

مقایسه برخی از پارامترهای یونی و متابولیتی خون در مولدین ماده رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamenskii, ۱۹۰۱) مهاجر به مصب رودخانه سفیدرود

• سعید شفیعی ثابت (نویسنده مسئول)

دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان

• محمد رضا ایمانیپور

دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان

• باقر امینیان فتیده

گیلان، رشت، موسسه آموزش عالی علمی کاربردی علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت.

• سعید گرگین

دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۸

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۱۵۹۱۸۳۴

Email: saeed_fisheries@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه به منظور تعیین مقادیر پارامترهای یونی (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و عوامل متابولیتی (کلسترول، پروتئین کل و گلوکز) در پلاسمای خون تعداد ۳۵ قطعه مولد ماده رسیده و ۴۵ قطعه مولد در حال رسیدگی ماهی سفید صید شده از رودخانه سفیدرود شهرستان آستانه اشرفیه ناحیه بندر کباشهر تعیین و مقایسه گردید. خون گیری از ناحیه انتهای باله مخرجی و سیاهرگ ساقه دمی بعمل آمد و پارامترهای یونی و متابولیتی با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی موجود مورد سنجش قرار گرفتند. با توجه به نتایج بدست آمده در هر گروه از مولدین رسیده و در حال رسیدگی یون‌های سدیم، کلسیم، پتاسیم و منیزیم به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان و غلظت کلسترول بیشتر از گلوکز و گلوکز بیشتر از پروتئین کل بود. نتایج مطالعه مقایسه‌ای بیانگر این می‌باشد که تفاوت غلظت مقدار یون کلسیم و میزان پروتئین کل در دو گروه مولدین معنی‌دار بود به طوری که غلظت کلسیم و پروتئین کل در گروه مولدین در حال رسیدگی به ترتیب $(1/14 \pm 0/02 \text{ mmol/l})$ و $(1/87 \pm 0/11 \text{ mg/dl})$ بیشتر از مولدین رسیده $(0/05 \pm 0/24 \text{ mg/dl})$ و $(1/96 \pm 0/04)$ بوده است ($p < 0/05$). همچنین مقدار گلوکز و کلسترول هم در دو گروه مولدین اختلاف معنی‌داری داشت به گونه‌ای که در مولدین رسیده میزان گلوکز و کلسترول به ترتیب $(29/29 \pm 4/47 \text{ mg/dl})$ و $(29/29 \pm 4/47 \text{ mg/dl})$ و $(21/09 \pm 4/04 \text{ mg/dl})$ و $(26/26 \pm 9/34 \text{ mg/dl})$ اندازه‌گیری شد ($p < 0/05$). اما بین غلظت سایر پارامترهای یونی سدیم و منیزیم در این دو گروه ماهیان مولد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$).

کلمات کلیدی: ماهی سفید دریای خزر، پلاسمای خونی، ترکیبات یونی، پارامترهای متابولیتی

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 84 pp: 71-79

The Study on some blood ionic and metabolic parameters in maturated and immature female's kutum (*Rutilus frisii kutum*) migrated to Sefid-rud estuary

By: Shafiei sabet. (Corresponding Author Tel: +989121591834) and S. M.R. Imanpour, Fisheries Faculty, University of Gorgan. Ftideh. B, Guilan, Fishing Technology Department, Mirza Kochak Vocation & Higher Education Center for Fisheries Sciences and Technology. Gorgin S. Fisheries Faculty, University of Gorgan.

This research was conducted in Sefid-rud river of southern Caspian Sea and amounts of ionic (sodium, potassium, magnesium and calcium) and metabolic (cholesterol, total protein and glucose) parameters in 35 maturated and 45 immature female Kutum blood determined. Fish samples were collected monthly from March to May in 2008. Blood samples were taken from the caudal vessels. No abnormalities or pathological changes in the ovarian or body of the investigated fish were detected. The results showed that Sodium, potassium, calcium and magnesium were maximum to minimum respectively and concentration of cholesterol was more than glucose and glucose was more than total protein in serum blood. There was a significant correlation between calcium and total protein in maturated (4.24 ± 0.05 mmol/l, 3.04 ± 1.96 mg/dl) and immature specimen (8.02 ± 0.14 mmol/l, 4.11 ± 1.87 mg/dl) ($P < 0.05$). The differentiation between glucose with cholesterol in maturated (87.73 ± 56.29 mg/dl, 475.29 ± 64.16 mg/dl) and immature specimen (45.04 ± 21.09 mg/dl, 347.26 ± 95.12 mg/dl) was significant ($P < 0.05$). According to influence of ionic and nonionic blood's plasma on regulation of reproduction and growth in kutum, can use in management of reproduction and culture of this valuable species.

