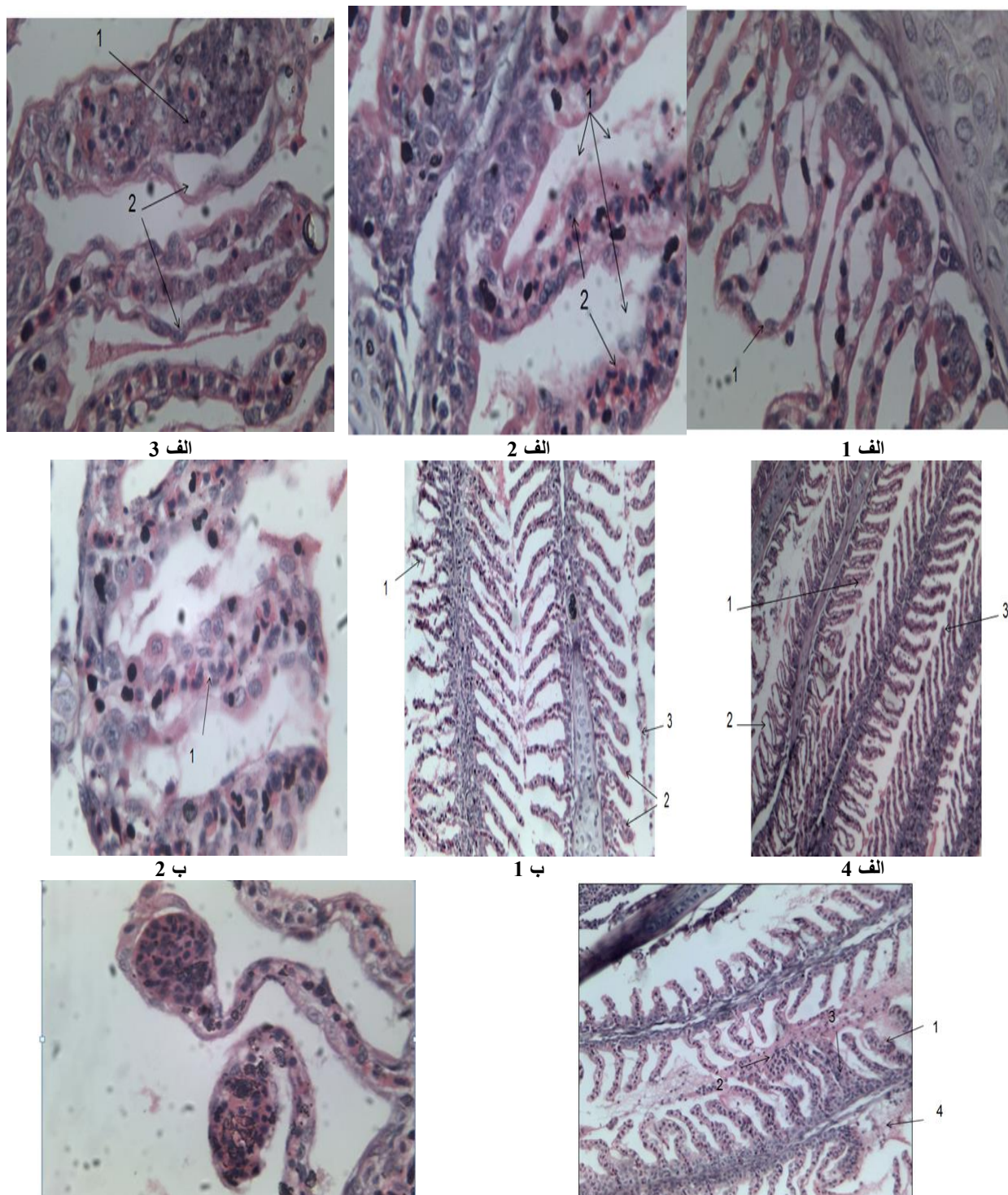
دمای 25 درجه سانتی‌گراد) نکرودز در لاملاها و در تیمار 5 (دمای 5 درجه سانتی‌گراد) و تیمار شاهد آنوریسم نوک لاملا مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد که در تیمار شاهد بیشترین علائم کلینیکی، در تیمار 3 خونریزی شدید و در تیمار 2 (دمای 28 درجه سانتی‌گراد) تخریب سلول‌های کلراید وجود داشته است. به‌طور کلی در آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان عوارضی از قبیل هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، خونریزی، تحلیل دستگاه پیلار، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکرودز سلولی و آنوریسم یا تلانژیکتازی مشاهده شد.

با توجه به به نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین مقدار کورتیزول مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد ($79 \pm 3/61$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد ($41/33 \pm 2/08$) و بیش‌ترین مقدار گلوکز مربوط به تیمار 5: دمای 5 درجه سانتی‌گراد ($106/33 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای 14 درجه سانتی‌گراد ($57/67 \pm 4/73$) می‌باشد. با توجه به آزمون کروسکال والیس تیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار کورتیزول و گلوکز خون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0/05$) (شکل 4).

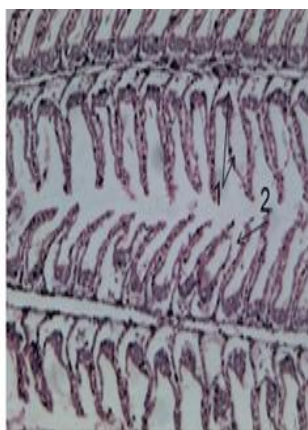
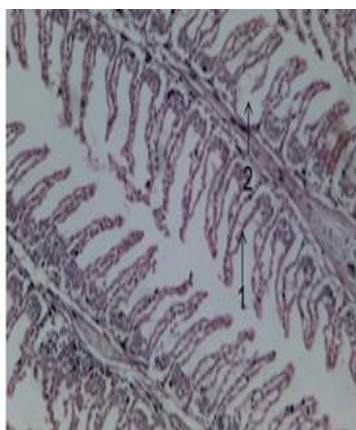
نتایج مطالعه هیستوپاتولوژیک آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که شوک حرارتی روی تیمار 2 تأثیر گذاشته و در زمان 24 ساعت 60% مرگ و میر مشاهده شد. در تیمار 4 (دمای 20 درجه سانتی‌گراد) علائم نکرودز، در تیمار 3



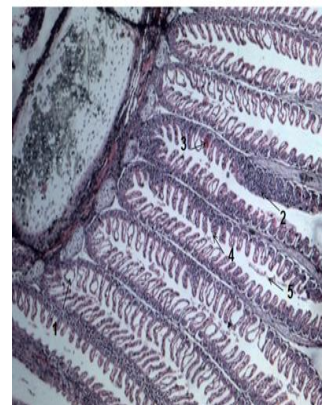
شکل 4: الف: روند تغییرات کورتیزول در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات گلوکز در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری. حروف A، B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a، b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.



