



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره دوم، تابستان ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## بررسی اثرات شوری بر بازماندگی، رشد، شاخص‌های خونی و بافت‌شناسی

### آبش‌های هامون ماهی (*Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897)

محسن شهریاری مقدم<sup>۱\*</sup>، احسان احمدی فر<sup>۲</sup>، محمد شیخ اسدی<sup>۳</sup>،

حسین ابراهیمی جرجانی<sup>۳</sup>، رضا فدایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

<sup>۲</sup>استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

<sup>۳</sup>دانشجوی کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۴/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲

#### چکیده

شوری از عوامل محیطی مهم و تأثیرگذار بر ماهیان بوده و برای بررسی تأثیر جوانب مختلف افزایش شوری محیط، تعیین میزان بیشینه تحمل ماهی به شوری مهم است. در مطالعه حاضر میزان تحمل شوری بچه‌ماهیان هامون ماهی (*S. zarudnyi*) در شرایط آزمایشگاهی به روش انتقال مستقیم و تدریجی به شوری‌های بالاتر (۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۲۰ g/L) مطالعه شد. همچنین رفتار، تغییرات هیستوپاتولوژی بافت آبشش و سلول‌های کلراید در ماهی‌ها مطالعه شد. در ادامه، ماهی‌ها در شوری ۱۰ g/L به مدت ۲۰ روز پرورش داده شدند و در پایان دوره پرورش میزان رشد و شاخص‌های خونی نمونه‌ها سنجش شد. میزان غلظت نیمه‌کشنده (LC<sub>50</sub>) نمک خوراکی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته به ترتیب ۱۱/۴۴ g/L، ۱۰/۷۲ g/L، ۱۰/۵۲ g/L و ۱۰/۵۲ g/L تعیین شد. انتقال تدریجی ماهیان به شوری‌های بالاتر منجر به افزایش تحمل شوری بچه‌ماهیان به میزان ۱۳ g/L شد. بیش‌ترین تغییر مشاهده شده در بافت آبشش شامل جداسازی اپی‌تلیوم (۶۵٪) و کم‌ترین تغییر مشاهده شده نکروز (۱۴٪) بود. همچنین تعداد سلول‌های کلراید پس از فرارگیری بچه‌ماهیان در غلظت LC<sub>50</sub> به میزان ۱۶٪ بیشتر شد. تغییر معنی‌دار در میزان رشد، پروتئین کل، AST و ALP و کورتیزول در ماهیان پرورش یافته در آب شیرین و شور مشاهده نشد، در حالی که میزان گلوکز و تری‌گلیسرید اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان‌دهنده امکان پرورش هامون ماهی در شوری ۱۰ g/L می‌باشد، اما با توجه به رشد کم این ماهی در دوره پرورش (در آب شور و شیرین) نیاز به مطالعات تکمیلی برای پرورش این ماهی است. واژه‌های کلیدی: *S. zarudnyi*، بافت‌شناسی، شوری، شاخص‌های خونی، سلول کلراید، کورتیزول

\*نویسنده مسئول: [mohsen.mshahriari@gmail.com](mailto:mohsen.mshahriari@gmail.com)

## مقدمه

هامون ماهی (*S. zarudnyi*) از ماهی‌های بومی دریاچه هامون در ایران و رودخانه هلمند در افغانستان است. این ماهی دارای نرخ تولید مثل بالا و در شرایط اسارت سازگاری مناسبی را نشان می‌دهد. همچنین هامون ماهی در بازار دارای قیمت بالایی بوده و بازار پسندی مناسبی دارد. این ویژگی‌ها این ماهی را به‌عنوان یک گزینه مناسب جهت توسعه تکثیر و پرورش آن معرفی می‌نماید (Shahriari Moghadam *et al.*, 2014)

شوری از عوامل محیطی مهم و تأثیرگذار بر ماهیان است. در گونه‌های مختلف ماهیان تفریح تخم‌ها، جذب کیسه‌زده، رشد لاروها و کنترل رشد ماهیان وابسته به شوری محیط است (Boeuf and Payan, 2001). برای بررسی جوانب مختلف افزایش شوری، تعیین میزان بیشینه تحمل ارگانسیم‌ها به شوری مهم است. تعیین میزان تحمل شوری یک گونه در شرایط آزمایشگاهی ارتباط بین تغییر شوری و میزان مرگ و میر می‌باشد. معمول‌ترین روش اندازه‌گیری تحمل شوری تعیین غلظت کشنده پنجاه درصد ( $LC_{50}$ ) می‌باشد. تعیین میزان  $LC_{50}$  برای ماهی‌ها به روش‌های مختلفی انجام می‌گیرد. ۱: انتقال مستقیم ماهی‌ها از محیط کنترل به شوری مورد نظر (روش انتقال مستقیم)، ۲: انتقال ماهیان به شوری به صورت تدریجی (در طول دوره زمانی)، ۳: انتقال مستقیم ارگانسیم مورد مطالعه در مراحل اولیه زندگی آن از محیط کنترل به شوری‌های مورد نظر، به این روش  $LC_{50}$  اولیه گفته می‌شود (Kefford *et al.*, 2004).

آبشش یکی از مهم‌ترین اندام‌ها برای تنظیم اسمزی در ماهیان است. آبشش به‌دلیل تماس مستقیم و دائمی با محیط آبی نسبت به استرس‌های محیطی حساس است. در نتیجه تغییرات هیستوپاتولوژیک صورت گرفته در آبشش می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر در ارزیابی اثرات شوری بر ماهی استفاده شود (DiMaggio *et al.*, 2009). در اپی‌تلیوم آبشش سلول‌های کلراید (سلول‌های غنی از میتوکندری) مهم‌ترین سلول‌ها برای تبادلات یونی می‌باشد و با تغییر شوری محیط ساختار این سلول‌ها دچار تغییر می‌شود (Shahriari Moghadam *et al.*, 2013). با توجه به آنکه ماهیان در تماس مستقیم با محیط آبی پیرامون خود می‌باشند، تغییر در پارامترهای آب از قبیل شوری بر آن‌ها اثر می‌گذارد. ایجاد تغییرات فیزیولوژی در ماهیان پاسخی به تغییرات ایجاد شده در محیط زندگی ماهیان است. حفظ اسمولاریته در مواجهه با تغییرات شوری محیط به سازگاری‌های مختلفی نیاز دارد (Kijewska *et al.*, 2016).  
سنجش پارامترهای خونی به‌عنوان یک روش کارآمد و حساس برای مطالعه شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک ماهیان است (Hossain *et al.*, 2017). لذا آگاهی از وضعیت خونی ماهیان و به‌خصوص شناخت اثر محیط‌هایی با شرایط جدید پرورشی بر شاخص‌های خونی می‌تواند در پیشبرد برنامه‌های تکثیر، نگهداری و پرورش این ماهیان مؤثر باشد.