Keywords: Kutum, Blood plasma, Ionic parameters, metabolic parameters.

مقدمه

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مهم‌ترین ماهی استخوانی سواحل جنوبی دریای خزر می‌باشد که به زندگی در آب‌های نیمه شور دریای خزر و تالاب‌های اطراف آن به خوبی سازگاری نشان داده است بطوری که بیشترین درصد صید سالانه را به خود اختصاص می‌دهد (۲) (۲۵). این ماهی با نام محلی و بومی ماهی سفید (mahi-sefid) و با نام متعارف انگلیسی Kutum شناخته شده و جزو خانواده کپور ماهیان می‌باشد و هر ساله برای تولید مثل از دریای خزر به رودخانه‌های مختلف مهاجرت می‌کند (۳). افزایش جمعیت، توسعه شهرها و روستاها در مناطق ساحلی، تخریب و تغییر کاربری اراضی کشاورزی، تخریب پوشش‌های گیاهی و جنگلی در مجاورت رودخانه‌ها و منابع آبی، تخلیه پساب‌های کشاورزی، شهری و صنعتی به منابع آب‌های جاری و در نتیجه نامناسب کردن شرایط اکولوژیکی آنها جهت مهاجرت ماهیان برای تخم‌ریزی، از طرفی استقرار کارگاه‌های برداشت شن و ماسه از بستر رودخانه‌ها و افزایش مواد معلق آب، برداشت حجم عظیمی از آب رودخانه‌ها خصوصاً در فصل بهار و هم‌زمان با مهاجرت ماهیان، احداث پل‌ها و سد‌ها و دیگر موانع در مسیر مهاجرت ماهیان بر روی رودخانه‌ها به عنوان عواملی باعث تخریب محل‌های تخم‌ریزی طبیعی و مانع مهاجرت ماهیان با ارزش دریای خزر خصوصاً گونه ماهی سفید شده است. در طی سال‌های ۱۳۶۱ لغایت ۱۳۶۹ هم‌زمان با افزایش رهاکرد بچه ماهیان سفید میزان صید این ماهی نیز روند صعودی داشته که پس از سال مذکور میزان برداشت ماهی سفید و تعداد رهاکرد بچه ماهیان دستخوش نوساناتی گردید. کاهش ضریب بازگشت شیلاتی بچه ماهیان رهاسازی شده خود

به دلیل نزول کیفیت وضعیت بهداشتی و میانگین وزن بچه ماهیان رهاسازی شده کاهش رشد و کاسته شدن توانایی سازش‌پذیری با عوامل محیطی از عمده‌ترین دلایل این نوسانات در برآورد حداکثر مجاز قابل برداشت توده سفید ماهی سفید را می‌توان ذکر کرد (۲). بطوری که از میزان بیش از ۵۰۰۰ تن صید در سال‌های ۱۳۱۸-۱۳۱۷ به ۵۰۰ تن در طی سال‌های ۱۳۶۲-۱۳۶۱ کاهش یافت (۳). جدول شماره ۱ رده بندی ماهی سفید دریای خزر را نشان داده است. با توجه به تلاش‌های کارشناسان و شیلات ایران در امر تکثیر و رهاسازی بچه ماهی سفید امروزه شاهد افزایش در میزان صید این گونه اقتصادی تا مرز ۸۰۰۰ تن می‌باشیم که نشان‌دهنده تلاش مستمر شیلات ایران در زمینه رهاسازی و بازسازی ذخائر ماهیان اقتصادی و بومی می‌باشد.