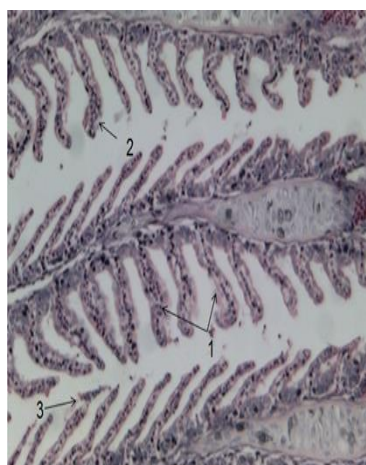
شکل 5: مقطع آتش در طی 12 ساعت. الف 1: تیمار شاهد (جدا شدن اپیتلیوم لاملا)، الف 2: تیمار شاهد (1- هایپرتروفی و پاره شدن اپیتلیوم لاملا، 2- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا)، الف 3: تیمار شاهد (1- هایپرپلازیای اپیتلیوم لاملا، 2- جدا شدن اپیتلیال لاملا)، الف 4: تیمار شاهد (1- هایپرپلازیای اپیتلیوم لاملا، 2- جدا شدن اپیتلیوم لاملا، 3- پیچ خوردگی انتهای لاملا)، ب 1: تیمار 2 (1- جدا شدن اپیتلیال لاملا و تخریب و پارگی اپیتلیال لاملا، 2- ادم اپیتلیال لاملا، 3- خونریزی)، ب 2: تیمار 2 (1- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا)، ب 3: تیمار 3 (1- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا، 2- پارگی لاملا و خونریزی، 3- جوش خوردن لاملا، 4- نکروز)، ج: تیمار 5 (1- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا، 2- گریزش شکل شدن نوک لاملا) (رنگ آمیزی انوزین-هماتوکسیلین، $\times 40$ ، $\times 100$ و $\times 400$).