تاکنون مطالعاتی در مورد بررسی تکامل لاروی (Shahriari Moghadam *et al.*, 2014, Abtahi *et al.*, 2014), تکثیر مصنوعی (Rahdari *et al.*, 2014), مطالعات کاربولوژیک (Hosseinie and Kalbasi, 2014), بررسی کیفیت گوشت (Zakipour Rahim Abadi *et al.*, 2009) روی *Schizothorax zarudnyi* انجام شده است. در تمامی مطالعات صورت گرفته در شرایط آب شیرین صورت گرفته و اطلاعاتی در زمینه شرایط سازگاری و بقای این گونه در آب شور وجود ندارد.

در منطقه سیستان با توجه به بالابودن سطح آب‌های زیرزمینی، حفر چاهک برای مصارف کشاورزی امری معمول است. نکته حائز اهمیت آن است که در بسیاری از مناطق آب چاهک‌ها شور بوده و برای کشاورزی قابل استفاده نمی‌باشد. ارائه راهکارهای نوین جهت استفاده از آب این چاهک‌ها می‌تواند در بهبود وضعیت اقتصادی مردم منطقه راهگشا باشد. با توجه به آنکه دانشی در زمینه سازگاری‌های ایجاد شده در هامون‌ماهی در مواجهه با تغییرات شوری وجود ندارد، هدف از مطالعه حاضر مطالعه تأثیر شوری‌های مختلف به صورت تدریجی و ناگهانی بر میزان ماندگاری بچه‌ماهیان هامون‌ماهی و تعیین  $LC_{50}$  شوری می‌باشد. جهت ارزیابی سلامت ماهیان قرار گرفته در شوری‌های مختلف بافت آبشش آنها مطالعه شده است. همچنین میزان رشد و تغییرات ایجاد شده در شاخص‌های بیوشیمیایی خونی ماهیان قرار گرفته در آب شور و آب شیرین بررسی شده است.

## مواد و روش‌ها

**انجام آزمایش  $LC_{50}$  تحمل شوری:** بچه‌ماهیان هامون‌ماهی با طول استاندارد  $9/5 \pm 0/33$  سانتی‌متر و وزن کل  $9/3 \pm 0/63$  گرم از مرکز پرورش ماهیان گرمابی در زهک در آذر ماه ۱۳۹۴ تهیه و به دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل منتقل و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز سازگار شدند. در طول دوره سازگاری بچه‌ماهیان با غذای تجاری EXF1 (۴۲٪ پروتئین، ۱۵٪ چربی، ۲/۵٪ فیبر، ۱۰ درصد رطوبت) ساخت شرکت کیمیاگران (ایران، شهرکرد) تغذیه، غذادهی شدند. آزمایش  $LC_{50}$  براساس دستورالعمل (APHA, 1998) و به صورت ساکن در مدت ۹۶ ساعت انجام شد.

۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش تغذیه بچه ماهیان قطع و در طول دوره آزمایش جهت جلوگیری از آلوده شدن آب غذادهی انجام نشد. به منظور تعیین  $LC_{50}$  ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته (تغییر ناگهانی شوری) بچه‌ماهی‌ها (۱۲ عدد) به طور مستقیم از آب شیرین به تانک‌های ۵۰ لیتری حاوی آب با شوری‌های  $0 \text{ g/L}$ ،  $2/5 \text{ g/L}$ ،  $5 \text{ g/L}$ ،  $10 \text{ g/L}$ ،  $11 \text{ g/L}$ ،  $12 \text{ g/L}$ ،  $13 \text{ g/L}$ ،  $14 \text{ g/L}$ ،  $15 \text{ g/L}$  و  $20 \text{ g/L}$  منتقل شدند. برای هر شوری سه تکرار در نظر گرفته شد. برای افزایش میزان شوری از NaCl خوراکی استفاده شد. در طول دوره آزمایش تانک‌ها به صورت مداوم اکسیژن‌دهی و میزان اکسیژن محلول در حدود اشباع و دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. در طول دوره آزمایش رفتار بچه‌ماهیان مشاهده و

تلفات ثبت شد. بچه‌ماهیان تلف شده به‌منظور جلوگیری از کاهش کیفیت آب بلافاصله پس از مرگ برداشته شدند. در تمامی تیمارها رفتار بچه ماهی‌ها در ساعات اولیه به‌صورت دائمی و سپس هر ساعت یک بار بررسی و میزان مرگ و میر ثبت شد. میزان  $LC_{50}$  شوری با درجه اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از آنالیز رگرسیون پروبیت (Finney, 2009) محاسبه شد. پس از انجام آزمایش و آنالیز داده‌ها درصد مرگ و میر (Percentage of mortality)، احتمال مشاهده مرگ و میر (Probability)، تعداد مرگ و میر مشاهده (Observed response) و میزان مرگ و میر مورد انتظار (Expected response) محاسبه شد.

**سازگاری بچه‌ماهیان هامون ماهی به شوری بالا به‌صورت تدریجی:** برای سازگاری بچه‌ماهیان به شوری‌های بالا، بچه‌ماهیان پس از انتقال به آزمایشگاه به‌مدت یک هفته در آب شیرین در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سازگاری انجام شد. در طول دوره نگهداری بچه‌ماهیان با غذای تجاری EXF1 تغذیه شدند. به‌منظور سازگاری بچه‌ماهی‌ها از شوری‌های ۲/۵ g/L، ۵ g/L، ۱۰ g/L، ۱۱ g/L، ۱۲ g/L، ۱۳ g/L، ۱۴ g/L استفاده شد. بچه‌ماهیان پس از انتقال به هر تیمار به‌مدت ۵ روز در آن نگهداری و سپس به تیماری با شوری بالاتر منتقل شدند و در هر تیمار میزان مرگ و میر ثبت گردید.

**مطالعه رشد بچه‌ماهیان:** تعداد ۱۲ عدد بچه‌ماهی به تانک‌های ۵۰ لیتری حاوی آب شیرین و آب با شوری ۱۰ g/L (این شوری به این دلیل انتخاب شد که حداکثر غلظتی است که در پی انتقال مستقیم بچه‌ماهیان به آن، مرگ و میر کمی روی داد) منتقل شدند. آزمایش در سه تکرار انجام شد. در طول دوره پرورش تانک‌ها به‌صورت مداوم هوادهی و دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و بچه‌ماهیان به میزان ۳ درصد وزن بدن ۴ مرتبه در روز غذادهی شدند. در پایان دوره پرورش بچه‌ماهیان بیومتری و خون‌گیری شدند. درصد افزایش وزن (BW%) از طریق رابطه  $BW\% = (W_f - W_i) / W_i \times 100$  محاسبه شد. در این رابطه  $W_f$  و  $W_i$  به‌ترتیب میزان وزن متوسط وزن بچه‌ماهیان در ابتدا و پایان دوره پرورش است. هم‌چنین میزان رشد ویژه ( $S.G.R \%day^{-1}$ ) براساس رابطه  $(Ln W_f - Ln W_i) / \Delta t \times 100$  محاسبه شد. در این رابطه  $\Delta t$  زمان بین دو اندازه‌گیری بین  $W_f$  و  $W_i$  است.