یکی از کارآمدترین اقدامات جهت حفظ ذخائر ماهی سفید، تکثیرنیمه^۱ مصنوعی با استفاده از ماهیان آماده تخم‌ریزی در رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر است (۳). شناخت فیزیولوژیکی و رفتاری مولدین نقش مهمی در ارائه راهکارهای مناسب جهت افزایش بازده تکثیر نیمه مصنوعی خواهد داشت. ماهیان مولد ماده رسیده ای که فرایند اوولاسیون صورت پذیرفته و تخمک‌ها به راحتی از حفره شکم با فشار اندک خارج می‌گردند آماده لقاح بوده و جهت تکثیر مصنوعی از آنها استفاده می‌شود (۴). در مولدین رسیده^۲ آماده تخم‌ریزی پدیده شکستگی هسته زاینده^۳ (GVBD) بطور کامل اتفاق افتاده و لایه‌های فولیکول تکا^۴ و گرانولوزا^۵ وجود نداشته و لایه زونا رادیانا^۶ مشخص می‌باشد (۲۱). در تخمک‌های مولدین ماده در حال رسیدگی^۷ هسته زاینده (GV) به طرف حاشیه تخمک مهاجرت نموده ولی هنوز پدیده شکستگی هسته زاینده (GVBD) اتفاق نیفتاده است و لایه‌های فولیکولی تکا و گرانولوزا حضور

آداپتاسیون^۹ با آب شور دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین کلیوی می گردند و به این ترتیب تغییراتی در عواملی نظیر غلظت یونها، سلول های کلراید و هماتوکریت^{۱۰} ایجاد می شود (۴).

یکی از مسائل موجود در مراکز تکثیر و پرورش ماهی سفید وجود مولدین نارس می باشد که به دلایل مختلف ژنتیکی، اکو-فیزیولوژیکی هنوز آمادگی لازم برای فعالیت های تخم ریزی را نداشته لذا از نظر فیزیولوژیکی قابلیت تکثیر و تخم کشی را ندارند. ارزیابی و تشخیص وضعیت فیزیولوژیکی ماهی و تعیین میزان و اندازه آن جهت برآورد، حفظ و نگهداری بهبود ذخائر ماهیان اقتصادی برای تولیدمثل مصنوعی و توسعه بهترین شرایط رشدی لازم و ضروری می باشد (۳۱).

کلسیم و منیزیم در فرایندهای بیولوژیکی خون ماهی ضروری هستند (۳۰). بلوغ جنسی در ماهیان ماده، مستلزم مراحل تولید ویتلوژنین حاوی کلسیم است که این عمل توسط هورمون های استروژن کنترل می شود و بین سطوح کلسیم پلاسمای خون با بلوغ جنسی ماهیان ماده ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. مقادیر یون کلسیم محلول در پلاسمای خون ماهیان

داشته و به فعالیت های استروئیدزایی ادامه می دهند (۲۱). مسئله مهم در مورد ماهی سفید این است که بیش از نیمی از مولدین ماده صید شده در داخل رودخانه ها دارای تخم هایی هستند که فرایند اوولاسیون^۸ را انجام نداده اند. این ماهیان که به لحاظ علمی ماهیان ماده در حال رسیدگی و در محیط اجرا ماهیان غیر تکثیری نامیده می شوند، در بسیاری از رودخانه ها از چرخه تکثیر مصنوعی خارج گردیده و از تکثیر آنها خودداری می شود. به نظر می رسد که این دسته از مولدین تحت شرایط استرس زا قرار داشته باشند که نه تنها بر شرایط فیزیولوژیک آنها اثر گذاشته بلکه ممکن است بر کیفیت و کارایی تکثیر نیز تاثیر منفی داشته باشد (۲۴). البته سن مهاجرت مولدین ماهی سفید به رودخانه هم از عوامل تاثیر گذار و قابل توجه در این زمینه می باشد. همچنین برخی از مولدین نیازمند سپری شدن مدت زمانی هستند تا با حرکت به سمت بالا دست رودخانه شرایط مناسب تخم ریزی و رسیدگی جنسی در آنها محقق گردد. شناخت شاخص های خونی و آگاهی از تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون، دید وسیعی را در خصوص مولد سازی با هدف تکثیر مصنوعی و همچنین بازسازی ذخایر ماهیان ایجاد می نماید (۱۰). ماهیان استخوانی تحت

