مطالعه شاخص های بیوشیمیایی خون فیل ماهیان جوان پرورشی با بیوماس های مختلف ذخیره سازی

سمیرا جعفریان[1]، حجت الله جعفریان[2*]، نورمحمد مختومی[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی

۲. گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

۳. کارشناس کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق قلا

*Hojat.jafaryan@gmail.com: نویسنده مسئول

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۹

چکیده

تاثیر پرورش فیل ماهیان جوان با پنج بیوماس متفاوت ذخیره سازی، بر مبنای پارامترهای بیوشیمیایی به عنوان شاخص های وضعیت سلامتی عمومی ماهی مورد بررسی قرار گرفت. فیل ماهی یک ساله (۸/۵۲±۴۸/۵۹ گرم) برای ۳۵ روز مورد پرورش قرار گرفت. مطالعه حاضر در قالب یک طرح کاملا تصادفی اجراء گردید. ماهیان به صورت سه تکرار در حوضچه های فایبرگلاس تحت بیوماس های ذخیره سازی ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۳۷۵۰، ۵۰۰۰ و ۶۲۵۰ گرم در هر مترمکعب به ترتیب عنوان تیمار T1، T2، T3، T4 و T5 پرورش داده شدند. آنالیز بیوشیمیایی پلاسمای خون نشان داد که افزایش بیوماس ذخیره سازی باعث افزایش معنی‌داری در مقدار آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) گردیده و حداکثر میزان ALT در تیمار پنجم (۶۲۵۰ گرم در هر مترمکعب) بدست آمد. تفاوت در سطوح ذخیره سازی فیل ماهیان جوان تاثیرات متفاوتی بر مقدار آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) داشت و این آنزیم در تیمارهای T2، T3 و T5 کاهش یافته اما در تیمار T4 افزایش یافت. مقدار آلکالین فسفاتاز (ALP) تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵). تفاوت در سطوح ذخیره سازی ماهیان تاثیرات معنی‌داری را بر مقادیر کمپلمان ۴ (C_4) داشت و این معیار بطور معنی‌داری در تیمارهای T2، T3، T4 و T5 در مقایسه با تیمار T1 (ذخیره سازی ۱۲۵۰ گرم در هر مترمکعب) افزایش یافت (P<۰/۰۵). مقدار ایمونوگلوبولین M (IgM) با افزایش میزان سطوح بیوماس در تیمارها کاهش یافت. کمترین سطح ایمونوگلوبولین (۰/۲۴ g/l) در تیمار T4 (ذخیره سازی ۵۰۰۰ گرم در هر مترمکعب) مشاهده گردید. در برخی از تیمارها تغییرات بیوماس ذخیره سازی تاثیر معنی‌داری را بر سطوح کلسترول، تری گلسرید و آلبومین داشت (p < ۰/۰۵). حداکثر کلسترول (۹۰/۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر) و تری گلسرید (۴۶۷/۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر) در تیمار T1 بدست آمد. آنالیز بیوشیمیایی پلاسمای خون نشان داد که افزایش بیوماس ذخیره سازی فیل ماهیان جوان باعث افزایش میزان پروتئین پلاسما در تیمارهای T2، T3 و T4 در مقایسه با تیمارهای T1 و T5 گردید. حداقل این معیار (۱/۹۰ گرم بر دسی لیتر) در تیمار T5 (ذخیره سازی ۶۲۵۰ گرم در هر مترمکعب) تعیین گردید. این مطالعه روشن ساخت که بیوماس های مختلف فیل ماهیان جوان در تانک های پرورشی تاثیرات متفاوتی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون این ماهی داشت.

واژ گان کلیدی: فیل‌ماهی، بیوماس‌های ذخیره سازی، آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، ایمونوگلوبولین M

مقدمه

تاس ماهیان یا ماهیان خاویاری، ماهیان غضروفی - استخوانی هستند و استورژون نیز نامیده می‌شوند. بزرگترین گونه در بین آنها فیل ماهی یا بلوگا از تاس‌ماهی شکلان است که به طول ۶ متر و وزن بیش از یک تن نیز می‌رسد (Berg, 1984). این گونه به دلیل رشد سریع، قیمت بالا و طعم مطلوب یکی از گونه‌های مورد توجه می‌باشد. غذا و تغذیه ماهیان خاویاری همانند سایر آبزیان از عوامل مؤثر در تولید این ماهیان محسوب میگردد.

ماهیان خاویاری از جمله گونه‌های آبزی کم‌نظیری هستند که از قدمتی ۲۵۰ میلیون ساله که به عصر ژوراسیک باز می‌گردد برخوردارند و از این رو تاسماهیان را فسیل‌های زنده جهان می‌نامند که همراه با تکامل فیلوژنی تا به امروز باز مانده‌اند.

فیل ماهی (*Huso huso*) به عنوان یکی از

بزرگترین ماهیان خاویاری شناخته می شود و یکی از مهمترین گونه هایی است که در روسیه، غرب اروپا، ژاپن و ایران پرورش داده می شود (Rafatnezhad & Falahatkar, 2011). همچنین در یک دهه گذشته این ماهی مورد علاقه بسیاری از دیگر کشورها جهت پرورش قرار گرفته است. اصولا به دلیل بالا بودن ارزش اقتصادی خاویار این ماهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می باشد (Birstein et al., 1997). این گونه به دلیل رشد سریع و تولید مثل آن در محیط محصور و مقاومت آن به شرایط مناسب پرورشی برای پرورش در آبهای داخلی بسیار مناسب می باشد(Vlasenko, 1994; Falahatkar et al., 2009).

فیل ماهی پراکنش وسیعی داشته و در دریای خزر، دریای سیاه، دریاچه آزوف و بسیاری از شاخه های فرعی این دریاها نظیر رودخانه ولگا و دانوب زندگی می کند. رودخانه ولگا یکی از مهمترین رودخانه هایی است که این ماهیان در آنجا تخمریزی کرده و تولید مثل می نمایند. بهرحال در سالهای گذشته آلودگی و ایجاد سد بر روی این رودخانه ها به شکلی کاملا محسوس جایگاه تولید مثلی این ماهی را محدود کرده و نسل این ماهی را کاهش داده است. پرورش در محیط های آبی محصور، جبران کاهش تکثیر و پرورش طبیعی آنها را نکرده و ذخایر طبیعی این ماهی کاهش یافته است. علاوه بر این موارد، صید بی رویه و مختل شدن تولید تخم این ماهیان در اثر آلودگی رودخانه های محل تکثیر و تخمریزی این ماهی از جمله دیگر عواملی است که موجب کاهش نسل این ماهیان گردیده است. در سالهای اخیر بیوتکنولوژی پرورش این ماهی و نرماتیوهای پرورشی آنها در آبهای شیرین داخلی شکل گرفته و توسعه یافته است. این امر در قالب پرورش در استخرهای خاکی، استخرهای بتنی آبگذر و پرورش توام با ماهیان گرم آبی نظیر کپور ماهیان چینی و پرورش در حوضچه های بتونی و فایبرگلاسی می باشد (FAO, 2010). افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، جبران تغذیه ناکافی و نامناسب و به تبع آن افزایش ضریب تبدیل غذایی، سوق دادن نوع تکثیر و پرورش به سمتی که ماهیان خاویاری پرورشی جایگزین ماهیان خاویاری وحشی بشوند و ماهیان خاویاری به همراه تمهیدات اتخاذی بازسازی ذخایر، اقدام به جبران جمعیتی خود در تمام سطوح زیستی خود بنمایند، از جمله اهداف بازسازی ذخایر و توسعه پایدار در این راستا می‌باشد یکی از راهکارهای تحقق این اهداف پرورش این ماهیان در آبهای داخلی می باشد (Rafatnezhad & Falahatkar, 2011).