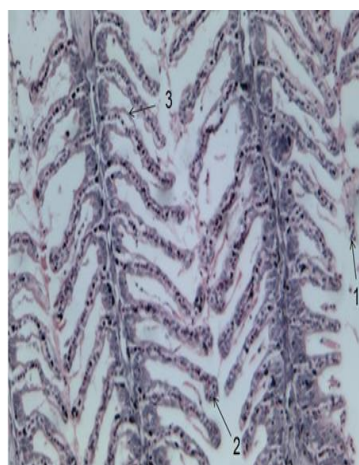
الف 2



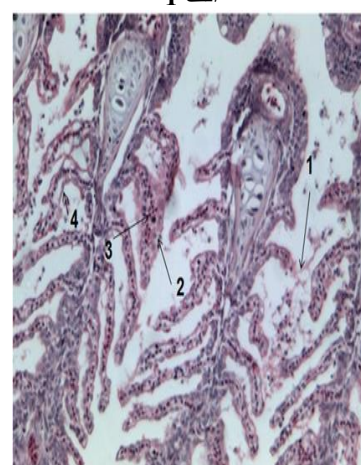
الف 1



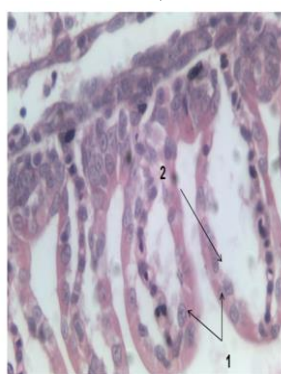
پ 2



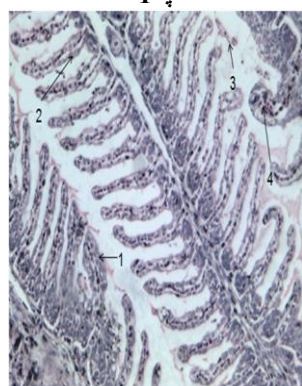
پ 1



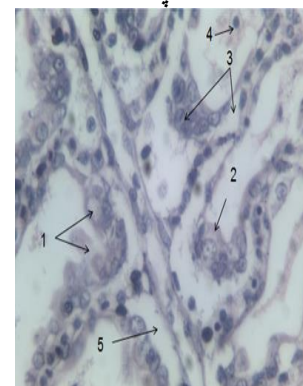
پ



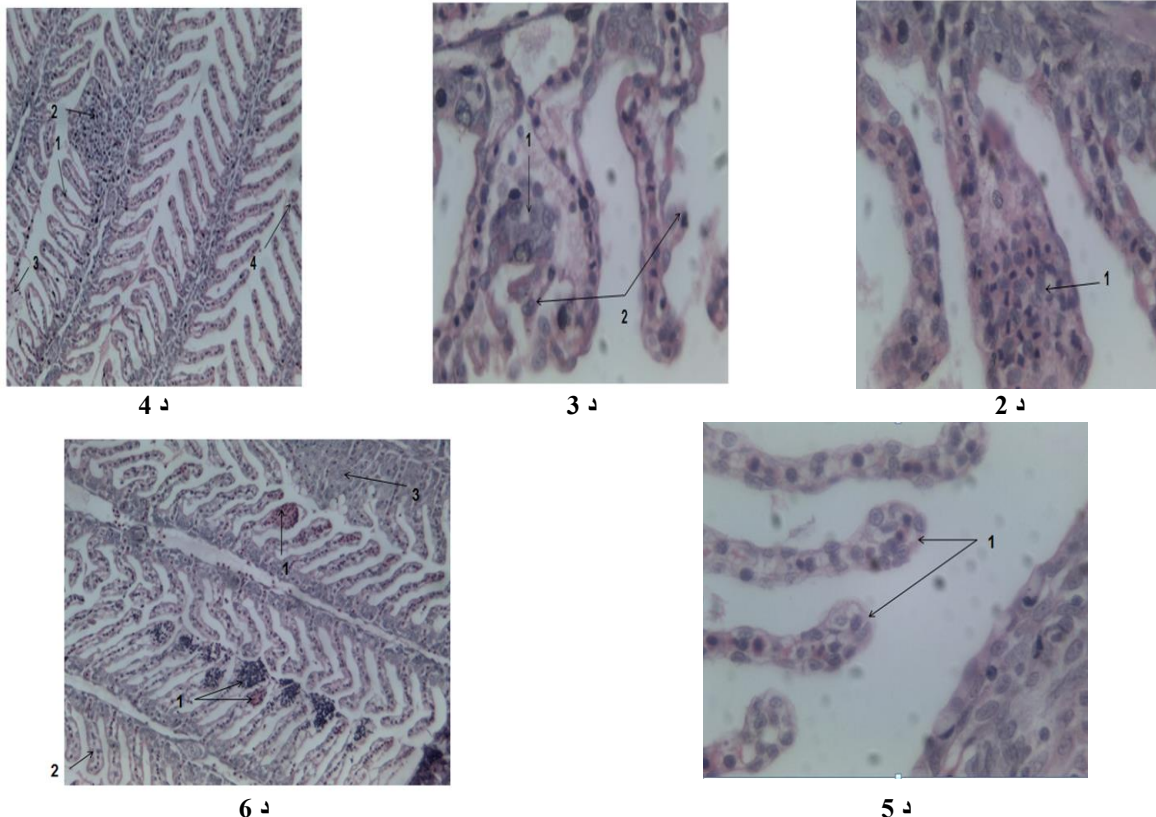
د 1



ج 2



ج 1



شکل 6: مقطع آیش در طی 24 ساعت. الف 1: تیمار شاهد (1- جاشدن اپیتلیال لاملا، 2- چسبیدن لاملاها به همدیگر، 3- آنورسم، 4- هایپرپلازی، 5- خونریزی)، الف 2: تیمار شاهد (سمت راست: 1- جاشدن اپیتلیال لاملا، پارگی در اپیتلیوم لاملا، سمت چپ: 1- جاشدن اپیتلیال لاملا و فیلامنت، 2- پارگی در اپیتلیوم لاملا)، ب: تیمار 2 (1- خونریزی، 2- هایپرتروفی با ادم در سلول‌های اپیتلیوم لاملا، 3- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، 4- جاشدن اپیتلیال لاملا)، ب 1: تیمار 3 (1- خونریزی، 2- پیچ‌خوردگی نوک لاملا، 3- جاشدن اپیتلیال لاملا)، ب 2: تیمار 3 (1- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیوم لاملا، 2- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، 3- جاشدن اپیتلیال لاملا)، ج 1: تیمار 4 (1- علانی از نکروز، 2- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های کلراید، 3- جاشدن اپیتلیال لاملا و فیلامنت، 4- خونریزی، 5- از بین رفتن اپیتلیال سنگفرشی فیلامنت)، ج 2: تیمار 4 (1- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیال، 2- جاشدن اپیتلیال لاملا، 3- خونریزی، 4- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا)، د 1: تیمار 5 (1- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های ادم در سلول‌های اپیتلیال لاملا، 2- جاشدن اپیتلیال لاملا، 3- خونریزی، 4- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، 5- جاشدن اپیتلیال لاملا)، د 2: تیمار 5 (1- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا)، د 3: تیمار 5 (1- تخریب اتصالات سلولی و جاشدن اپیتلیال فیلامنت، 2- تخریب اتصالات سلول‌های اپیتلیالی لاملا و تغییر شکل آن)، د 4: تیمار 5 (1- جاشدن اپیتلیال لاملا، 2- اتصال لاملاها به هم، 3- خونریزی، 4- خوردگی و تغییر فرم نوک لاملا)، د 5: تیمار 5 (1- پیچ‌خوردگی و تغییر فرم نوک لاملا)، د 6: تیمار 5 (1- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، لاملاهای گریزشی شکل، 2- جاشدن اپیتلیال لاملا، 3- اتصال لاملاها به هم) (رنگ‌آمیزی انوزین-هماتوکسیلین، $\times 40$ و $\times 100$).

بحث

دما یکی از فاکتورهای کلیدی در کنترل فرایندهای بیولوژیکی تمامی موجودات بالاخص موجودات خونسرد است. دما در سطح سلولی با افزایش یا کاهش فرآیند کاتالیزوری آنزیم‌های متابولیکی و هضمی عمل می‌کند (Garcia Esquivel و همکاران، 2007). در ماهیان سازش‌های دمایی عموماً با تغییرات متابولیکی تعیین می‌گردد که در طی آن یک مرحله آغازین استرس دمایی وجود دارد و پس از آن با یک جبران تدریجی همراه است. تغییرات در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مانند گلوکز خون می‌تواند به عنوان یک شاخص استرس در نظر گرفته شود (Santos و Pacheco، 1996). آنالیز خون‌شناسی و شیمی-بالینی، اگرچه اغلب در امور پزشکی ماهی استفاده نمی‌شود، می‌تواند اطلاعات تشخیصی قابل توجهی را ارائه دهد. مطالعات

نشان داده‌اند که زمانی که کیفیت آب تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف است، هر گونه تغییر فیزیولوژیکی در مقادیر یک یا چند پارامتر خونی منعکس خواهد شد (Van Vuren، 1986). با اندازه‌گیری پارامترهای خونی در طول تحقیق حاضر، مشخص گردید که در برخی شاخص‌ها اثر دما بر این پارامترها معنی‌دار بوده اما در برخی پارامترهای دیگر اثر پیش‌بینی‌شده ملاحظه نگردید. در مطالعه حاضر بالاترین تعداد گلبول قرمز (RBC) در تیمار 1 (شاهد) مشاهده گردید که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. در حالی‌که اختلاف معنی‌دار آماری در تعداد گلبول سفید (WBC) در تیمار 5 در دمای 5 درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد و در تعداد هموگلوبین و هماتوکریت اختلاف معنی-داری در تیمار 1 (شاهد) با سایر تیمارها وجود داشت. در سایر