**آنالیز پلاسمای خون:** در پایان دوره آزمایش عمل خون‌گیری از طریق قطع ساقه دمی انجام شد. نمونه‌های خون در ۳۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و تا زمان سنجش در دمای ۷۰- نگهداری شد. سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون (گلوکز، تری‌گلیسرید، میزان پروتئین کل) با استفاده از Selectra Prom biochemistry analyzer device ساخت کشور هلند انجام شد. میزان کورتیزول پلازما به روش الایزا با استفاده از کیت Cortisol<sup>®</sup> LIAISON با روش CLIA با استفاده از دستگاه الایزا Hiperion مدل MPR40 ساخت کشور آلمان انجام گرفت. اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی شامل آلکالین فسفاتاز (ALP) به‌وسیله کیت‌های تشخیصی (پارس آزمون)

ساخت کشور ایران و اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) با استفاده از کیت Sigma-Aldrich ساخت کشور امریکا به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Burtis *et al.*, 2012)

**مطالعات بافت‌شناسی:** ماهیان زنده مانده در شوری  $LC_{50}$  ۹۶ ساعته و همچنین ماهیان پرورش یافته در آب شیرین (به‌عنوان شاهد) در عصاره گل میخک بیهوش شدند. سپس اولین کمان آبششی سمت چپ جدا و در محلول بوئن فیکس شد. نمونه‌ها بعد از ثابت شدن به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن، به اتانول ۷۰٪ منتقل شدند. مراحل آنگیری به‌ترتیب با استفاده از الکل‌های ۹۰٪، ۹۵٪، ۱۰۰٪ و در نهایت با الکل بوتیلیک (۱۲ ساعت) انجام گردید. مراحل شفاف‌سازی نمونه‌ها با استفاده از تولوئن انجام شد. نمونه‌ها بعد از ۹ ساعت نگهداری در داخل پارافین مایع (در داخل اون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) در داخل پارافین قالب‌گیری شدند. سپس از نمونه‌ها مقاطع ۴ میکرونی با استفاده از میکروتوم تهیه شد. برش‌های تهیه شده با رنگ‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. ۶ برش از هر آبشش تهیه و توسط میکروسکوپ (Nikon E600) مطالعه و عکسبرداری شدند. مطالعه تغییرات بافت‌شناسی براساس مطالعه انجام شده توسط (Nascimento *et al.*, 2012) صورت گرفت. تغییرات بافت آبشش مشاهده در آبشش هامون ماهی شامل جداشدگی اپی‌تلیوم (Epithelial Lifting)، اتصال لاملاها (Lamellar Fusion)، جمع‌شدن خون در لاملاها (Congestion Lamellae Blood) و نکروز (Necrosis) مطالعه شد. درصد مشاهد هر تغییر در آبشش هر ماهی توسط تقسیم تعداد ماهی‌های دارای عارضه مشخص بر کل تعداد ماهیان مطالعه شده محاسبه شد. همچنین بررسی افزایش تعداد و اندازه سلول‌های اپیتلیومی به‌صورت کیفی مطالعه شد. برای مطالعه سلول‌های کلراید ۵ برش بافتی از هر ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و در آن ۳ فیلامنت به‌صورت تصادفی انتخاب و سلول‌های کلراید در چهار فضای بین لاملایی پیاپی شمارش شد (Shahriari Moghadam *et al.*, 2013).

**آنالیزهای آماری:** برای مقایسه میزان معنی‌داری شاخص‌های رشد و آنالیزهای خونی انجام شده از تجزیه واریانس یکطرفه و برای تعیین میزان  $LC_{50}$  شوری از Probit regression استفاده شد. تمامی آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 انجام شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel-2016 استفاده شد.

## نتایج

**تحمل شوری بچه ماهیان هامون ماهی - آزمایش  $LC_{50}$ :** بچه‌ماهیان قرار گرفته در آب شیرین شنای نرمال و فاقد نشانه‌های غیرطبیعی بودند. در تیمارهای بالای شوری (بیشتر از ۱۰ g/L) در ساعات اولیه آزمایش شنای عصبی و بی‌نظم، شنای عمودی و تنفس شدید از رفتارهای شاخص ماهیان بود. در

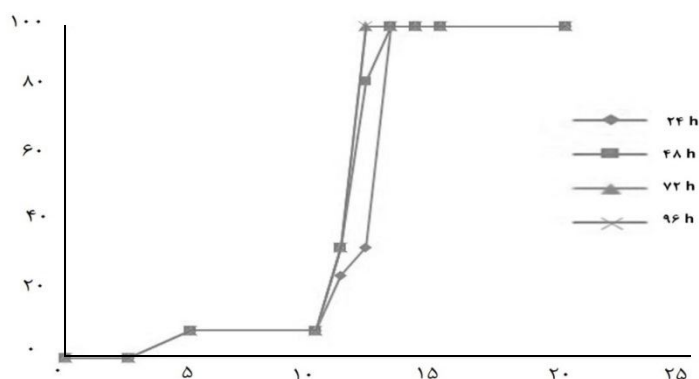
مطالعه حاضر بیشترین میزان مرگ و میر در ساعات اولیه آزمایش ثبت شد. نتایج آنالیز  $LC_{50}$  در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد مرگ و میر ناگهانی و بالا در شوری‌های بالای  $10 \text{ g/L}$  روی می‌دهد و در شوری بالاتر از  $10 \text{ g/L}$  تمامی ماهیان در ساعات اولیه تلف شدند (شکل ۱). میزان  $LC_{50}$  ۲۴ ساعته،  $11/44$ ،  $48$  ساعته  $10/72$  و  $72$  و  $96$  ساعته  $10/52 \text{ g/L}$  محاسبه شد.

جدول ۱- آزمایش تعیین غلظت نیمه کشنده شوری ( $LC_{50}$ ) در بچه‌ماهیان هامون‌ماهی (*S. zarudnyi*) (۲۴ و ۴۸ ساعته). درصد مرگ و میر (PMR)، احتمال روی دادن مرگ و میر (Probability)، پاسخ مشاهده شده (OR)، پاسخ مورد انتظار (ER).