افزایش تراکم ماهیان پرورشی در واحدهای آبزی پروری یک ابزار مدیریتی برای کاهش هزینه ایجاد شده به ازاء هر کیلوگرم ماهی تولیدی بوده و بنابراین مدیریت صحیح آن میتواند تضمینی برای تقویت اقتصادی چرخه تولید باشد (Orbcastel et al., 2010). هرچند پرورش دهندگان تمایل به افزایش تراکم ماهیان پرورشی در واحد سطح داشته ولی با این وجود افزایش تراکم تاثیر منفی بر عملکرد ماهیان پرورشی دارد (Ellis et al., 2002).

تراکم به عنوان یک عامل استرس زا در بسیاری از گونه های ماهیان مانند تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) (Yousif et al., 2002)، در ماهی زبرای دانیو (*Danio rerio*) (Ramsay et al., 2006)، تاس ماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) (Wuertz et al., 2006)، قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (North et al., 2006)، تاس ماهی آدریاتیک (*Acipenser naccarii*) (Cataldi et al., 1998) مطرح بوده و در ضمن مطالعاتی نیز پیرامون استرس در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) (Bahmani, 1999; Bahmani et al., 2005) انجام گردیده است.

اندازه گیری دو شاخص کورتیزول و گلوکز در مطالعات استرس ماهیان به طور گسترده مورد

استفاده قرار می گیرد (Mommsen et al., 1999). در این مطالعات کورتیزول به عنوان شاخص استاندارد استرس و گلوکز به عنوان شاخص پاسخ ثانویه به استرس مطرح می باشند (Bayunova et al., 2002). بیشتر مطالعات انجام گرفته در رابطه با اثر کورتیزول در ماهیان با تکیه بر میزان گلوکز پلاسما بوده است و از جمله این مطالعات می‌توان به بررسی استرس در دو گونه تاس ماهی روسی (*Acipenser guldestaetii*) و ازون برون طی دوره هچری با استفاده از شاخص کورتیزول و گلوکز اشاره نمود (Mommsen et al., 1999; Bayunova et al., 2002).

آبزی پروری موفق، به فراهم نمودن یک محیط پرورشی مناسب برای گونه پرورشی بستگی دارد، زیرا که شرایط نامناسب محیطی با ایجاد استرس مزمن سبب کاهش راندمان تولید خواهد شد (Ramsay et al., 2006). از جمله عوامل استرس‌زای محیطی در آبزی پروری تراکم می باشد (Ellis et al., 2002). تراکم به عنوان یک فاکتور کلیدی در آبزی پروری مطرح می باشد (Rafatnezhad et al., 2008)، چرا که بسیاری از پرورش دهندگان به منظور افزایش تولید، مایل به افزایش میزان ذخیره سازی در یک سیستم متراکم پرورشی هستند و این امر می‌تواند سبب بروز استرس حاد در آنها گردد (Iguchi et al., 2003). پرورش متراکم ماهی عموما بر مبنای اینکه حداقل زمین و منابع آبی مورد استفاده قرار می‌گیرد، بیشترین منفعت را برای پرورش دهنده ایجاد می نماید (Biswas et al., 2006).

بهرحال این مطالعه با در نظر گرفتن تاثیرات میزان بیوماس‌های ذخیره سازی مختلفی از فیل ماهیان پرورشی در تانک های فایبرگلاس بر شاخص های ایمنی در پلاسمای خون فیل ماهیان جوان پرورشی طراحی و اجراء گردید.

مواد و روش ها

این آزمایش در قالب یک طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار آزمایشی صورت گرفت. فیل ماهیان جوان با میانگین وزنی ۸/۵۲±۴۸/۵۹ گرم از مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی تهیه گردیده و در بیوماس های ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۳۷۵۰،۵۰۰۰ و ۶۲۵۰ گرم در هر مترمکعب و به ترتیب تحت عنوان تیمار اول تا پنجم ذخیره سازی و هر تیمار با ۳ تکرار تقسیم گردیده و به مدت ۳۵ روز مورد پرورش قرار گرفتند.

فیل ماهیان جوان به مدت یک هفته در حوضچه های فایبرگلاس مورد آداپتاسیون واقع گردیدند. این ماهیان روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن با جیره مورد نظر تغذیه شدند، این میزان غذا در ۳ وعده (ساعت ۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰) به ماهیان داده شد. همچنین در طول دوره آزمایش برخی از فاکتورهای کیفی آب مورد بررسی قرار گرفت. آب مورد استفاده برای پرورش فیل ماهیان جوان، از آبی بود که در سالن ونیرو کارگاه شهید مرجانی جهت پرورش ماهیان خاویاری استفاده می‌شد. این آب از طریق استخر ذخیره تأمین گردید. جهت تعیین میزان رشد ماهیان و به منظور محاسبه مقدار جیره آنها، هر هفته نمونه‌گیری تصادفی از هر تیمار (از همه تکرارها) انجام گردید.

جیره مورد استفاده جهت تغذیه فیل ماهیان بر اساس نیاز غذایی آنها از شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران تهیه شد. این جیره شامل ۴۳ درصد پروتئین خام، ۱۷ درصد چربی خام، ۲/۵ درصد فیبر خام، ۱۲ درصد خاکستر، ۱۰ درصد رطوبت و ۴۳۰۰ کالری بر گرم انرژی خام بود. در انتهای دوره آزمایش، در هر حوضچه پرورشی از ۱۰ قطعه از فیل ماهیان پرورشی بطور تصادفی از سیاهرگ ناحیه ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ، حجمی معادل ۱۰میلی لیتر خون استحصال شده و پس از مخلوط سازی، به ۵ تیوپ اپندورف هر یک با حجم ۲ میلی لیتر منتقل و سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت

۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، سرم نمونه های خون حاصل گردید (Gao et al., 2007).