جدول ۱- رده بندی ماهی سفید دریای خزر

Cypriniformes	کیپور ماهی شکلان	راسته
Cyprinidae	کیپور ماهیان	خانواده
Rutilus		جنس
<i>Rutilus frisii kutum</i>	ماهی سفید	گونه
Kutum		نام انگلیسی
	ماهی سفید	نام فارسی

جدول ۲- مشخصات مولدین ماهی سفید رسیده و در حال رسیدگی مهاجر به رودخانه سفیدرود

دامنه سنی (سال)	SD ± وزن (گرم)	SD ± طول فورک (چنگالی) (سانتیمتر)	SD ± طول (استاندارد) (سانتیمتر)	SD ± طول کل (سانتیمتر)	دامنه سنی (سال)
۳-۵	۸۷۵ ± ۱۶	۴۶/۴ ± ۱/۷	۵۴/۲ ± ۱/۱	۴۷/۶ ± ۲/۳	۳-۵
۳-۵	۹۷۵ ± ۴۵	۵۰/۲۵ ± ۵/۲	۴۹/۴ ± ۴/۷	۵۱/۳۸ ± ۳/۱	۳-۵

گرفت و در مجموع از ۳۵ قطعه مولد ماده رسیده پس از تعیین سن در دامنه سنی ۵-۳ سال وزن و طول فورک (چنگالی) به ترتیب 16 ± 875 گرم و $1/7 \pm 46/4$ سانتی متر و ۴۵ قطعه مولد ماده در حال رسیدگی در فاصله سنی ۵-۳ سال وزن و طول فورک (چنگالی) به ترتیب 45 ± 975 گرم و $2/5 \pm 50/25$ سانتی متر بررسی شدند. پس از صید مولدین رسیده و در حال رسیدگی در مراحل نمونه برداری در داخل وان های فایبرگلاس قرار داده شدند و جهت خونگیری در شرایط بدون استرس از ماده بیهوش کننده MS۲۲۲ به میزان یک گرم در ۱۰ لیتر آب استفاده گردید. تحت این شرایط مولدین مورد نظر به مدت ۱ تا ۲ دقیقه بیهوش شدند. سپس با استفاده از سرنگ های ۱۰ سی سی پس از خشک کردن ناحیه پشتی باله مخرجی و ساقه دم به میزان ۲ سی سی از سیاهرگ ساقه دم ماهیان خون مورد نیاز اخذ شد و به داخل لوله هپارینه (ماده ضد انعقاد خون) آزمایشی ریخته شد. دامنه تغییرات دمای آب در زمان خونگیری ۱۲-۸ درجه سانتی گراد (با میانگین ۱۱ درجه سانتی گراد) بود. برای جداسازی سرم از خون، نمونه های خونی ماهیان در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافته و سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس سرم جدا شده توسط پیت پاستور به داخل محفظه های پلاستیکی با حجم ۱/۵ سی سی ریخته و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد برای مراحل بعدی اندازه گیری ذخیره شدند.

تعیین سن مولدین

پس از خونگیری جهت تعیین سن ماهیان مولد مورد نظر از قسمت زیر باله پشتی بالای خط جانبی تعداد ۱۵-۸ فلس مناسب و صدمه ندیده با استفاده از اسکالپل برداشته شدند و داخل پاکت های کوچک مخصوص که از قبل آماده شده بودند قرار داده شدند و روی این پاکت ها زمان دقیق صید، وزن بر حسب گرم و طول فورک (چنگالی) بر حسب سانتی متر یادداشت گردید.

پس از شستن فلس ها و شفاف سازی و قرار دادن آنها بین دو لام و پس از خشک شدن، سن ماهیان مولد از طریق شمارش دواير سالانه روی فلس با استفاده از لوپ در آزمایشگاه ماهی شناسی تعیین گردید.