P	ER	OR	PMR	P	ER	OR	PMR	شوری %
۴۸ h	۴۸ h	۴۸ h	۴۸ h	۲۴ h	۲۴h	۲۴ h	۲۴ h	
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۱
۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۲/۵
۰/۰۰۲	۰/۰۷۰	۳	۸/۳۳	۰/۰۰۱	۰/۰۳۸	۳	۸/۳۳	۵
۰/۳۵۷	۱۲/۸۵۷	۳	۸/۳۳	۰/۲۴۵	۸/۸۳	۳	۸/۳۳	۱۰
۰/۵۵۵	۱۹/۹۸۲	۱۲	۳۳/۳۳	۰/۴۱۶	۱۴/۹۸	۹	۲۵/۰۰	۱۱
۰/۷۴۰	۲۶/۶۳۶	۳۰	۸۳/۳۳	۰/۶۰۵	۲۱/۷۷	۱۲	۳۳/۳۳	۱۲
۰/۸۷۴	۳۱/۴۸۰	۳۶	۱۰۰	۰/۷۷۱	۲۷/۷۷	۳۶	۱۰۰	۱۳
۰/۹۵۱	۳۴/۲۲۷	۳۶	۱۰۰	۰/۸۸۹	۳۲/۰۰	۳۶	۱۰۰	۱۴
۰/۹۸۴	۳۵/۴۴۱	۳۶	۱۰۰	۰/۹۵۵	۳۴/۳۹	۳۶	۱۰۰	۱۵
۱/۰۰۰	۳۶/۰۰۰	۳۶	۱۰۰	۱/۰۰۰	۳۵/۹۹	۳۶	۱۰۰	۲۰

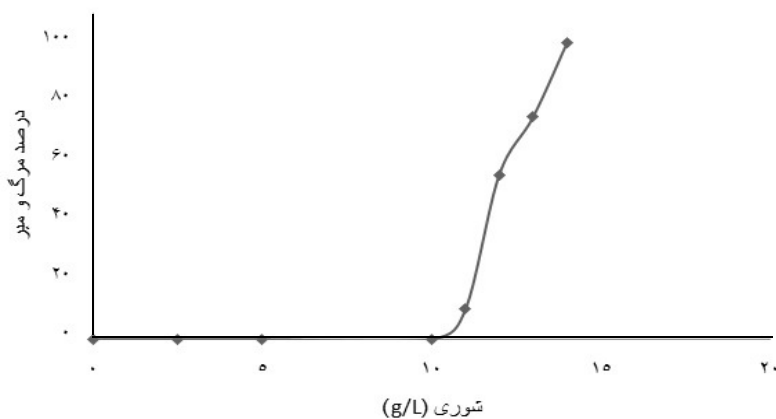
جدول ۲- آزمایش تعیین غلظت نیمه کشنده شوری ( $LC_{50}$ ) در بچه‌ماهیان هامون‌ماهی (*S. zarudnyi*) (۷۲ و ۹۶ ساعته). درصد مرگ و میر (PMR)، احتمال روی دادن مرگ و میر (P)، پاسخ مشاهده شده (OR)، پاسخ مورد انتظار (ER).

P	ER	OR	PMR	P	ER	OR	PMR	شوری %
۹۶ h	۹۶ h	۹۶ h	۹۶ h	۷۲ h	۷۲h	۷۲ h	۷۲h	
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۱
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰	۰/۰۰	۲/۵
۰/۰۰۲	۰/۰۶۳	۳	۸/۳۳	۰/۰۰۲	۰/۰۶۳	۳	۸/۳۳	۵
۰/۳۹۱	۱۴/۰۸۱	۳	۸/۳۳	۰/۳۹۱	۱۴/۰۸۱	۳	۸/۳۳	۱۰
۰/۶۰۰	۲۱/۵۸۷	۱۲	۳۳/۳۳	۰/۶۰۰	۲۱/۵۸۷	۱۲	۳۳/۳۳	۱۱
۰/۷۸۳	۲۸/۱۷۶	۳۶	۱۰۰	۰/۷۸۳	۲۸/۱۷۶	۳۶	۱۰۰	۱۲
۰/۹۰۵	۳۲/۵۷۷	۳۶	۱۰۰	۰/۹۰۵	۳۲/۵۷۷	۳۶	۱۰۰	۱۳
۰/۹۶۷	۳۴/۸۱۳	۳۶	۱۰۰	۰/۹۶۷	۳۴/۸۱۳	۳۶	۱۰۰	۱۴
۰/۹۹۱	۳۵/۶۷۸	۳۶	۱۰۰	۰/۹۹۱	۳۵/۶۷۸	۳۶	۱۰۰	۱۵
۱/۰۰۰	۳۶/۰۰۰	۳۶	۱۰۰	۱/۰۰۰	۳۶/۰۰۰	۳۶	۱۰۰	۲۰



شکل ۱- درصد مرگ و میر بچه‌ماهیان هامون‌ماهی (*S. zarudnyi*) در آزمایش  $LC_{50}$  (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعته)

سازگاری تدریجی بچه‌ماهیان هامون‌ماهی: نتایج نشان داد سازگاری تدریجی بچه‌ماهیان از آب شیرین به آب شور (۲/۵ g/L، ۵ g/L، ۱۰ g/L، ۱۱ g/L، ۱۲ g/L، ۱۳ g/L، ۱۴ g/L) منجر به افزایش میزان تحمل شوری بچه‌ماهیان تا ۱۳ g/L می‌شود. اما در شوریه‌های بالاتر تمامی بچه‌ماهیان در ساعت اولیه پس از انتقال تلف شدند (شکل ۲).



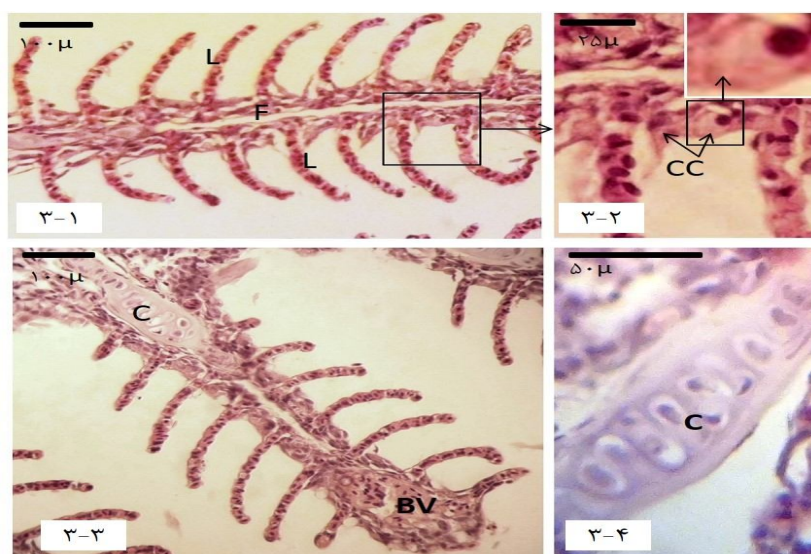
شکل ۲- درصد مرگ و میر بچه‌ماهیان هامون‌ماهی (*S. zarudnyi*) طی سازگاری تدریجی

میزان رشد: در پایان دوره آزمایش درصد افزایش وزن گرفته شده ماهیان (BWI%) در آب شیرین ۷/۷۵ گرم و در آب شور ۷/۵۰ محاسبه شد. همچنین میزان رشد ویژه ( $SGR \%day^{-1}$ ) در ماهیان رشد یافته در آب شیرین ۰/۳۷ و آب شور ۰/۳۶ محاسبه شد.