سنجش پارامترهای غیر الکترولیت سرم خون ماهیان با استفاده از کیت های سنجش آزمایشگاهی انجام گردید. اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید و پروتئین تام با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر[13] انجام شد. همچنین پروتئین کل با استفاده از کیت آزمایشگاهی و روش فتومتریک با افزودن ۱۰۰۰ میکرولیتر از مخلوط محلول ۱ و ۲ (محلول ۱ و ۲ به نسبت ۴ بعلاوه ۱ قبلاً تهیه گردید) و ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم و قرائت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۶ نانومتر و تعیین میزان جذب در مقابل بلانک انجام شد. اعداد جذب نوری سپس در فرمول زیر قرار گرفته و اعداد مربوط به پروتئین کل محاسبه گردید.

(ΔStd.Cal) = (g/dL) پروتئین کل
(ΔA Sample / ΔA Std.Cal) × Conc.Std.Cal (g/dL)

اندازه‌گیری کمی آلبومین سرم خونی نیز با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون صورت گرفت. بدین منظور بر اساس روش بروموکرزولگرین[14] با افزودن ۱۰۰۰ میکرولیتر از معرف موجود به ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم و ترکیب آنها و انکوباسیون به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷°C با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۶ نانومتر قرائت گردید و با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد

(ΔStd.Cal) = (g/dL) آلبومین
(ΔA Sample / ΔA Std.Cal) × Conc.Std.Cal (g/dL)

برای تعیین اندازه‌گیری معیارهای ایمنی‌شناسی برخی از آنزیم های کبدی مورد سنجش واقع گردیدند.

سنجش آنزیم AST در سرم خون بر اساس روش ارائه شده توسط فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی بدون افزودن phosphatePyridoxal-5 صورت پذیرفت. برای این منظور طبق دستوالعمل کیت تشخیصی ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم را با ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول مخلوط ۱ و ۲ را پس از مخلوط کردن و گذشت ۱ دقیقه در دقایق ۱، ۲ و ۳ در طول موج ۳۴۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مورد قرائت قرار گرفت. سپس مجموع اختلافات جذب نوری دقایق اول تا سوم بر عدد ۳ تقسیم شده و میانگین بدست آمده در ثابت ۱۹۸۵ ضرب شد.

آنزیم ALT به روش رنگ سنجی کینتیک انجام شد (Borges et al., 2004). اندازه‌گیری آنزیم ALP با استفاده از کیت تشخیصی طبق روش استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان با ترکیب ۲۰ میکرولیتر از نمونه سرم و ۱۰۰۰ میکرولیتر از مخلوط محلول ۱ و ۲ و قرائت در طول موج ۴۰۵ نانومتر صورت پذیرفت. اعداد حاصل اختلاف جذب نوری را پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ با هم جمع و بر عدد ۳ تقسیم گردید. سپس میانگین حاصل را بر عدد ۳ تقسیم شده و عدد بدست آمده را در ثابت ۲۷۵۷ ضرب گردید و سپس میزان کمی ALP بدست آمد. اندازه‌گیری ایمنوگلبولین M (IgM) با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و به وسیله دستگاه اتوآنالایزر انجام شد.

میزان کورتیزول[15] موجود در نمونه‌های سرم خونی با استفاده از کیت تشخیصی مونوبایند ساخت کشور امریکا و با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری گردید. ۲۵ میکرولیتر از نمونه سرم را در جایگاه اندازه‌گیری ریخته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از معرف آنزیم کورتیزول به تمامی نمونه‌ها افزوده شد. میکروپلیت حاوی نمونه‌ها و معرف برای ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به آرامی حرکت داده شد و پس از آن، سطح میکروپلیت‌ها پوشیده شده و برای ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون گردید. پس از انکوباسیون در دمای اتاق صفحه میکروپلیت را به آرامی خم گردیده تا

[1]- Autoanalyzer
[2]- Bromocresol Green

[2]- Cortisol

محتویات آن خالی شود. سپس ۳۵۰ میکرولیتر از بافر شستشو، دو مرتبه به آن افزوده و تخلیه گردید. پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر از معرف را به تمامی جایگاه‌ها اضافه شد و برای ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون گردید. پس از اتمام زمان انکوباسیون ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده واکنش به جایگاه‌ها افزوده شد و برای ۱۵ تا ۲۰ ثانیه حرکت داده شد. سپس جذب نوری هر جایگاه در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

پارامترهای کیفی آب ورودی به حوضچه های پرورشی با استفاده از تجهیزات شرکت هانا مورد سنجش قرار گرفتند که میانگین درجه حرارت آب ($^{\circ}C$ ۲/۲۶± ۲۳/۰۵)، اکسیژن محلول در آب (mg/l ۰/۲۴± ۵/۳۳)، پی –اچ (۰/۱۹± ۸/۱۲) و قابلیت هدایت الکتریکی (µmos/cm ۳۳۸/۱۵± ۳۴۷۱/۳۳) در دامنه قابل قبول قرار داشتند.

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه به منظور تعیین تفاوت معنی دار بین داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با آزمون دانکن استفاده شد. آنالیز داده با بکاری گیری نرم افزار SPSS-17 صورت گرفت. تفاوت بین میانگین ها در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد ($p < ۰/۰۵$) تعیین گردید. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

نتایج

تاثیر میزان بیوماس‌های مختلف ذخیره سازی فیل ماهیان جوان بر تغییرات پارامترهای هماتولوژی و ایمنی خون این ماهیان در جدول۱ ارائه شده است. قند خون فیل ماهیان جوان با افزایش بیوماس ذخیره سازی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت. کمترین میزان قند خون در تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۶۲۵۰ گرم فیل ماهی در هر متر مکعب معادل ۵۵mg/dl و بیشترین میزان آن (۹۰/۰۰mg/dl) در تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۱۲۵۰ گرم فیل ماهی در هر متر مکعب بدست آمد. همچنین در کمترین بیوماس ذخیره سازی فیل ماهیان جوان (۱۲۵۰ گرم فیل ماهی در هر متر مکعب) بالاترین میزان کلسترول خون (۹۰/۵۰mg/dl) و در بالاترین بیوماس ذخیره سازی فیل ماهی، کمترین سطح کلسترول خون (۵۷/۰۰mg/dl) مشاهده گردید. این تیمار با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P< ۰/۰۵$).