فاکتورهای خونی (MCV، MCH، MCHC، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بر اساس مطالعات هماتولوژی، پیش‌بینی حالت فیزیولوژیکی ماهیان در آب-های طبیعی ممکن می‌باشد. مطالعات هماتولوژی در ماهیان استخوانی نشان داده‌اند که مقادیر هماتوکریت ممکن است به عنوان یک شاخص کلی سلامت ماهی مفید باشد، از آنجایی که به ماهیان غذایی با مقادیر آهن داده می‌شود و یا این که ماهیان در معرض کم‌خونی قرار دارند، همگی دارای مقادیر هماتوکریت (HCT) کاهش یافته می‌باشند (Wilson و Taylor، 1993). مطالعات هماتولوژی بیان می‌کنند که گلبول‌های قرمز شاخصی مهم و قابل اعتماد از منابع مختلف استرس هستند (Rainza- Paiva و همکاران، 2000). مطالعه روی ماهی کپور نشان‌دهنده تحمل خوب گونه‌ها به طیف دمایی متنوع است. پاسخ‌های خونی مشاهده‌شده نشان می‌دهد که طیف دمایی به‌کار گرفته‌شده روی ماهی کپور به عنوان یک عامل استرس‌زا عمل می‌کند. نتایج نشان داد که ماهی کپور معمولی پاسخ استرس را نسبت به شوک سرمایی و گرمایی نشان می‌دهد. با این حال، با وجود عدم تغییر در شاخص‌های هماتولوژی خون نسبت به درجه حرارت، پاسخ-های متابولیک متمایز بودند. شوک سرمایی نسبت به شوک گرمایی برای کپور معمولی پر استرس‌تر بود. می‌توان نتیجه گرفت که نتیجه حاضر می‌تواند تا حدی توانایی ماهی کپور برای مقاومت در برابر طیف گسترده‌ای از دماهای محیطی را توضیح دهد (Bozorgnia و همکاران، 2011). اثرات حاد دماهای مختلف در پارامترهای خون ماهی کپور معمولی نشان داد که غلظت هماتوکریت توسط دماهای مختلف آب تغییر نیافت (Bozorgnia و همکاران، 2011؛ Cry و Houston، 1974). بررسی روی ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) افزایش در سطوح هماتوکریت را در دمای 15 درجه سانتی‌گراد نشان داد. این مشاهدات تایید کرد که این ماهی به دمای بین 20 تا 25 درجه سانتی‌گراد در طول فصل زمستان سازگارتر است. مقدار هموگلوبین نیز در دمای 15 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری نداشت (Cho و همکاران، 2015). نتیجه مطالعات نشان داده است که با افزایش دما سطوح RBC نیز افزایش می‌یابد. زمانی که فعالیت اکسیژن در دمای افزایش-یافته منطبق با کاهش RBC باشد، در نتیجه بدن برای جبران این کاهش، تعداد گلبول‌های قرمز را در خون افزایش می‌دهد. بنابراین سطح MCV در خون کاهش می‌یابد. سطوح هموگلوبین با مقادیر RBC مرتبط است. زمانی که تعداد گلبول‌های قرمز در خون افزایش می‌یابد سطوح هموگلوبین نیز افزایش می‌یابد. مقدار گلبول سفید یکی از شاخص‌های مهم سلامت یا بیماری در ماهیان می‌باشد. زمانی که دما افزایش یافت مقدار گلبول سفید در خون افزایش می‌یابد (Bozorgnia و همکاران، 2011).

نتایج حاصل از این تحقیق روی قزل‌آلای رنگین-کمان نشان داد که پس از انجام تنش‌های دمایی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها در شرایط مختلف دمایی از نظر مقدار کورتیزول وجود دارد و کمترین میزان کورتیزول در شرایط نرمال، در تیمار 1 (شاهد) مشاهده گردید. مقدار کورتیزول در پاسخ به عامل استرس‌زا در پلاسماي خون افزایش یافته و غلظت آن از جمله شاخص‌های مناسب در ارزیابی پاسخ ماهیان نسبت به

استرس محسوب می‌گردد (Fevolden و همکاران، 2002؛ Pottinger و Carrick، 2001). کورتیزول تأثیرات قابل توجهی را نیز در تجزیه ذخایر انرژی در طول مدت بروز استرس دارا می‌باشد (Ruane و همکاران، 2002). سطوح کورتیزول و گلوکز شاخص-های کلی استرس در ماهیان هستند (Santos و Pacheco، 2001). بررسی ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) نشان داد که بین تیمارهای دمایی مختلف هیچ-گونه اختلافی در سطوح کورتیزول وجود ندارد (Cho و همکاران، 2015). همچنین نتایج به‌دست آمده از مطالعه گریه‌ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) نشان داد که سطح کورتیزول پلاسما در هر دو تیمار حاد و مزمن بدون تغییر باقی ماندند (Lermen و همکاران، 2004). Chen و همکاران (1995) گزارش کردند که غلظت کورتیزول پلاسما در ماهی کپور معمولی تنها پس از مواجهه حاد با دمای 4 درجه سانتی‌گراد افزایش یافته است، درحالی‌که در آزمایش مزمن، غلظت کورتیزول به سطوح مشابه با گروه شاهد بازگشت. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر تا حدودی مشابهت دارد. به‌طوری‌که در مطالعه حاضر نیز در تمامی تیمارها به‌جز تیمار شاهد که دمایی نامطلوب بروز کرده، مقدار کورتیزول افزایش یافت.