سنجش پارامترهای خونی: تغییرات معنی‌داری در میزان پروتئین کل، AST و ALP و کورتیزول در ماهیان سازگار شده در آب شیرین و شور دیده نشد ( $p \geq 0/05$ )، در حالی که میزان گلوکز و تری‌گلیسرید در ماهیان سازگار شده در آب شور و شیرین اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). میزان این فاکتورها در آب شیرین نسبت به آب شور بیشتر بود (جدول ۳).

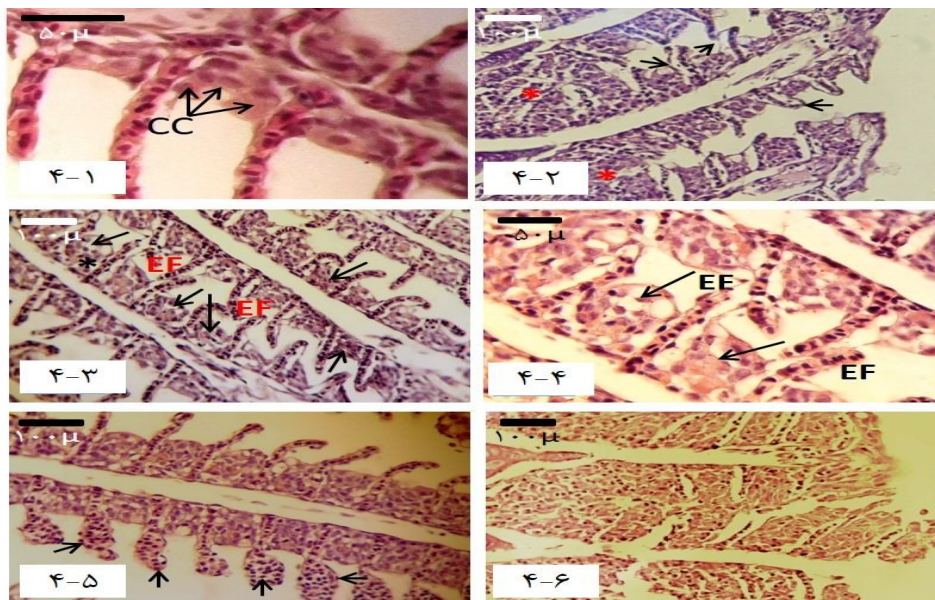
جدول ۳- سنجش پارامترهای خونی در بچه ماهیان هامون ماهی (*S. zarudnyi*) سازگار شده در آب شیرین و آب شور (۱۰ g/L)

P value	F	آب شیرین	آب شور (۱۰ g/L)	
۰/۰۰	۳۲/۳	۷۰/۰۰±۸/۶۶	۳۹/۳۳±۳/۵۱	گلوکز (mg/dL)
۰/۰۴	۸/۰۳	۳۰۰/۰۰±۵۱/۹۶	۲۰۳/۰۰±۲۸/۵۱	تری‌گلیسرید (mg/dL)
۰/۱۴	۳/۳	۳/۸۳±۰/۳۰	۳/۳۴±۰/۳۶	پروتئین کل (g/dL)
۰/۱۸	۲/۶۲	۱۶۲/۰۰±۲۰/۵۲	۱۹۰/۴۷±۲۲/۴۷	AST (IU/L)
۰/۴۴	۰/۷۰	۲۰/۸۰±۳/۳۰	۲۶/۶۰±۱۱/۵۳	ALP (IU/L)
۰/۰۶	۷/۲۷	۶/۱۰±۰/۱۰	۵/۴۳±۰/۴۲	کورتیزول (μ/dL)



شکل ۳- تصاویر بافت‌شناسی کلاسیک (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین) از ساختار بافت آبشش بچه ماهیان هامون- ماهی (*S. zarudnyi*) سازگار شده در آب شیرین. شکل ۳-۱ ساختار یک فیلامنت آبششی، بافت آبشش دارای ساختار طبیعی و فاقد آسیب‌های بافت آبشش مشخصی است. رشته آبششی (F) و لاملاها (L) مشاهده می‌شود. شکل ۳-۲ سلول‌های کلراید (CC) در فضای بین لاملائی مشاهده می‌شود. شکل ۳-۳ نمایی از یک رشته آبششی، غضروف رشته آبششی (C) و رگ خونی (BV). شکل ۳-۴ بافت غضروفی رشته آبشش با بزرگنمایی بالاتر.

**تغییرات ایجادشده در بافت آبشش:** ماهیان خوگرفته به آب شیرین دارای ساختار بافت آبشش طبیعی و فاقد ضایعات آبششی مشخصی بودند. رشته‌ها و تیغه‌های آبششی (شکل ۳-۱)، سلول‌هایی کلراید (شکل ۳-۲)، غضروف رشته آبششی و رگ‌های خونی مشاهده شدند (شکل‌های ۳-۳ و ۳-۴). نتایج نشان داد که سلول‌های کلراید در هامون‌ماهی در فضای پایه‌ای بین لاملایی قرار دارند. پس از قرارگیری بچه‌ماهیان در شوری، تعداد سلول‌های کلراید به میزان ۱۶٪ بیشتر شد (شکل ۴-۱). تغییرات هیستوپاتولوژی مشاهده شامل جداشدگی اپی‌تلیوم (۶۵٪) (شکل ۴-۲)، اتصال لاملاها بهم (۵۴٪) (شکل‌های ۴-۳ و ۴-۴)، جمع شدن خون در لاملاها (۲۶٪) (شکل ۴-۵) و نکروز (۱۴٪) (شکل ۴-۶) بود. همچنین افزایش اندازه و تعداد سلول‌های اپیتلیومی در ماهیان قرار گرفته در شوری مشاهده شد (شکل‌های ۴-۲، ۴-۳ و ۴-۴).



شکل ۴- تصاویر بافت‌شناسی کلاسیک (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین) از ساختار بافت آبشش بچه‌ماهیان هامون‌ماهی (*S. gairdneri*) قرارگرفته در آب شور در غلظت  $LC_{50}$  ۹۶ ساعت. شکل ۴-۱- سلول‌های کلراید (CC) در فضای بین‌لاملایی مشاهده می‌شود. ۴-۲- افزایش تعداد و اندازه سلول‌های اپی‌تلیومی در پایه رشته‌های آبشش (\*) و جدا شدن اپی‌تلیوم لاملایی (فلش‌ها) مشاهده می‌شود. ۴-۳- چند رشته آبششی، به هم چسبیدگی لاملاها (EF) و افزایش اندازه سلول‌های اپیتلیومی (فلش‌ها) مشاهده می‌شود. ۴-۴- نمایی با درشت نمایی بالاتر از بهم چسبیدگی لاملاها (EF) و افزایش اندازه سلول‌های اپیتلیومی (فلش‌ها). ۴-۵- شکل یک رشته آبششی، جمع شدن خون در لاملاها (فلش‌ها) مشاهده می‌شود. ۴-۶- نکروز بافت آبشش در بچه‌ماهیان مطالعه شده.