سطوح تری گلیسرید خون فیل ماهیان جوان در تیمارهای مختلف آزمایشی با یکدیگر متفاوت بود (جدول۱)، بطوریکه در بیوماس های بالاتر در مقایسه با تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۱۲۵۰ گرم فیل ماهی در هر متر مکعب، بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). بالاترین سطح تری گلیسرید خون فیل ماهیان جوان (۴۶۷/۵۰mg/dl) در تیمار با بیوماس ۱۲۵۰ گرم در هر متر مکعب بدست آمد. همچنین بین تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۲۵۰۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب، با تیمارهای ۳۷۵۰و ۶۲۵۰ گرم در متر مکعب اختلاف معنی دار مشاهده گردیده ($p < ۰/۰۵$).

جدول۱. تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خونی فیل ماهی جوان در تیمارهای آزمایشی مختلف

تیمارهای آزمایشی فاکتورهای بیوشیمیایی	بیوماس ۱۲۵۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۲۵۰۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۳۷۵۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۵۰۰۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۶۲۵۰گرم در متر مکعب
قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)	^{a}۲/۰۰±۹۰/۰۰	^{b}۲/۵۰±۷۳/۵۰	^{b}۳/۵۰±۷۱/۵۰	^{b}۱/۵۰±۷۳/۵۰	^{c}۷/۰۰±۵۵/۰۰
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	^{a}۱۸/۵۰±۹۰/۵۰	^{a}۷/۵۰±۸۹/۵۰	^{a}۳/۵۰±۸۶/۵۰	^{a}۴/۵۰±۷۹/۵۰	^{b}۱۰/۰۰±۵۷/۰۰
تری گلیسرید (میلیگرم بر دسی لیتر)	^{a}۱۴/۵۰±۴۶۷/۵۰	^{c}۲/۰۰±۳۱۴/۰۰	^{b}۲۳/۰±۳۷۱/۰۰	^{bc}۲۵/۵۰±۳۴۳/۰۰	^{b}۱۶/۵۰±۳۷۷/۵۰
آلبومین(گرم بر دسی لیتر)	^{bc}۰/۱۵±۱/۴۵۰	^{ab}۰/۱۵±۱/۷۵۰	^{ab}۰/۱۵±۱/۶۵۰	^{a}۱/۰۰±۱/۸۰	^{c}۰/۲۵±۱/۱۵
پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر)	^{bc}۰/۱۵±۲/۰۵	^{ab}۰/۲۵±۲/۳۵	^{ab}۰/۱۰±۲/۳۰	^{a}۰/۱۵±۲/۴۵	^{c}۰/۱۰±۱/۹۰

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن می باشد ($p<۰/۰۵$).

همچنین بالاترین میزان آلبومین و پروتئین خون (۱/۸۰g/dl و ۲/۴۵ g/dl) در تیمار آزمایشی با بیوماس ذخیره سازی۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب تعیین گردید. تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم فیل ماهی در هر متر مکعب در ارتباط با آلبومین با تیمارهای ۱۲۵۰ و ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$).

سطوح هورمون کورتیزول خون فیل ماهیان جوان در تیمارهای با بیوماس ذخیره سازی مختلف، با یکدیگر متفاوت بود (جدول ۲) و بالاترین میزان کورتیزول (۷۴/۴۵ نانو گرم بر میلی لیتر) در تیمار با بیوماس ۲۵۰۰ گرم در هر متر مکعب بدست آمد. تیمارهای ۲۵۰۰ و ۳۷۵۰ گرم در هر متر مکعب با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$).

بالاترین میزان آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) (۳۸/۹۵ U/dl) در خون فیل ماهیان جوان، در بیوماس ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب بدست آمد و با تیمارهای ۱۲۵۰ و ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). در خصوص آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) خون فیل ماهیان در تیمارهای آزمایشی، تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب از میزان بالاتری (۱۲/۹۵ U/dl) برخوردار بود. کمترین مقدار این آنزیم در تیمار ۱۲۵۰ گرم در هر متر مکعب بدست آمد. تیمار ۱۲۵۰ گرم در هر متر مکعب با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$).

میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در تیمارهای آزمایشی متغیر بوده و کمترین مقدار آن (U//dl ۷۷/۸۰) در تیمار با بیوماس ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب مشاهده گردید. در حالیکه بالاترین میزان این آنزیم (U//dl ۹۱/۳۷) در خون فیل ماهیان جوان در تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب تعیین گردید. بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P >۰/۰۵$).

میزان ایمونوگلوبولین M (IgM) در خون فیل ماهیان جوان با افزایش میزان بیوماس آنها در واحد مترمکعب آب محیط پرورشی، کاهش یافت. کمترین سطح ایمونوگلوبولین (۰/۲۴۰ g/l) در خون ماهیان جوان در تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب مشاهده گردید. تیمارهای آزمایشی با تراکم ۱۲۵۰، ۲۵۰۰،۳۷۵۰ و ۶۲۵۰ گرم در متر مکعب با تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$).

جدول۲. تغییرات شاخص ایمنی در پلاسمای خون فیل ماهی جوان در تیمارهای آزمایشی مختلف

تیمارهای آزمایشی فاکتورهای ایمنی	بیوماس ۱۲۵۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۲۵۰۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۳۷۵۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۵۰۰۰ گرم در متر مکعب	بیوماس ۶۲۵۰گرم در متر مکعب
کورتیزول (نانو گرم بر میلی لیتر)	^{b}۲/۱۵±۵۱/۹۵	^{a}۳/۶۵±۷۴/۴۵	^{a}۳/۷۵±۷۲/۸۵۰	^{c}۱/۵۰±۴۰/۲۵	^{d}۱/۹۴±۳۰/۲۶
AST (U/dl)	^{bc}۰/۸۵±۳۷/۳۵	^{ab}۱/۲۵±۳۲/۹۵	^{ab}۱/۸۵±۲۸/۶۵	^{a}۰/۲۵±۳۸/۹۵	^{c}۲/۹۰±۳۱/۳۰
ALP (U/dl)	^{a}۳/۶۵۰±۸۳/۸۵	^{a}۲/۰۲±۸۵/۱۷	^{a}۴/۶۵±۸۹/۳۷	^{a}۶/۵۷±۹۱/۳۷	^{a}۷/۸۲±۷۷/۸۰
ALT (U/dl)	^{b}۰/۶۰±۹/۴۰	^{a}۰/۸۵±۱۱/۸۵	^{a}۶۵±۱۱/۸۵	^{a}۶۰±۱۲/۷۰	^{a}۲/۰۵±۱۲/۹۵
IgM (g/l)	^{a}۰/۰۹±۰/۴۳۴	^{ab}۰/۰۶±۰/۲۹۵	^{ab}۰/۰۷±۰/۲۸۵	^{c}۰/۰۱±۰/۲۴۰۴	^{ab}۰/۰۱±۰/۲۶۴
کمپلمان (C3) (میلی گرم بر دسی لیتر)	^{a}۰/۰۰۹±۰/۲۶۶	^{a}۰/۰۰۵±۰/۲۷۳	^{a}۰/۰۰۸±۰/۲۷۹	^{a}۰/۰۰±۰/۲۷۶	^{a}۰/۰۰۹±۰/۲۶۴
کمپلمان (C4) (میلی گرم بر دسی لیتر)	^{b}۰/۰۰۱±۰/۰۶۶۵	^{a}۰/۰۰۲±۰/۰۷۲۵	^{a}۰/۰۰۱±۰/۰۷۲۰	^{a}۰/۰۰۲±۰/۰۷۳۵	^{a}۰/۰۰۲±۰/۰۷۳۶

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشانه معنی دار بودن می باشد($p<۰/۰۵$).