نتایج حاصل از این تحقیق روی قزل‌آلای رنگین-کمان پس از انجام تنش‌های دمایی نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد و کمترین میزان گلوکز در شرایط نرمال، در تیمار 1 (شاهد) و بیشترین میزان گلوکز در تیمار 5 در دمای 5 مشاهده گردید. این نتیجه بیانگر این نکته می‌باشد که گلوکز می‌تواند نقش موثری در مقابله با تنش ایفا نماید. بروز استرس در ماهیان می‌تواند موجب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و تغییراتی در ترکیبات خون مانند هاپیرگلیسمی در نتیجه افزایش میزان گلوکز خون شود. تغییرات در این ترکیب می‌تواند به عنوان پارامتری مهم برای ارزیابی سلامت ماهی مورد استفاده قرار گیرد (Affonso و همکاران، 2007). تغییر در میزان گلوکز خون می‌تواند نشانه‌ای از استرس و یا آلودگی‌های محیطی باشد (ابراهیمی و همکاران، 1390). Chen و همکاران (1995) معنی‌دار بودن رابطه بین افزایش قند خون ماهی و استرس حرارتی را گزارش نموده‌اند. همچنین Wendelaar Bonga (1997) بیان نمود که هاپیرگلیسمی یک پاسخ معمول به استرس حاد در ماهیان است. بنابراین می‌توان بیان نمود که نتایج دو مطالعه فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. مطالعه روی گریه‌ماهی نقره‌ای نشان داد که این ماهی تحت‌تأثیر شرایط سرد، گلوکز را ذخیره کرده، درحالی‌که در آب گرم، مصرف گلوکز محتمل است (Lermen و همکاران، 2004). Tandon و Joshi (1974) گزارش کردند که سطوح گلوکز سرم در گونه *Clarias batrachus* با کاهش دما افزایش می‌یابد. بالاترین سطح گلوکز خون در طول زمستان و پایین‌ترین سطح در طول تابستان مشاهده شد و با کاهش درجه حرارت در ارتباط است. مطالعه روی *Ictalurus melas* نشان داد که مقادیر قند خون در ارتباط با دوره‌های فصلی (بهار و پاییز) دارای تفاوت معنی‌داری

بین فصول نبود، اما با افزایش دمای آب، کاهش یافت (Ottolenghi و همکاران، 1995). همچنین مطالعه روی گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) نشان داد که در دمای بالاتر میزان بیش‌تر گلوکز (هایپرگلاسمی) و در دمای پایین‌تر، میزان کمتر گلوکز (هیپوگلاسمی) وجود دارد (Lermen و همکاران، 2004). پژوهش روی ماهی گورامی عظیم‌الجثه (*Osphronemus goramy*)، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای دمایی از لحاظ میزان گلوکز پلاسما بود. این مسئله می‌تواند هم‌چنین نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت در شرایط استرس‌زا برای این گونه در محدوده دمایی موردبررسی باشد (ابراهیمی و همکاران، 1390). سطوح بالای گلوکز خون در دماهای پایین نشان‌دهنده سوخت و ساز کند و همچنین شاخص زیرکشنده استرس است (Best و همکاران، 2001). Cho و همکاران (2015) بیان کردند که دمای 15 درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای 20 و 25 درجه سانتی‌گراد در طول زمستان برای ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) پر استرس‌تر می‌باشد. علاوه‌براین، در این ماهی گلوکز شاخص بهتری نسبت به کورتیزول بود.

بررسی اسلایدهای تهیه شده از بافت آبشش نشان می‌دهد که شوک حرارتی روی تیمارها چه در دمای بالا 28 درجه سانتی‌گراد و چه در دمای پایین 5 درجه سانتی‌گراد وجود دارد و این دماها مزید بر علت‌شده تا علائمی را مشاهده کرد. علائم ظهوریافته از بافت در همه تیمارها وجود دارد و کم و زیاد بودن علائم است که تفاوت ایجاد می‌نماید. نتایج مطالعه حاضر علائمی مانند مرگ و میر، خونریزی شدید، تخریب سلول‌های کلراید، هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، تحلیل دستگاه پیلار، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکروز سلولی و آنورسم یا تلانژیکتازی را نشان داد. مطالعات نشان می‌دهد که هیستوپاتولوژی نشانگر مفیدی برای آلودگی‌های زیست‌محیطی می‌باشد. پاسخ‌های ماهیان به استرس‌های دمایی نشان می‌دهد که تغییرات فیزیکی به اندازه کافی شدید خواهد بود که منجر به تغییرات ساختاری در سطح بافت، بخصوص در زمان افزایش و کاهش درجه حرارت آب شود (Saber، 2011). Saber (2011) در بررسی اثر تغییرات دمایی روی بافت آبشش کپور (*Cyprinus carpio*) وجود هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های لاملار، آتروفی سلولی، جمع‌شدن خون و خونریزی، ترکیب‌شدن لاملار و آسیب به لاملار را مشاهده کرد. این تغییرات می‌تواند با افزایش در فعالیت اندام‌هایی که در معرض محیط درحال تغییر هستند، فاصله انتشار ناشی از آب اطراف به مویرگ‌ها و در برخی مواقع افزایش در مقدار بافت (گلبول‌های خون) در فضاهای خونی لاملای ثانویه مرتبط باشد (Saber، 2011؛ Ayoola، 2008a؛ Ayoola، 2008b؛ Antonio، 2008 و همکاران، 2007؛ Olojo و همکاران، 2005). یک ویژگی بارز در درجه حرارت بالا، هایپرپلازی و هایپرتروفی سلولی می‌باشد (Saber، 2011). تغییرات در تیغه‌های آبششی می‌تواند در افزایش فاصله انتشار آب اطراف به مویرگ‌ها و به‌طور هم‌زمان افزایش مقدار بافت در تیغه‌های ثانویه و اختلال انتشار اکسیژن از طریق اپیتلیوم متورم شرکت کند (Bhagwant و Elahee، 2002). زمانی که ماهی دچار نوع شدیدی از استرس می‌باشد، در آبشش جمع‌شدن خون اتفاق افتاده، که ممکن است تغییراتی در رگ‌های خونی نیز رخ دهد. در این حالت، سلول‌های پیلار آسیب دیده می‌توانند منجر به ایجاد یک