## بحث و نتیجه‌گیری

گونه‌های متعلق به جنس شیزوتراکس به‌طور کلی در آب‌های شیرین زندگی می‌کند، اگر چه برخی از آن‌ها (*Schizothorax pseudoaksaensis*) در آب‌های شور نیز پراکنش دارند (Hammer, 1986). میزان تحمل شوری در گونه‌های مختلف کپور ماهیان تفاوت‌های زیادی (۸/۴ g/L و ۱۷/۲ g/L) نشان می‌دهد (Bianco and Nordlie, 2008). در مطالعه حاضر نیز میزان تحمل شوری (انتقال مستقیم به آب شور) ۲۴ LC<sub>50</sub> g/L، ۱۱/۴۴ g/L، ۴۸ LC<sub>50</sub> g/L و ۱۰/۷۲ LC<sub>50</sub> و ۹۶ ساعت g/L به‌دست آمد که در محدوده تحمل شوری گزارش شده برای کپورماهیان است. در مطالعه حاضر میزان تحمل شوری هامون‌ماهی نسبت به گونه‌های *Carassus auratus*، *Cyprinus carpio* و *Hypophthalmichthys molitrix* کمتر و نسبت به گونه‌های *Hypophthalmichthys nobilis* بیشتر است (McCormick et al., 2013). تمامی خانواده‌های ماهیان آب شیرین بر اساس توانایی آنها در وارد شدن به آب دریا به گروه‌های متفاوت تقسیم بندی می‌شوند. جنس *Schizothorax* متعلق به خانواده کپورماهیان، در گروه ماهیان استنووهایلین قرار می‌گیرد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد سازگاری تدریجی بچه‌ماهیان موجب افزایش تحمل شوری به میزان ۱۳ g/L می‌شود. نتایج دیگر محققین نیز نشان داده است افزایش تدریجی شوری محیط اطراف ماهیان موجب افزایش ماندگاری و بقای بیشتر ماهیان می‌شود (Hotos and Vlahos, 1998). به‌طور کلی با افزایش میزان شوری محیط، نرخ بقا در ماهیان استنووهایلین آب شیرین کاهش می‌یابد. این امر به‌دلیل نیازهای بیشتر ماهیان برای تنظیم اسمزی در شوری‌های بالا است (Kilambi and Zdinak, 1980).

در مطالعه حاضر تغییرات مختلفی در آبشش از قبیل اتصال لاملاها بهم‌دیگر، جداشدگی سلول‌های لایه اپیتلیومی، افزایش تعداد و اندازه سلول‌های اپیتلیومی و همچنین افزایش تعداد سلول‌های کلراید در ماهیان قرار گرفته در غلظت LC<sub>50</sub> شوری مشاهده شد. مطالعات مختلف نشان داده است این تغییرات موجب افزایش توانایی ماهی در مقابله با استرس شوری می‌شود. به‌عنوان مثال افزایش قابل ملاحظه تعداد سلول‌های اپیتلیومی نشان‌دهنده شروع ایجاد تغییرات در بافت آبششی است (Mauceri et al., 2005). اگر چه افزایش میزان شوری در محیط و به موجب آن ایجاد تغییرات قابل توجه در بافت آبشش منجر به افزایش سازگاری ماهی می‌شود. با این وجود در بلندمدت تغییرات ایجاد شده موجب کاهش کارایی آبشش در تنفس شده و مشکلاتی را برای سلامت ماهی ایجاد می‌کند (Nero et al., 2006).

آسیب‌های بافت آبششی مشاهده شده در مطالعه حاضر آسیب‌های عمومی بوده که در شرایط استرسی مختلف از قبیل آلاینده‌های مختلف روی می‌دهد (Miron et al., 2008; Nero et al., 2006).

رویش در ماهیان تحت تأثیر آلاینده‌های مختلف انجام شده است، مطالعات محدودی در مورد اثرات هیستوپاتولوژیک افزایش شوری ( $LC_{50}$ ) بر بافت آبشش ماهیان انجام شده است که از آنها می‌توان به مطالعات انجام شده توسط شهریاری مقدم و همکاران (Shahriari Moghadam *et al.*, 2013) روی *Liza aurata* و ولاسکوسانتاماریا و همکاران (Velasco-Santamaría and Cruz-Casallas, 2008) روی *Metynnis orinocensis* اشاره کرد.

در آبشش تبدلات یونی توسط سلول‌های کلراید در اپیتلیوم آبششی انجام می‌شود. سلول‌های کلراید در جذب و ترشح یون‌ها در استرس‌های شوری نقش ایفا می‌کنند. سلول‌های کلراید در مطالعه حاضر در فضای بین لاملایی دیده شدند. در مطالعه حاضر زمانی که ماهیان از شوری کم به شوری بالاتر منتقل شدند، بر تعداد سلول‌های کلراید افزوده شد. مطالعات انجام شده توسط کایونی و همکاران (Cioni *et al.*, 1991) روی *Oreochromis niloticus*، کارمونا و همکاران (Carmona *et al.*, 2004) روی *Acipenser naccarii* و همچنین آلتینوک و همکاران (Altinok *et al.*, 1998) روی *Acipenser oxyrinchus desotoi* نشان داده است ماهیان پس از سازگار شدن به محیط با شوری بیشتر، بر تعداد سلول‌های کلراید آنها افزوده می‌شود که نشان‌دهنده نقش کلیدی این سلول‌ها در سازگاری به محیط جدید است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بچه‌ماهیان هامون‌ماهی قادر به تحمل شوری  $10 \text{ g/L}$  در روش انتقال مستقیم ماهیان به شوری بوده با کمترین میزان تلفات می‌باشد. ۲۰ روز پس از انتقال بچه‌ماهیان به آب شور تغییرات معنی‌داری در میزان پروتئین کل، AST و ALP و کورتیزول مشاهده نشد، درحالی‌که میزان گلوکز و تری‌گلیسرید پلاسما اختلافات معنی‌داری را نشان داد. نقش کورتیزول در تنظیم اسمزی به صورت گسترده‌ای در ماهیان تلئوستی مطالعه شده است (Martínez-Álvarez *et al.*, 2002). کورتیزول به‌عنوان یک فاکتور تنظیمی برای رنج وسیعی از عملکردهای فیزیولوژیک تحت شرایط نرمال عمل می‌کند. همچنین در هنگام مواجهه با استرس موجب تغییرات سریع فیزیولوژیک مختلف می‌شود (Mommsen *et al.*, 1999). در هنگام استرس علاوه بر افزایش میزان کورتیزول، افزایش میزان گلوکز در خون نیز رخ می‌دهد. اما عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در میزان کورتیزول در مطالعه حاضر نشان‌دهنده این موضوع است که افزایش میزان شوری تا به  $10 \text{ g/L}$  منجر به ایجاد استرس قابل توجهی در بچه‌ماهیان نمی‌شود. عدم مشاهده مرگ و میر در هنگام انتقال مستقیم به شوری نیز تأییدکننده این مطلب است. نکته قابل توجه آن است که کاتالدی و همکاران (Cataldi *et al.*, 2005) بیان کردند ماهیان پرورش‌یافته در محیط ایزوتونیک ( $10 \text{ گرم در لیتر}$ ) نسبت به ماهیان رشد کرده در آب شور و شیرین زمانی که در معرض استرس قرار می‌گیرند، میزان کورتیزول خون آنها کمتر بالا

می‌رود. این محققان علت آن را نقش محیط ایزوتونیک در کاهش میزان استرس در ماهیان ذکر کردند. در مطالعه حاضر نیز یکی از دلایل کمتر بودن میزان کورتیزول در ماهیان پرورش یافته در آب با شوری ۱۰ گرم در لیتر را می‌توان به نقش محیط ایزوتونیک در کاهش میزان استرس بیان نمود.