فاکتور ایمنی کمپلمان ۳ (C3) با بکارگیری بیوماس های مختلف ماهی در تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌داری تغییر نیافت ($P >۰/۰۵$). در حالیکه سطوح کمپلمان ۴ (C4) در تیمارهای آزمایشی با افزایش بیوماس، زیاد گردید. بالاترین میزان سطوح کمپلمان ۴ در فیل ماهیان جوان در تیمار با بیوماس ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب تعیین گردید. تیمار با بیوماس ۱۲۵۰ گرم در هر متر مکعب با تیمارهای ۲۵۰۰، ۳۷۵۰، ۵۰۰۰ و ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$).

بحث

این آزمایش با هدف تاثیر پذیری فیل ماهیان جوان نگهداری و پرورش داده شده در حوضچه های ونیرو با بیومس های مختلف صورت پذیرفت. از آنجائیکه در این کارگاه بر مبنای میزان آب و شرایط پرورشی از تراکم ها و بیوماس های مختلف در حوضچه های ونیرو استفاده می شود، بر همین اساس این بیوماس ها بر مبنای شیوه بکارگیری آنها در حوضچه های ونیرو در کارگاه شهید مرجانی طراحی و اجراء گردید. سیستم فیزیولوژی ماهیان می تواند توسط عوامل مختلف بیولوژیکی و فیزیکو شیمیایی به چالش کشیده شود. زمانیکه عوامل استرس زا بیشتر از میزان آستانه تحمل ماهی باشد، موفقیت در تولید مثل، فعالیت، مقاومت در برابر بیماری های عفونی و بقاء در ماهیان دچار اختلال می گردد. این آزمایش نشان داد که تاثیر پذیری فیل ماهیان جوان در طول مدت نگهداری آنها در حوضچه های ونیرو با بیوماس های مختلف، با یکدیگر تفاوت داشته و پاسخ فیل ماهیان جوان بصورت مختلف بروز می کند. مطالعات بیوشیمیایی خون این ماهی نشان داد که تغییرات در فاکتورهای خونی این ماهی در بیوماس های مختلف بصورت متفاوت ظاهر گشت. دانش خون شناسی ماهیان می تواند به عنوان یک شاخص با حساسیت بالا در ارزیابی تغییرات فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی در ماهیان مورد استفاده قرار گیرد (Kori-Siakpere *et al.*, 2005). یکی از موارد مهم در پرورش ماهیان، استرس ناشی از تراکم می باشد که در سیستم های پرورش آبزیان می تواند به عنوان یک عامل تنش‌زا قلمداد شده و تاثیرات منفی بر رشد و سیستم ایمنی ماهی داشته باشد. میزان تاثیر پذیری ماهی از این عامل محدود کننده بستگی زیادی به گونه ماهی و فیزیولوژی آن دارد. عموما ذکر می گردد که ماهیان خاویاری و بخصوص فیل ماهی قابلیت سازگاری بالایی داشته در مقابل عامل تراکم از مقاومت بالایی بر خوردار می باشد (Barton, 2002).

علارغم افزایش میزان بیوماس ماهی، سطح قند خون این ماهی کاهش یافت. در اکثر مطالعات صورت گرفته توسط محققین مختلف، عموما افزایش بیوماس و تراکم ماهیان موجب افزایش قند خون شده که در این خصوص یافته های این تحقیق در مغایرت با آنها بود. یکی از دلایل احتمالی در این خصوص می تواند به دلیل پائین بودن میزان بیوماس های بکارگیری ماهی در سطحی کمتر از سطح تاثیر پذیری از شدت بیوماس این ماهی باشد. سطح گلوکز خون به عنوان یک شاخص استرس محیطی برای نشان دادن تغییرات در متابولیسم کربوهیدارت در تحت شرایط استرس می باشد (Kavitha *et al*., 2010). در مغایرت با یافته های این تحقیق، کمال و عمر (۲۰۱۱) در خصوص افزایش تراکم های مختلف ماهی فتوفاگ دریافتند که میزان گلوکز از سطح ۷۲/۹۰ به ۱۰۳/۲۳ میلی گرم بر دسی لیتر رسید. در حالیکه یافته های حسنعلی پور و همکاران (۲۰۱۲ و ۲۰۱۳) نشان داد با افزایش تراکم تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) گلوکز خون افزایش نداشته بلکه در برخی از ماههای مورد بررسی کاهش نیز داشت. در موافقت با یافته های تحقیق حاضر، در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) با بیوماس های ۳ و ۶ kg/m^3 نسبت به ۱/۵ kg/m^3 پس از ۳۰ روز، میزان کورتیزول از سطح mg/dl ۸۰/۱۵ به g/dl ۷۷/۹۱ کاهش یافت (عالی محمودی و صالحی پور، ۱۳۹۳). مطالعات نشان می‌دهد که تاس‌ماهیان در مقایسه با ماهیان استخوانی نظیر تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*)، زیبرای دانیو (*Danio rerio*) و قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در خصوص تغییرات کورتیزول و قند خون از حساسیت کمتری برخوردار می باشند (Barton, 2002).