جریان خونی زیاد در داخل تیغه شوند، که باعث اتساع کانال حاشیه‌ای، جمع‌شدن خون و یا حتی یک آنورسم می‌شود (Martinez و همکاران، 2004؛ Rosety-Rodriguez و همکاران، 2002؛ Takashima و Hibiya، 1995). پارگی اپیتلیوم آبششی می‌تواند سبب خونریزی شود، این ضایعه می‌تواند به‌عنوان تفسیری از یک جراحت مستقیم از عامل حرارتی روی بافت باشد (Temming و همکاران، 1983). حضور حفره مملو از موکوس در رشته‌های آبششی کپور ممکن است به‌عنوان یک تله یونی برای تمرکز عناصر کمیاب از آب اطراف و کمک به چسبندگی سلولی بین تیغه‌های ثانویه مجاور در نظر گرفته شود (Tao و همکاران، 2000). این عمل ممکن است به‌منظور حفاظت سلول‌های اپیتلیوم در مقابل سایش مکانیکی و عفونت به‌کار رود (Olson و Fromm، 1973). در درجه حرارت پایین، آبشش ضایعاتی شبیه به ضایعات درجه حرارت بالا مانند هایپرپلازی سلول‌های لاملاری، خونریزی بین تیغه‌های ثانویه آبششی، و همچنین ادغام جزئی برخی از تیغه‌های ثانویه که مثالی از مکانیسم‌های دفاعی است را نشان می‌دهد (Camargo و Martinez، 2007). همجوشی لاملار ثانویه ممکن است به‌عنوان یک نتیجه نهایی از هایپرپلازی لاملار باعث یک همجوشی در بسیاری یا تمام مویرگ‌های لاملاری در داخل اپیتلیوم هایپرپلازی شود. بالین‌حال، معمولاً، سطح گسترش کم است، اما به دلیل تغییرات در قوام موکوسی با از دست دادن خواص مواد فعال در سطح، تیغه‌های ثانویه انفرادی ممکن است به‌صورت مرکزی به هم بچسبند. این پاسخ به همراه تعدادی از محرک‌ها مانند عفونت انگلی تک‌یاخته‌ای (Goldes و همکاران، 1988)، اثرات مزمن آلومینیوم (باران اسیدی) در قزل‌آلای قهوه‌ای و کاهش درجه حرارت رخ می‌دهد (Saber، 2011؛ Karlsson-Norrgren و همکاران، 1986a؛ Norrgren و همکاران، 1986b). از سوی دیگر، انقباض عروق خونی آبششی و آتروفی سلولی ممکن است به‌علت شرایط نامساعد محیطی مانند کاهش سطح آب و محتوای اکسیژنی نسبتاً کم در ارتباط با دمای پایین آب باشد (Chandra، 1987). آسیب وارده به برخی تیغه‌های ثانویه آبششی ممکن است نشان دهد که کاهش درجه حرارت، باعث اختلال در کارایی تبادل گازی آبشش شود (Ayoola، 2008؛ Ayoola، 2008b؛ Hossam و Fagr، 2007).

در نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد با توجه به نتایج به‌دست آمده از اثرات طولانی مدت دما روی شاخص‌های خونی و هیستوپاتولوژیک آبشش قزل‌آلا، دمای 14 درجه سانتی‌گراد، دمای مناسب و مطلوبی برای پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌شمار می‌رود. چرا که بالاترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و کم‌ترین میزان کورتیزول و گلوکز در گروه شاهد مشاهده گردید. نتایج بافت‌شناسی نیز نشان‌دهنده بروز آسیب بافتی در دماهای متفاوت می‌باشد. همچنین پیشنهاد می‌شود که مشابه این مطالعه روی سایر ماهیان دارای ارزش اقتصادی و پرورش انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه تمامی دوستانی که در به ثمر نشستن این تحقیق تلاش نموده‌اند ابراز می‌دارند.