اندازه گیری ترکیبات بیوشیمیایی سرم خونی ماهی سفید

(یون های منیزیم، کلسیم، پروتئین کل، کلسترول، گلوکز سدیم و پتاسیم). برای اندازه گیری مقادیر یون های منیزیم و کلسیم و همچنین پروتئین کل، کلسترول و گلوکز از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Cambridge-UK-PA-S2000-UV/VIS و با استفاده از کیت های استاندارد شرکت پارس آزمون مطابق جداول ۳ و ۴ عمل شد. هم چنین برای اندازه گیری سطوح یون های سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر مدل England JENWAY-PPPV استفاده گردید. با استفاده از استانداردهای سدیم و پتاسیم در غلظت های مختلف، ابتدا میزان جذب شعله تحت تاثیر غلظت های مختلف استاندارد خوانده شده و توسط نرم افزار Excel معادله رگرسیونی آن ترسیم و میزان جذب سرم خون ماهی نیز توسط دستگاه خوانده شده و پس از قرار گرفتن در معادله بدست آمده، مقدار واقعی یون های سدیم و پتاسیم موجود در سرم خون (میلی مول در هر لیتر) ماهیان محاسبه گردید.

ماده، نوسان زیادی را در طول دوره زندگی جانور از خود نشان می دهد (۱۳). تغییر طول دوره روشنایی در ماهیان، سبب تغییرات دوره ای در غلظت یون کلسیم پلاسمای خون، استروئیدهای جنسی و هورمون های غده تیروئید و همچنین ایجاد تغییرات مرتبط در زمان تولیدمثل می شود (۲۱). با افزایش سن در ماهیان میزان گلوکز، کلسترول، سدیم، پتاسیم و پروتئین کل سرم خون برخلاف کلسیم پلاسمای خونی افزایش می یابد (۱۹).

پروتئین کل در ماهیان انگشت قد قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، کمتر از ماهیان بزرگتر می باشد و همزمان با رشد میزان پروتئین کل سرم خون افزایش می یابد (۲۳). علاوه بر این میزان پروتئین کل پلاسمای خون در گونه هایی از ماهیان که دارای فعالیت زیاد هستند بیشتر از ماهیان با فعالیت اندک است (۱۲).

با توجه به موارد ذکر شده و از آنجا که به اهمیت ترکیبات بیوشیمیایی خون در ماهیان، کمتر پرداخته شده است (۱۰)، هدف از این تحقیق تعیین سطوح و همین طور روابط حاکم بر پارامترهای یونی و غیر یونی خون در مولدین ماهی سفید در این پژوهش می باشد تا شاید بتوان از این طریق به اطلاعات پایه بهینه جهت عملکرد پرورشی مناسب تر لاروها و مولدین و همین طور الگویی جهت تولید جیره های غذایی مناسب و مطلوب برای ماهیان سفید در مراحل مختلف رشد و نمو دست یافت. بدیهی است که شناخت چنین روابطی، دانش و درک ما را جهت انجام موفقیت آمیز تکثیر و پرورش این گونه منحصر به فرد گسترش خواهد داد.

مواد و روش ها

این تحقیق در رودخانه سفیدرود واقع در شهرستان آستانه اشرفیه ناحیه مصبی بندر کیشهر طی اسفند سال ۱۳۸۶ تا اردیبهشت ۱۳۸۷ همزمان با مهاجرت مولدین ماهی سفید دریای خزر در آبی با دامنه حرارتی ۶ تا ۱۵ درجه سانتی گراد صورت پذیرفت. تعداد ۳۵ مولد رسیده و ۴۵ مولد در حال رسیدگی ماده مورد نیاز این تحقیق با توجه به وضعیت ظاهری فشار به ناحیه شکم و سیالیت تخمک ها طی ۶ مرتبه نمونه برداری با فواصل دو هفته ای در هر ماه از مصب رودخانه سفیدرود بندر کیشهر با استفاده از تور پرتابی (ماشک) صید گردیدند. پس از صید ماهیان مولد رسیده و در حال رسیدگی ماده ابتدا دو دسته از هم جدا شده و به داخل وان های فایبرگلاس قرار داده شدند در ادامه عملیات توزین و زیست سنجی ماهی شامل سنجش طول کل، طول فورک (چنگالی)، طول استاندارد و عرض بدن از جای باله پشتی تا شروع باله شکمی صورت گرفت که در جدول شماره ۲ برخی از مشخصات مورفولوژیکی مولدین ماهی سفید رسیده (تخمکشی شده) و در حال رسیدگی (نارس) مهاجر به رودخانه سفیدرود آمده است.