کلسترول یکی از اجزای ساختمانی غشاء سلولی و به عنوان لایه بیرونی لیپوپروتئین های پلاسما بوده و نقش مهمی در ساخت هورمن های استروئیدی دارد. تری گلیسریدها عموما در تامین انرژی سلولی نقش داشته و می توانند به عنوان یک شاخص در تعیین وضعیت تغذیه استفاده شوند. یافته های تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش بیوماس ذخیره سازی در تیمارهای مختلف، میزان کلسترول خون کاهش یافته است که یکی از دلایل احتمالی را می توان در استرس ناشی از تراکم و کاهش تغذیه ماهیان دانست. در همین خصوص عبدالتواب و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که میزان سطوح پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین در پلاسمای خون ماهی به عنوان یک شاخص تشخیصی مرتبط با شرایط تغذیه ای بوده و در ارتباط با سیستم عروقی و عملکرد کبد می باشد. همچنین کمال و عمر (۲۰۱۱) دریافتند که در تراکم های ۳، ۶ و ۹ قطعه ماهی کپور نقره ای،کلسترول و تری گلیسرید خون این ماهی در تیمارهای ذکر شده به ترتیب از mg/dl ۱۷۴/۹۰ به mg/dl ۵۷/۷۲ و mg/dl ۱۸۱/۴۳ به mg/dl ۶۴/۱۷ تنزل یافت. نتایج مشابهی در تحقیق حاضر در ارتباط با فیل ماهی بدست آمد، بطوریکه همسوی با این نتایج میزان کلسترول و تری گلیسرید خون فیل ماهیان جوان در تیمارهای با تراکم بالاتر بطور معنی‌داری کاهش یافت. در حالیکه سطوح آلبومین و پروتئین کل در پلاسمای فیل ماهیان ذخیره شده با بیوماس های بالاتر شامل ۲۵۰۰، ۳۷۵۰ و ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب افزایش داشت ولی در تیمار ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب کاهش دیده شد. در تحقیق حاضر ابتدا آلبومین خون فیل ماهی در بیوماس ذخیره سازی ۵۰۰۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب به میزان g/dl ۱/۸۰ رسیده که در بیوماس ۶۲۵۰ گرم در متر مکعب به g/dl ۱/۱۵ تنزل نمود و همچنین پروتئین کل نیز از g/dl ۲/۰۵ در تیمار با ذخیره سازی ۲۵۰۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب به g/dl ۲/۴۵ در تیمار میزان بیوماس ۵۰۰۰ گرم در هر متر مکعب افزایش یافته و مجددا در تیمار با بیوماس ۶۲۵۰ گرم در متر مکعب به g/dl ۱/۹۰ تنزل یافت. این یافته ها نشان می دهد که پاسخ فیل ماهی در تاثیر پذیری از تراکم که به عنوان یک استرس تلقی می شود، کاملا

متفاوت می باشد. بهرحال آلبومین و پروتئین از مهمترین اجزای بیوشیمیایی خون بوده که ارتباط نزدیکی با سطح تغذیه دارد. یکی از دلایل احتمالی کاهش این دو ترکیب در خون فیل ماهیان در تیمار با بیوماس ذخیره سازی ۶۲۵۰ گرم در هر متر مکعب، ممکن است تاثیر گذاری استرس ناشی از شدت تراکم و افزایش بیوماس ماهی در این سطح باشد. در همین ارتباط در یک تحقیق زمانیکه تراکم (بیوماس) ماهی فیتوفاگ از ۳ به ۶ و ۹ قطعه در هر مترمکعب افزایش یافت، میزان سطح آلبومین به ترتیب از ۳/۰۸ به ۴/۹۱ و ۵/۵۴ گرم در دسی لیتر افزایش یافت که با یافته های تحقیق ما مغایرت داشت. در حالیکه در همان تحقیق میزان آلبومین ماهیان فیتوفاگ در تیمار دوم افزایش و در تیمار سوم کاهش نشان داد که با نتایج تحقیق ما همسو بود. همچنین اربکستل و همکاران (۲۰۱۰) در خصوص بکارگیری بیوماس مختلفی از ماهی باس (*Dicentrarchus labrax*) دریایی نتایج متفاوتی را در مقایسه با یافته های این تحقیق بدست آوردند.

در این پژوهش با افزایش بیوماس ذخیره سازی فیل ماهی، سطوح کورتیزول در طول دوره پرورش در تمامی تیمارها بطور معنی‌داری افزایش نشان نداد. حتی در تیمارهای با بیوماس ذخیره سازی ۳۷۵۰ و ۶۲۵۰ قطعه فیل ماهی در هر متر مکعب میزان کورتیزول پلاسمای خون بطور معنی‌داری کاهش داشت. یافته های ما در این تحقیق در مغایرت با نتایج تاثیر تراکم بر تغییرات کورتیزول در تاس‌ماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) (Wuertz et al., 2006) و مشابه نتایج به دست آمده در تاس ماهی آدریاتیک (*Acipenser naccarii*) (Cataldi et al., 2002) بود. همچنین مطالعه حسنعلی پور اربوسرا و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که با افزایش بیوماس تاس ماهی سیبری (وزن تقریبی ۶۰۷ گرم) در تراکم های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ قطعه ماهی در هر مترمکعب، میزان کورتیزول پلاسمای خون زمانیکه تراکم ماهی از ۴۸ به ۷۲ قطعه ماهی در هر متر مکعب افزایش یافت، به ترتیب از میزان ۱۲/۹۴ به ۱۰/۷۶ نانو گرم بر میلی لیتر کاهش یافت. این یافته ها نشان می دهد تاس ماهیان در تراکم ها و بیوماس های مختلف تاثیر پذیری های متفاوتی را از خود نشان می دهند که در این رابطه علاوه بر فاکتورهای محیطی گونه ماهی نیز بسیار حائز اهمیت است (Kamal and Omar, 2011). روال منطقی گزارش شده در مورد بیشتر ماهیان به این نحو است که هورمون کورتیزول از طریق افزایش فرآیند گلیکونوژنز سبب افزایش سطوح گلوکز پلاسما می شود تا نیاز به انرژی را جهت تأمین سوخت فرآیند های سلولی در زمان استرس تأمین کند (Mommsen et al., 1999)، خلاف این روال نیز در دیگر ماهیان گزارش شده است، به این معنی که گلوکز پلاسما بدون تغییر بوده (Bayunova et al., 2002) و یا حتی کاهش یافته است (Mommsen et al., 1999). در مغایرت با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، که افزایش بیوماس ذخیره سازی فیل ماهی موجب کاهش میزان قند خون گردید، کمال و عمر (۲۰۱۱) دریافتند که تراکم های ۳، ۶ و ۹ قطعه (با وزن متوسط ۱/۲ گرم) ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) انگشت قد در هر متر مکعب، تاثیر معنی‌داری را بر میزان سطوح گلوکز و کلسترول خون این ماهی گذاشت. بطوریکه میزان گلوکز خون از ۷۲/۹۰ mg/dl به ۱۰۲/۳۳ mg/dl به ترتیب از تیمار ۳ به تیمار ۹ قطعه ماهی در مترمکعب ارتقاء یافت. عموما سطح گلوکز پلاسمای خون ماهی به عنوان یک شاخص در برابر تاثیر استرس های محیطی و به عنوان پاسخی به تغییرات متابولیسم کربوهیدرات ها در تحت شرایط استرس می باشد (Kavitha et al., 2010). تینتوس و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که گلوکز پلاسما بطور معنی‌داری در شانک ماهی سر طلایی (*Sparus auratus*) بعد از یک دوره استرس کوتاه مدت و بلند مدت افزایش یافت. یکی از دلایل علمی در خصوص کاهش میزان قند خون که توسط

محققین ذکر می گردد این است که هر چند در استرس های ناشی از تراکم بالای ماهی در سیستم های پرورشی، گلوکز خون افزایش می یابد، ولی این وضعیت احتمالاً سبب افزایش فرآیند انرژی خواهی در ماهیان شده و در نتیجه باعث مصرف بیش از حد معمول گلوکز شده و افزایش گلوکز ناشی از تحریک کورتیزول را کاهش می دهد (Hasanalipour et al., 2013).