منابع

15. Ayoola, S.O., 2008b. Toxicity of glyphosate herbicides on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. Afr. J. Agric. Res. Vol. 3, No. 2, pp: 825-834.
16. Bahmani, M.; Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001. A comparative study of some haematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 24, pp: 135-140.
17. Beitinger, T.L.; Bennett, W.A. and McCauley, R.W., 2000. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. Environ. Biol. Fishes. Vol. 58, pp: 237-275.
18. Belkovskiy, N.M.; Lega, Y.V. and Chernitskiy, A.G., 1991. Disruption of water-salt metabolism in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in seawater at low temperatures. Journal of Ichthyology. Vol. 31, pp: 134-141.
19. Bell, J.G. and Sargent, J.R., 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture. Vol. 218, pp: 491-499.
20. Best, J.H.; Eddy, F.B. and Codd, G.H., 2001. Effects of purified microcystin-LR and cell extracts of Microcystis strains PCC 7813 and function in brown trout (*Salmo trutta*) alevins. Fish Physiol Biochem. Vol. 24, pp: 171-178.
21. Bhagwant, S. and Elahee, K.B., 2002. Pathologic gill lesions in two edible lagoon fish species, *Mulloidichthys flavolineatus* and *Mugil cephalus*, from the bay of poudre d'or, Mauritius. Western Indian Ocean. J. Mar. Sci. Vol. 1, No. 1, pp: 35-42.
22. Bowden, A.J.; Gardiner, N.M.; Couturier, C.S.; Stecyk, J.A.; Nilsson, G.E.; Munday, P.L. and Rummer, J.L., 2014. Alterations in gill structure in tropical reef fishes as a result of elevated temperatures. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 175, pp: 64-71.
23. Bozorgnia, A.; Hosseinfard, M. and Alimohammadi, R., 2011. Acute Effects of Different Temperature in the Blood Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). 2nd International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE vol. 6, IACSIT Press, Singapore. pp: 52-55.
24. Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology. Vol. 5, No. 3, pp: 327-336.
25. Chandra, K.J., 1987. Fish health monitoring and control of disease. In training manual of training on integrated farming to the upazila fisheries officer. DOF, Bang. Vol. 1, 155 p.
26. Chen, G.R.; Sun, L.T.; Lee, Y.H. and Chang, C.F., 1995. Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. J Appl Aquaculture. Vol. 5, pp: 21-31.
27. Cho, C.H.; Kim, J.E.; Kim, H.B. and Baek, H.J., 2015. Effects of Water Temperature Change on the Hematological Responses and Plasma Cortisol Levels in Growing of Red Spotted Grouper, *Epinephelus akaara*. Development and Reproduction. Vol. 19, No. 1, pp: 19-24.
28. Farkas, J.; Christian, P.; Gallego-Urrea, J.A.; Roos, N.; Hasselov, M.; Tollefsen, K.E. and Thomas, K.V., 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. Aquat. Toxicol. Vol. 101, pp: 117-125.
29. Fevolden, S.E.; Røed, K.H. and Fjalestad, K.T., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. Aquaculture. Vol. 205, pp: 61-75.
30. Finstad, B.; Staurnes, M. and Reite, O.B., 1988. Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture. Vol. 72, pp: 319-328.
31. Flores-Lopes, F. and Thomaz, A.T., 2011. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. Brazilian Journal of Biology. Vol. 71, pp: 179-188.
1. ابراهیمی، م.ح؛ ایمان‌پور، م.ر. و عدلو، م.ن، 1390. اثرات دما بر رشد، بازماندگی و بعضی فاکتورهای خونی در ماهی گورامی عظیم الجثه (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد 24، شماره 5، صفحات 648 تا 654.
2. بهمنی، م. و کاظمی، ر، 1377. مطالعه بافت‌شناسی روی گناد تاسماهیان پرورشی جوان. مجله علمی شیلان ایران. شماره 1، صفحات 1 تا 16.
3. پوستی، ا. و صدیق‌مروستی، م، 1378. اطلس بافت‌شناسی ماهی- اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی. تالیف تاکاشی هابیبا. انتشارات دانشگاه تهران. 331 صفحه.
4. پوستی، آ؛ ادیب‌مرادی، م. و فضیلی، آ، 1382. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و تکنیک‌های بافت‌شناسی. انتشارات دانشگاه تهران. 546 صفحه.
5. حلاجیان، ع؛ کاظمی، ر؛ محسنی، م؛ دژندیان، س.؛ یوسفی جوردی، آ؛ بهمنی، م؛ پوردهقانی، م؛ یزدانی، م.ع. و یگانه، ه، 1390. تک‌برداری به روش جراحی و مطالعه بافت‌شناسی گناد تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. شماره 3، صفحات 229 تا 233.
6. شاهسونی، د؛ وثوقی، غ.ح. و خضرائی‌نیا، پ، 1380. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری انگشتقد (قرم‌برون و ازون‌برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. شماره 50، بهار 80. صفحات 14 تا 18.
7. کبریتی، م؛ پیغان، ر. و محمدیان، ب، 1389. بررسی تلفات و ضایعات پاتولوژیکی ناشی از حمام نمک 24 ساعته در آبشش ماهیان انگشتقد کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). فصلنامه تالاب. صفحات 49 تا 56.
8. کوهکن، ا، 1395. آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مواجهه با سطوح مختلف شوری. مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای. سال 13، شماره 1، صفحات 1855 تا 1862.
9. نفیسی‌بهبادی، م، 1385. راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. 365 صفحه.
10. Abdel-Tawwab, M.; Mousa, M.A.A.; Sharaf, S.M. and Ahmad, M.H., 2005. Effect of Crowding Stress on Some Physiological Functions of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fed Different Dietary Protein Levels. International Journal of Zoological Research. Vol. 1, No. 1, pp: 41-47.
11. Affonso, E.G.; Silva, E.C.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, S.M.; Nunes, E.S.S.; Ituassu, D.R.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Fim, J.D.I. and Marcon, J.L., 2007. Effect of high level of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). Comparative Biochemistry and physiology. Vol. 147, pp: 383-388.
12. Akhundov, M.M. and Fedorov, K., 1995. Effect of exogenous estradiol on ovarian development in juvenile starlet (*Acipenser ruthenus*). Journal of Ichthyology. Vol. 33, pp: 109-120.
13. Antonio, F.F.; Jorge, V.F.C.; Sofia, G.S.; Sandra, M.M.; Joao, C. and Pedro, M., 2007. Histopathological changes in liver and gills epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. Pesq. Vet. Bars. Marco. Vol. 27, No. 3, pp: 103-109.
14. Ayoola, S.O., 2008a. Histopathological effects of glyphosate on juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) Amerisurasian. J. Agric. Environ. Sci. Vol. 4, No. 3, pp: 362-367.