در مطالعه حاضر میزان تری‌گلیسریدها در ماهیان قرار گرفته در آب شور نسبت به ماهیان قرار گرفته در آب شیرین کاهش معنی‌داری نشان داد. نتایج محققین نشان داده است سالمونیدها در هنگام انتقال به آب دریا مقدار لیپیدهای پلاسمای خون آنها کاهش می‌یابد (Woo *et al.*, 1978). همچنین نتایج مشابهی در مورد کاهش میزان لیپیدها در زمان سازگار شدن *Acipenser brevirostrum* به آب شور مشاهده شده است (Jarvis and Ballantyne, 2003).

گلوکز از دیگر فاکتورهای تغییر یافته در پلاسمای خون بچه‌ماهیان بود. در مطالعه حاضر میزان گلوکز در ماهیان قرار گرفته در آب شور نسبت به ماهیان آب شیرین به میزان قابل توجهی کاهش یافته بود. به‌طور کلی نتایج مطالعات انجام شده در زمینه سطح گلوکز خون در هنگام استرس شوری نشان داده است با افزایش میزان شوری سطح گلوکز خون افزایش می‌یابد (Karsi and Yildiz, 2005). اگر چه برخی از مطالعات نیز نشان داده‌اند میزان گلوکز خون را در پی انتقال به آب شور کاهش می‌یابد (Krumshnabel and Lackner, 1993). کاهش میزان گلوکز خون می‌تواند به دلیل افزایش نیاز بدن به گلوکز برای تأمین انرژی لازم برای تنظیم اسمزی باشد، با وجود آنکه گلوکونوزیز افزایش یافته است (Martínez-Álvarez *et al.*, 2002). در مطالعه حاضر نیز کاهش سطح گلوکز می‌تواند به دلیل صرف انرژی بیشتر در ماهیان قرار گرفته در آب شور و به موجب آن کاهش سطح گلوکز خون باشد. همچنین برخی از محققین دلیل کاهش گلوکز در شوری بیشتر نسبت به شوری کمتر را کاهش اشتیاق ماهی در پی قرار گرفتن در آب شور ذکر کرده‌اند (Sarma *et al.*, 2013).

اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل شاخص مناسبی برای مطالعه وضعیت سلامتی ماهی‌ها است. همچنین سنجش میزان پروتئین کل به‌عنوان یک پارامتر ایمنی غیر اختصاصی نیز استفاده می‌شود. براساس مطالعات انجام شده، افزایش غلظت پروتئین کل می‌تواند بر اثر تغییرات ساختاری در کلیه‌ها و کاهش فعالیت آمینوترانسفرازها روی دهد (Kavya *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری در غلظت پروتئین کل بین ماهیان پرورش یافته در آب شیرین و آب با شوری ۱۰ میلی‌گرم در لیتر دیده نشد که نشان‌دهنده سلامت ماهیان در آب شور است. اندازه‌گیری آنزیم‌های ALP و AST از شاخص‌های مهم برای بررسی میزان استرس ارگانیک‌ها است. به‌طور کلی مطالعات نشان داده است با افزایش میزان استرس غلظت این آنزیم‌ها در خون افزایش می‌یابد (Borges *et al.*, 2007; Firat *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در اندازه غلظت این آنزیم‌ها در ماهیان قرار گرفته در آب

شور و شیرین مشاهده نشد که نشان‌دهنده عدم وجود استرس قابل توجه بر ماهیان قرار گرفته در آب شور بوده است.

به‌طور کلی میزان تحمل شوری هامون‌ماهی در محدوده تحمل شوری گزارش شده برای دیگر کپورماهیان به‌دست آمد. نتایج نشان داد هامون‌ماهی قادر به تحمل شوری‌های بالا (بیشتر از ۱۲ g/L) به‌صورت انتقال مستقیم نبوده و انتقال تدریجی بچه‌ماهیان هم تحمل شوری بچه‌ماهیان را به مقدار کمی بالا می‌برد. سنجش میزان کورتیزول، ALP و AST، تعداد مرگ و میر در ماهیان پرورش‌یافته در شوری ۱۰ g/L در مقایسه با ماهیان پرورش‌یافته در آب شیرین، نشان‌دهنده عدم وجود استرس در بچه‌ماهیان بود، که بیانگر امکان پرورش بچه‌ماهیان هامون‌ماهی در شوری ۱۰ g/L می‌باشد. همچنین افزایش تعداد سلول‌های کلراید در ماهیان رشد یافته در شوری ۱۰ g/L گواهِ سازگار شدن بچه‌ماهیان در پی انتقال به شوری بالاتر بود، اما با توجه به رشد کم این ماهی در دوره پرورش (در آب شور و شیرین) نیاز به مطالعات تکمیلی برای پرورش این ماهی است. همچنین با توجه به کوتاه بودن دوره پرورش در مطالعه حاضر (۲۰ روز) داده‌ها نمی‌توانند به‌خوبی تأثیر میزان شوری بر رشد بچه‌ماهیان را نشان دهد و پیشنهاد می‌شود میزان رشد در بازه زمانی طولانی‌تر مطالعه شود.

#### منابع

- Abtahi B., Shahriari Moghadam M., Rezaei S., Abbasi H. 2014. Larval organogenesis of *Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897) (Cyprinidae): Histological aspects. *Journal of Fisheries Sciences*, 8(2): 121-132.
- Altinok I., Galli S.M., Chapman F.A. 1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120(4): 609-616.
- APHA., AWWA., WEF. 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater 20<sup>th</sup> edition. American Public Health Association, New York, USA. 1325 P.
- Benli A.Ç.K., Özkul A. 2010. Acute toxicity and histopathological effects of sublethal fenitrothion on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(1): 32-35.
- Bianco P.G., Nordlie F. 2008. The salinity tolerance of *Pseudophoxinus stymphalicus* (Cyprinidae) and *Valencia letourneuxi* (Valenciidae) from western Greece suggests a revision of the ecological categories of freshwater fishes. *Italian Journal of Zoology*, 75(3): 285-293.
- Boeuf G., Payan P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(4): 411-423.