خون گیری از مولدین

جهت بررسی مقایسه ای میزان پارامترهای یونی و متابولیتی خونی بین دو گروه از مولدین خونگیری طی ماه های اسفند ۱۳۸۶، فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۷ طی ۶ مرتبه نمونه برداری با فواصل دو هفته ای انجام

جدول ۳- مقادیر تهیه شده نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری یون‌های کلسیم و منیزیم (میلی مول بر لیتر) مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفیدرود بتر تیب در طول موج‌های ۵۷۸ نانومتر=کلسیم- ۵۴۶ نانومتر=منیزیم.

عامل	نمونه (میکرولیتر)	استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
سرم خون	۲۰= کلسیم- ۱۰= منیزیم	-	-
استاندارد	-	۲۰= کلسیم- ۱۰= منیزیم	-
معرف	۱۰۰= کلسیم- ۱۰۰۰= منیزیم	۱۰۰= کلسیم- ۱۰۰۰= منیزیم	۱۰۰= کلسیم- ۱۰۰۰= منیزیم

با استفاده از فرمول زیر غلظت کلسیم موجود در سرم خون بر حسب میلی مول در هر لیتر محاسبه گردید (۲۶):
معادله ۱ $10 \times (\text{جذب استاندارد} / \text{جذب نمونه}) = \text{غلظت کلسیم سرم خونی}$
 با استفاده از فرمول زیر غلظت منیزیم موجود در سرم خون بر حسب میلی مول در هر لیتر محاسبه گردید (۲۶):
۲ $\times (\text{جذب استاندارد} / \text{جذب نمونه}) = \text{غلظت منیزیم سرم خونی}$

جدول ۴- مقادیر تهیه شده نمونه‌ها، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری غلظت گلوکز و کلاسترول سرم خون مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفیدرود در طول موج ۵۴۶ نانومتر.

عامل	نمونه (میکرولیتر)	استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
سرم خون ماهی	۱۰	-	-
استاندارد	-	۱۰	-
آب مقطر	-	-	۱۰
معرف	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

با استفاده از فرمول زیر غلظت گلوکز موجود در سرم خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر محاسبه گردید (۲۶):
۱۰۰ $\times (\text{جذب استاندارد} / \text{جذب نمونه}) = \text{غلظت گلوکز سرم خون}$
 با استفاده از فرمول زیر غلظت کلاسترول موجود در سرم خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر محاسبه گردید :
۲۰۰ $\times (\text{جذب استاندارد} / \text{جذب نمونه}) = \text{غلظت کلاسترول سرم خون}$

جدول ۵- مقادیر آماده شده نمونه‌ها، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل سرم خون مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفیدرود در طول موج ۵۴۶ نانومتر.

عامل	نمونه (میکرولیتر)	استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
سرم خون ماهی	۱۰	-	-
استاندارد	-	۱۰	-
معرف مخلوط شده ۱ و ۲	-	-	۱۰

با استفاده از فرمول زیر غلظت پروتئین کل موجود در سرم خون بر حسب میلی گرم در دسی لیتر محاسبه گردید (۲۶):
۶ / ۱۰۰ $\times (\text{جذب استاندارد} / \text{جذب نمونه}) = \text{غلظت پروتئین کل سرم خون}$

اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). نتایج آنالیز واریانس و مقایسه غلظت یون‌های کلسیم سرم خونی مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید نشان داده شده که یون‌های سدیم، کلسیم، پتاسیم و منیزیم به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان را در پلاسماهای خون ماهی سفید به خود اختصاص داده و غلظت کلسترول بیشتر از گلوکز و گلوکز بیشتر از پروتئین کل بود. همانگونه که در جدول شماره ۶ مشاهده می‌شود، غلظت یون کلسیم در سرم خونی مولدین رسیده کمتر از مولدین در حال رسیدگی ماهی سفید می‌باشد.