50. Ottolenghi, C., Puviani, A.C., Ricci, D. and Morsiani, E., 1995. The effect of high temperature on blood glucose level in two teleost fish (*Ictalurus melas* and *Ictalurus punctatus*). Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 111, pp: 229-235.
51. Pacheco, M. and Santos, M.A., 2001. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla Anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. Ecotoxic Enviro Saf. Vol. 49, pp: 64-75.
52. Panigrahi, A. ; Kiron, V. ; Puangkaew, J. ; Kobayashi, T. ; Statoh, S. and Sugita, H., 2005. The Viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 243, pp: 241-254.
53. Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., 2002. Stress responsiveness affects dominant – subordinate relationships in rainbow trout. Horm. Behav. Vol. 40, pp: 419-427.
54. Rainza-Paiva, M.J.T.; Ishikawa, C.M.; Das Eiras, A.A. and Felizardo, N.N., 2000. Haematological analysis of Chara, *Pseudoplatystoma fasciatum* in captivity. Aqua 2000. Responsible aquaculture in the new millennium. Nice, France. May 2-6 2000. European Aquaculture Soc. Special Pub. Vol. 28, 590 p.
55. Rajaguru, S. and Ramachandran, S., 2001. Temperature tolerance of some estuarine fishes. Journal of Thermal Biology. Vol. 26, No. 1, pp: 41-45.
56. Rosety Rodriguez, M.; Ordonez, F.J.; Rosety, M.; Rosety, J.M.; Ribelles, A. and Carrasco, C., 2002. Morphohisto chemical changes in the gills of turbot, induced by sodium dodecyl sulfate. Ecotoxicol and Environ Safety. Vol. 51, pp: 223-228.
57. Ruane, N.M.; Carballo, E.C. and Koman, J., 2002. Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.). Aquac. Res. Vol. 33, pp: 777-784.
58. Saber, T.H., 2011. Histological Adaptation to Thermal Changes in Gills of Common Carp Fishes *Cyprinus carpio*. Jou. Raf. Sci. Vol. 22, No. 1, pp: 46-55.
59. Santos, M.A. and Pacheco, M., 1996. *Anguilla anguilla*. Stress biomarkers recovery in clean water and secondary-treated pulp mill effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 35, pp: 96-100.
60. Simmons, A., 1997. Hematology. Simmons, Butterworth Heinemann. 507 P.
61. Takabe, S.; Teranishi, K.; Takaki, S.; Kusakabe, M.; Hirose, S.; Kaneko, T. and Hyodo, S., 2012. Morphological and functional characterization of a novel Na⁺/K⁺-ATPase immunoreactive, follicle-like structure on the gill septum of Japanese banded houndshark, *Triakis scyllium*. Cell Tissue Res. Vol. 348, pp: 141-153.
62. Takashima, F. and Hibiya, T., 1995. An Atlas of Fish Histology: normal and pathological features. 2nd edn. Tokyo, Kodansha. 195 P.
63. Tandon, R.S. and Joshi, B.D., 1974. Effect of trypanosome infection on blood glucose levels of some fresh water teleosts. J Inland Fish Soc India. Vol. 6, pp: 81-82.
64. Tao, S.; Li, H.; Li, C.S. and Lam, K.C., 2000. Fish uptake of inorganic and mucous complexes of lead. Ecotoxicol. Environ. Safe. Vol. 46, pp: 174-180.
65. Temmink, J.; Bowmisteer, P.; Jong, P. and Van der Berg, J., 1983. An ultrastructural study of chromate-induced hyperplasia in the gill of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquatic Toxicology. Vol. 4, pp: 165-179.
66. Thrall, M.A.; Baker, D.C.; Campbell, T.W.; Denicola, D.; Fettman, M.J.; Lassen, E.D.; Rebar, A.H. and Weiser, G., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA. 501 P.
67. Treves-Brown, K.M., 2013. Applied fish pharmacology (Vol. 3). Springer Science and Business Media.
68. Van Vuren, J.H.J., 1986. The effects of toxicants on the haematology of *Labeo umbratus*. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 83, pp: 155-159.
32. Ford, T. and Beitinger, T.L., 2005. Temperature Tolerance in the Goldfish, *Carassius auratus*. J. Therm. Biol. Vol. 30, No. 2, pp: 147-152.
33. Garcia Esquivel, Z.; Magallon, S.M. and Gonzales Gomez, A.M., 2007. Effect of temperature and photoperiod on the growth, feed consumption, and biochemical content of juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*, fed on a balanced diet. Aquaculture. Vol. 262, pp: 129-141.
34. Goldes, S.A.; Ferguson, H.W.; Moccia, R.D. and Daoust, P.Y., 1988. Histological effects of the inert suspended clay kaolin on the gills of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Dis. Vol. 11, pp: 23-34.
35. Hao, L.; Chen, L.; Hao, J. and Zhong, M., 2013. Bioaccumulation and sub-acute toxicity of zinc nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): A comparative study with its bulk counterparts. Ecotoxicol. Environ. Safet. Vol. 91, pp: 52-60.
36. Helmuth, B.S.T. and Hofmann, G.E., 2001. Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. The Biological Bulletin. Vol. 201, No. 3, pp: 374-84.
37. Hossain, H.A. and Fagr, K.A., 2007. Study on the aspect of hexavalent chromium on some biochemical, cytotoxicological and histopathological aspects of the *oreochromis spp*. Pakistan J. Biol. Sci. Vol. 10, No. 22, pp: 3973-3982.
38. Houston, A.H. and cry, D., 1974. Thermoacclimatory variation in hemoglobin system of gold fish and rainbow trout. J. of experimental biology. Vol. 61, pp: 445-461.
39. Iwama, G.K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P. and Schreck, C.B., 1997. Fish Stress and Health in Aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar Series, vol. 62. Cambridge University Press, UK. 278 P.
40. Karlsson-Norrgren, L.; Dickson, W.; Ljungberg, O. and Runn, P., 1986a. Acid water and aluminium exposure: gill lesions and aluminium accumulation in farmed brown trout, *Salmo trutta*. J. Fish Dis. Vol. 9, pp: 1-10.
41. Karlsson-Norrgren, L.; Björklund, I.; Ljungberg, O. and Runn, P., 1986b. Acid water and aluminium exposure: experimentally induced gill lesions in brown trout, *Salmo trutta*. J. Fish Dis. Vol. 9, pp: 11-26.
42. Klontz, G.W., 1994. Fish Hematology. P: 121-132. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kikoff, T.C., Kaattari, S.L. and Smith, S.A. (Eds.). Techniques in Fish Immunology. SOS Publications. Fair Haven, New Jersey, USA. pp: 121-132.
43. Lermen, C.L.; Lappe, R.; Crestani, M.; Vieira, V.P. and Gioda, C.R., 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. Aquaculture. Vol. 239, pp: 497-504.
44. Li, P., Lewis, D.H. and Gatlin, D.M., 2004. Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Fish and shellfish immunology. Vol. 16, No. 5, pp: 561-569.
45. López-Olmeda, J.F. and Sánchez-Vázquez, F.J., 2011. Thermal biology of zebrafish (*Danio rerio*). Journal of Thermal Biology. Vol. 36, No. 2, pp: 91-104.
46. Martinez, C.B.R.; Nagae, M.Y.; Zaia, C.T.B.V. and Zaia, D.A.M., 2004. Morphological and physiological acute effects of lead in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Brazilian J. of Biol. Vol. 64, No. 4, pp: 797-807.
47. Mora, C. and Maya, M.F., 2006. Effect of rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes. Journal of Thermal Biology. Vol. 31, No. 4, pp: 337-341.
48. Olojo, A.A.; Olurin, K.B.; Mbaka, G. and Oluwemimo, A.D., 2005. Histopathology of gills and liver tissues of the African catfish *Caltrias gariepinus* exposed to lead. Afr. J. Biotech. Vol. 4, No. 1, pp: 117-122.
49. Olson, K.R. and Fromm, P.O., 1973. Ascanning electron microscopic study of secondary lamellae and chloride cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Z. Zellforsch. Vol. 143, pp: 439-449.

69. Wang, P.; Lin, C.; Hwang, L.; Huang, C.; Lee, T. and Hwang, P., 2013. Differential responses in gills of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 152, pp: 544-551.
70. Wedemeyer, G.A., 1969. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Comp Biochem Physiol*. Vol. 29, pp: 1247-1251.
71. Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev*. Vol. 77, pp: 591-625.
72. Wilson, R.W. and Taylor, E.W., 1993. The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*, during acute exposure. *J. Comp. Physiol*. Vol. 163, pp: 38-47.