- Borges A., Scotti L.V., Siqueira D.R., Zanini R., do Amaral F., Jurinitz D.F., Wassermann G.F. 2007. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. *Chemosphere*, 69(6): 920-926.
- Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E. 2012. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book. Elsevier Health Sciences. St. Louis, USA. 2238 P.
- Carmona R., García-Gallego M., Sanz A., Domezain A., Ostos-Garrido M.V. 2004. Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenser naccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. *Journal of Fish Biology*, 64(2): 553-566.
- Cataldi E., Mandich A., Ozzimo A., Cataudella S. 2005. The interrelationships between stress and osmoregulation in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(3): 229-231.
- Cioni C., De Merich D., Cataldi E., Cataudella S. 1991. Fine structure of chloride cells in freshwater- and seawater-adapted *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Biology*, 39: 197-209.
- DiMaggio M.A., Ohs C.L., Petty B.D. 2009. Salinity tolerance of the *Seminole killifish*, *Fundulus seminolis*, a candidate species for marine baitfish aquaculture. *Aquaculture*, 293(1): 74-80.
- Finney D. 2009. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> edition. Cambridge University Press, London, UK. 272 P.
- Firat Ö., Cogun H.Y., Yüzereroğlu T.A., Gök G., Firat Ö., Kargin F., Kötemen Y. 2011. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(3): 657-666.
- Hammer U.T. 1986. Saline lake ecosystems of the world (Vol. 59). Springer Science & Business Media. 616 P.
- Hossain M.S., Koshio S., Ishikawa M., Yokoyama S., Sony N.M. 2017. Dietary supplementation of uridine monophosphate enhances growth, hematological profile, immune functions and stress tolerance of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 475: 29-39.
- Hosseini S.V., Kalbasi M.R. 2003. Karyological study on snowtrout, *Schizothorax zarudnyi*, in Zahak of Sistan-Balochestan Province Iran. *Iranian Journal of Marine Science*, 2: 13-22. (In Persian).
- Hotos G.N., Vlahos N. 1998. Salinity tolerance of *Mugil cephalus* and *Chelon labrosus* (Pisces: Mugilidae) fry in experimental conditions. *Aquaculture*, 167(3): 329-338.
- Jarvis P.L., Ballantyne J.S. 2003. Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum*. *Aquaculture*, 219(1): 891-909.

- Karsi A., Yildiz H.Y. 2005. Secondary stress response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, after direct transfer to different salinities. *Tarim Bilimleri Dergisi*, 11(2): 139-141.
- Kavya K.S., Kulkarni R.S., Jadesh M. 2015. Some blood biochemical changes in response to saline exposure in the fresh water fish, *Notopterus notopterus* (Pallas). *International Letters of Natural Sciences*. 49 P.
- Kefford B.J., Papas P.J., Metzeling L., Nuggeoda D. 2004. Do laboratory salinity tolerances of freshwater animals correspond with their field salinity?. *Environmental Pollution*, 129(3): 355-362.
- Kijewska A., Kalamarz-Kubiak H., Arciszewski B., Guellard T., Peterleit C., Wenne R. 2016. Adaptation to salinity in Atlantic cod from different regions of the Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 478: 62-67.
- Kilambi R.V., Zdinak A. 1980. The effects of acclimation on the salinity tolerance of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Cuv. and Val.). *Journal of Fish Biology*, 16(2): 171-175.
- Krumschnabel G., Lackner R. 1993. Stress responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss alevins*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology*, 104(4): 777-783.
- Martínez-Álvarez R.M., Hidalgo M.C., Domezain A., Morales A.E., García-Gallego M., Sanz A. 2002. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *Journal of Experimental Biology*, 205(23): 3699-3706.
- Mauceri A., Fossi M.C., Leonzio C., Ancora S., Minniti F., Maisano M., Lo Cascio P., Ferrando S., Fasulo S. 2005. Stress factors in the gills of *Liza aurata* (Perciformes, Mugilidae) living in polluted environments. *Italian Journal of Zoology*, 72(4): 285-292.
- McCormick S.D., Farrell A.P., Brauner C.J. 2013. *Fish Physiology: Euryhaline Fishes* (Vol. 32). Academic Press, San Diego. 594 P.
- Miron D.D.S., Moraes B., Becker A.G., Crestani M., Spanevello R., Loro V.L., Baldisserotto B. 2008. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). *Aquaculture*, 277(3): 192-196.
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9(3): 211-268.
- Nascimento A.A., Araújo F.G., Gomes I.D., Mendes R.M.M., Sales A. 2012. Fish gills alterations as potential biomarkers of environmental quality in a eutrophized tropical river in South-Eastern Brazil. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 41(3): 209-216.

- Nero V., Farwell A., Lee L.E.J., Van Meer T., MacKinnon M.D., Dixon D.G. 2006. The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: gill and liver histopathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65(2): 252-264.
- Oliva M., Garrido M.C., Márquez D.S., de Canales M.G. 2009. Sublethal and lethal toxicity in juvenile Senegal sole (*Solea senegalensis*) exposed to copper: a preliminary toxicity range-finding test. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(2): 113-121.
- Rahdari A., Gharaei A., Ghaffri M. 2014. Spawning Latency Period in Hormonal Induced Reproduction of Snow trout (*Schizothorax Zarudnyi* (Nikolskii, 1897)). *Iranian Journal of Biotechnology*, 12(1): 61-65. (In Persian).
- Sarma K., Prabakaran K., Krishnan P., Grinson G., Kumar A.A. 2013. Response of a freshwater air-breathing fish, *Clarias batrachus* to salinity stress: an experimental case for their farming in brackishwater areas in Andaman, India. *Aquaculture International*, 21(1): 183-196.
- Shahriari Moghadam M., Abtahi B., Mosafer Khorjistan S., Bitaab M.A. 2013. Salinity tolerance and gill histopathological alterations in *Liza aurata* Risso, 1810 (Actinopterygii: Mugilidae) fry. *Italian Journal of Zoology*, 80(4): 503-509.
- Shahriari Moghadam M., Abtahi B., Rezaei S., Rahdari A. 2014. Early ontogenetic development of digestive system in *Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897 (Actinopterygii: Cyprinidae) larvae. *Italian Journal of Zoology*, 81(2): 194-203.
- Velasco-Santamaría Y.M., Cruz-Casallas P.E. 2008. Behavioural and gill histopathological effects of acute exposure to sodium chloride in moneda (*Metynnus orinocensis*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25(3): 365-372.
- Woo N.Y.S., Bern H.A., Nishioka R.S. 1978. Changes in body composition associated with smoltification and premature transfer to seawater in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and king salmon (*O. tshawytscha*). *Journal of Fish Biology*, 13(4): 421-428.
- Zakipour Rahim Abadi E., Arshadi, A., Zarea P., Heidari M.A. 2009. The comparative study of muscle chemical composition of *Schizothorax zarudnyi* and *Schizothorax altidorsalis* in different seasons and genus, Sistan and Bluchestan province. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 3: 15-20. (In Persian).