با توجه به یافته های بدست آمده در خصوص قند خون فیل ماهیان در تراکم های بالاتر، کاهش سطوح قند پلاسمای خون این ماهیان را احتمالا می توان به عنوان یک شاخص مبنی بر عدم استرس این ماهیان در تراکم های بالا در آنها قلمداد نمود. با اینحال اثبات دقیق این یافته مستلزم تحقیقات بیشتری در این مورد است.

فیرات و کارجین (۲۰۱۰) اظهار نمودند که پاسخ استرسی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) نسبت به عوامل استرس زا، به صورت افزایش در گلوکز، پروتئین تام، آلبومین و آنزیم های AST و ALT و کاهش کلسترول نمایان می گردد.

در تحقیق حاضر ابتدا آنزیم AST در تیمار ۱۲۵۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب به میزان ۳۷/۳۵ U/dl بوده که در دو تیمار بعدی کاهش یافته و در تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب افزایش یافته و به حداکثر میزان خود (۳۸/۹۵ U/dl) رسید. در حالیکه با افزایش بیوماس به ۶۲۵۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب مقدار AST مجددا کاهش یافت و به ۳۱/۳۰U/dl تنزل یافت. در صورتیکه در مطابقت با یافته های فیرات و کارجین (۲۰۱۰) که در ارتباط با افزایش بیوماس پرورشی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بدست آوردند، با افزایش بیوماس، آنزیم ALT افزایش یافت.

در این تحقیق میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز از در پائین ترین بیوماس (۱۲۵۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب) معادل ۸۳/۸۵U/dl بود و در بیوماس های بالاتر افزایش یافته و در تیمار با بیوماس ۵۰۰۰ گرم فیل ماهی در متر مکعب به ۹۱/۳۷ U/dl ارتقاء یافت. در تائید این یافته پالیکووا و همکاران (۲۰۱۰) تعیین کردند که افزایش مقادیر آلکالین فسفاتاز نشان دهنده ترشح ناقص صفرا بوده که ناشی از پایین بودن غذای خورده شده می باشد که ممکن است مرتبط با بالا بودن استرس در ماهی باشد و افزایش بیوماس می‌تواند یکی از عوامل استرس زا قلمداد گردد. در همین راستا کمال و عمر (۲۰۱۱) اثبات نمودند که میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در ماهیان انگشت قد فیتوفاگ با افزایش تراکم از ۳ به ۹ قطعه در متر مکعب از ۵۳/۳۲U/l به ۸۳/۷۶U/l افزایش یافت که این خود می‌تواند ناشی استرس تراکم باشد. تغییرات کم کمپلمان ۳ و عدم کاهش معنی دار این فاکتور ایمنی و افزایش معنی دار در کمپلمان ۴ را می‌توان نشانه‌ای از وضعیت بهتر ایمنی در فیل ماهیان جوان در بیوماس های ذخیره سازی بالاتر، قلمداد کرد که به عنوان یک شاخص سلامتی می تواند مطرح باشد. نتایج حاصل از این تحقیق تعیین نمود که فیل ماهیان جوان زمانیکه در بیوماس های ذخیره سازی مختلف پرورش داده می شوند، پاسخ های متفاوتی را نسبت به عامل افزایش وزن توده زنده از خود بروز می دهند. در یک نتیجه گیری کلی می‌توان بیان نمود که بیوماس های بالاتری از ذخیره سازی این ماهی در محیط های پرورشی، استرس کمتری را در مقایسه با دیگر ماهیان مورد مطالعه در این تحقیق، بر این ماهی داشته و احتمالا بایستی این مورد را به سازگاری مناسب این ماهی به عوامل استرس زا و از جمله به میزان تراکم ماهی نسبت داد و همچنین ممکن است شدت تاثیر گذاری به دلیل پایین بودن تراکم های بکار رفته، کمتر بوده باشد. جهت اثبات دقیق این موضوع بایستی تحقیقات علمی بیشتری صورت گیرد و همچنین دیگر پارامترهای ایمنی، همچنین میزان رشد و عملکرد تغذیه‌ای نیز بایستی مورد سنجش و بررسی قرار گیرد.

منابع

عالی محمودی، م.، صالحی پور باورصاد، س.، ۱۳۹۳. بررسی تاثیرتراکم های مختلف پرورش برغلظت کورتیزول، گلوکز و لاکتات، بچه ماهیان شیپ. اولین همایش آبزی پروری نوین - چالش ها و فرصت ها. گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۳۰مهر تا ۱ آبانماه. صفحات ۱ -۱۳.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280, 185-189.

Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative.Biology* 42, 517-525.

Bahmani, M. 1999. Survey on ecophysiological stress via HPI and HPG axis of immune system and reproductive process in Iranian sturgeon (*Acipenser pesicus*). Phd dissertation, 277p. (In Persian)

Bahmani, M., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Halajian, A., Mohseni, M., Dezhendian, S., Vahabi, I., Malekzadeh, R. and Mohammadi Porshkouhi, H. 2005. Modern biotechnic in artificial propagation of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) in Iran. *Iranian Journal of Fisheries* 14, 31-48. (In Persian)

Bayunova, L., Barannikova, I. and Semenkova, T. 2002. Sturgeon stress reaction in aquaculture. *Applied Ichthyology* 18, 397-404.

Berg, L.S. 1948. O. polozhenii Acipenseriformes v sisteme ryb. *Trudy Zoological Inistitute* 7, 5-75. In Russian.

Birstein V.J., Bemis W.E., Waldman J.R. 1997. The threatened status of acipenseriform species: a summary. *Environmental Biology of Fishes* 48, 427–435.

Biswas J.K., Sarkar D., Chakraborty P., Bhakta J.N., Jana B.B. 2006. Density dependent ambient ammonium as the key factor for optimization of stocking density of common carp in small holding tanks. *Aquaculture* 261, 952–959.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (Rhamdia quelen). *Fish Physiology and Biochemistry* 30, 21-25.

Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A. and Cataudella, S. 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon *(Acipenser naccarii)*: effects of temperature and stress. *Biochemistry Physiology* 121, 351-354.

Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M. and Gadd, D. 2002. The relationships between stoking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 61, 493-531.

Falahatkar B., Poursaeid S., Shakoorian M., Barton B. 2009. Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*. *Journal of Fish Biology* 75, 784-796.

F.A.O. 2010. Fish Stat Plus statistical database. 156p.

Firat, O. and Kargin, F. 2010. Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Arch. Environ. *Contamental Toxicology* 58, 151-157.

Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H., Li,Y. 2007.

African Journal of Biotechnology 4(6), 527-530.

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Review in Fish Biology* 9, 211-268.

North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J. and Bromage, N.R. 2006. The impact of stocking density on the welfare rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 255, 466-479.

Orbcastel, R. E., Lemarié, G., Breuil, G., Petochi, T., Marino, G., Triplet, S., Dutto, G., Fivelstad, S., Coeurdacier, J. and Blancheton, J. 2010. Effects of rearing density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) biological performance, blood parameters and disease resistance in a flow through system. *Aquatic Living Resource* 23, 109-117.

Palikova, M.; Kopp, R.; Mares, J., Navratil, S., Kubicek, Z., Chmelar, L., Bandouchova, H. and Pikula, J. (2010). Selected haematological and biochemical indices of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in the environment with cyanobacterial water bloom. *Acta Veterinaria. Brno*. 79, 63-71.

Rafatnezhad, S. and Falahatkar, B. 2011. Nitrogenous compounds and oxygen concentration as the key density dependent factors to optimize growth of Beluga, *Huso huso* (Actinopterygii: Acipenseriformes: Acipenseriae), in circular fiberglass tanks. *Acta Icthyologia Etpiscatoria* 41 (4), 285–291.

Rafatnezhad, S., Falahatkar B. and Gilani, M.H.T. 2008. Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: a comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology* 147, 1001-1008.

Hasanalipour, A.R., Eagderi, S., Bahmani, M. and Poorbagher, H. 2012. Cortisol-glucose level and growth changes in response to rearing density in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics* 1, 13-27.

Hasanalipour1, A.R., Eagderi, S., Bahmani, M. and Poorbagher, H. 2013. Effects of Stocking Density on Blood Cortisol, Glucose and Cholesterol Levels of Immature Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 13, 27-32.

Iguchi, K., Ogawa, K., Nagae, M. and Ito, F. 2003. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture* 220, 515-523.

Kamal, S. M. and Omar, W. A. 2011. Effect of Different Stocking Densities on Hematological and Biochemical Parameters of Silver Carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Fingerlings. *Life Science Journal* 8, 580-586.

Kavitha, C.; Malarvizhi, A.; Kumaran, S.S. and Ramesh, M.2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food Chemical Toxicology* 48, 2848-2854.

Kori-Siakpere, O.; Ake, J.E.G. and Idoge, E. (2005). Haematological characteristics of the African snakehead, *Parachanna obscura*.

great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research* 39, 1506-1513.

Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z.M., Westerfield, M., Kent, M.L. and Schreck, C.B. 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, (*Danio rerio)*. *Aquaculture* 258, 565-574.

Tintos, A., Miguez, J.M., Mancera, J.M. and Soengas, J.L. 2006. Development of a microtitre plate indirect ELISA for measuring cortisol in teleosts and evaluation of stress responses in rainbow trout and gilthead sea bream. *J. Fish Biology* 68, 251-263.

Vlasenko A.D. 1994. Sturgeon status in the Caspian Sea. The International Conference on Sturgeon Biodiversity and Conservation. 28–30 July 1994, New York, NY, USA. Zoological Institute. 7: 7-75. (In Russia)

Wuertz, S., Lutz, I., Gessner, J., Loeschau, P., Hogans, B., Kirschbaum, F. and Kloas, W. 2006. The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Journal of Applied Ichthyology* 22, 269-273.

Yousif, O.M. 2002. The effects of stocking density, water exchange rate, feeding frequency and grading on size hierarchy development in juvenile Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*) *Journal of Agriculture Science* 14, 45-53.

Study of biochemical indicators of Beluga (*Huso huso*) juveniles with different stocking biomass

Samira Jafaryan[1], Hojatollah Jafaryan*[2], Normohammad Makhtomi[3]

1. Msc. Studen of fishery, Chabahar Maritime and Marin University, Faculty of Marin science

2. Gonbad Kavoos University, Faculty of Agriculture and Natural resources, Department of fishery

3. Sturgeon center of Marjani

*Corresponding author : Hojat.jafaryan@gmail.com

Received:2016/3/16 Accepted:2017/1/8

Abstract

The impact of rearing Beluga (*Huso huso*) juvenile under five different stocking biomass was investigated depending on the biochemical parameters as indicators of general health state of fish. One-year old Beluga juvenile (48.59±8.52 g) were reared for 35 days. The present study was conducted in a completely randomized design. Fish were cultured in triplicates of fiberglass tanks under stocking biomass of 1250, 2500, 3750, 5000 and 6250 g/m^3 as T1, T2, T3, T4 and T5 increasing the stocking biomass caused respectively. Blood plasma biochemical analyses showed that significant increase for value of alanine aminotransferase (ALT) and maximum of ALT was obtained in T5 (stoking of 6250 g/m^3). Different stocking levels of Beluga juveniles had variety effects in value of aspartate aminitransferase (AST) and this enzyme decreased in T2, T3 and T5 but increased in T4. ($p>0.05$). Value of alkaline phosphatase (ALP) showed non-significant difference among treatment Variety in stocking levels of fish had significant effects on values of complement (C4) and this parameter was significantly increased in treatment of T2, T3, T4 and T5 in comparison with T1 (stoking of 1250 g/m^3) ($p<0.05$). The value of immunoglobulin M (IgM) decreased with increasing biomass levels in treatments. The lowest level of IgM (0. 24 g/l) were observed in treatment of T4 In some of treatments changing the stocking biomass had significant effect on (stoking of 5000 g/m^3). values of cholesterol, triglyceride and albumin ($p<0.05$). Maximum of cholesterol (90/50 mg/dl) and triglyceride (467/50 mg/dl) was obtained in T1. Blood plasma biochemical analyses showed that increasing the stocking biomass of Beluga juvenile caused increase in values of plasma protein in treatments of T2, T3 and T4 in comparison with T1 and T5. The minimum of this parameter (1/90 g/dl) was detected in T5 (stoking of 6250 g/m^3). This study highlighted that the different biomass of Beluga juvenile in rearing tanks had different effects on blood biochemical parameters in this fish.

Keywords: Beluga, stocking biomass, alkaline phosphatase, aspartate aminitransferase, immunoglobulin M