غلظت گلوکز، کلسترول و پروتئین

نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میزان گلوکز و پروتئین سرم خونی مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید در جدول شماره ۶ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، بین میزان گلوکز، کلسترول و پروتئین در سرم خونی مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$)، به گونه‌ای که بالاترین میزان گلوکز و کلسترول در مولدین رسیده و بیشترین میزان پروتئین در مولدین در حال رسیدگی مشاهده شد.

تجزیه و تحلیل

شیوه نمونه‌برداری در غالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیز آماری برای محاسبه میانگین، خطای استاندارد، میانگین، حدود اطمینان، ضرایب همبستگی پارامترها و مقایسه پارامترها در دو گروه مولدین ماهی سفید با استفاده از نرم افزار SPSS. Vt. ۱۱. ۵ و Excel صورت گرفت. بدین منظور برای مقایسه هر یک از پارامترهای مشابه در دو گروه مولدین ماده رسیده و در حال رسیدگی از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD)^{۱۱} استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین پارامترهای مورد مطالعه با یکدیگر در هر گروه از مولدین رسیده و در حال رسیدگی از ضریب همبستگی پیرسون^{۱۲} و برای بررسی معنی‌دار بودن در سطح ($P > 0/05$) ارتباط آنها از آزمون فیشر^{۱۳} استفاده گردید (۵، ۲۰).

نتایج

غلظت پارامترهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی سفید

غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم نتایج آنالیز واریانس و مقایسه غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم سرم خونی مولدین رسیده و در حال رسیدگی نشان داده شده است که بین غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در تیمارهای مختلف

جدول ۶- میانگین، انحراف معیار و دامنه ترکیبات بیوشیمیایی پلاسماهای خون اندازه‌گیری شده در مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفیدرود

میانگین و انحراف معیار - دامنه		فاکتور
مولدین در حال رسیدگی	مولدین رسیده	
(۱۰۷ - ۱۵۹/۸) ۱۳۷/۲۱ ± ۱۹/۳۲	(۱۱۲ - ۱۷۷/۸) ۱۴۳/۹۳ ± ۱۹/۹۲	یون سدیم (میلی مول در لیتر)
(۱/۰۴ - ۸/۷۶) ۳/۱۶ ± ۲/۴۰	(۰/۸۹ - ۸/۱۲) ۲/۱۹ ± ۳/۱۱	یون پتاسیم (میلی مول در لیتر)
(۲/۹۶ - ۴/۱) ۸/۰۲ ± ۰/۱۴	(۱/۷ - ۳/۱) ۴/۲۴ ± ۰/۰۵	یون کلسیم (میلی مول در لیتر)
(۱/۲ - ۳/۶) ۲/۰۷ ± ۰/۶۰	(۱/۳ - ۲/۶) ۲/۱۳ ± ۱/۳۲	یون منیزیم (میلی مول در لیتر)

جدول ۷- میانگین، انحراف معیار و دامنه ترکیبات بیوشیمیایی پلاسماهای خون اندازه‌گیری شده در مولدین رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفیدرود

میانگین و انحراف معیار - دامنه		فاکتور
مولدین در حال رسیدگی	مولدین رسیده	
(۲۱۴/۲۳ - ۵۳۲/۷) ۳۴۷/۲۶ ± ۹۵/۱۲	(۲۲۵/۷۳ - ۱۰۵/۴) ۴۷۵/۲۹ ± ۶۴/۱۶	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)
(۰/۶۳ - ۶/۰۴) ۴/۱۱ ± ۱/۸۷	(۰/۴۵ - ۴/۳۹) ۳/۰۴ ± ۱/۹۶	پروتئین کل (میلی گرم در دسی لیتر)
(۳۴/۸۱ - ۶۳/۲۴) ۴۵/۰۴ ± ۲۱/۰۹	(۴۱/۰۶ - ۹۵/۰۴) ۸۷/۷۳ ± ۵۶/۲۹	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)

بحث

در این بررسی با توجه به داده‌های جدول شماره ۶ یون‌های سدیم، کلسیم، پتاسیم و منیزیم پلاسماي خون به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان را در پلاسماي خون ماهی سفید به خود اختصاص دادند همینطور در جدول شماره ۶ نشان داده شده است که غلظت کلسترول بیشتر از گلوکز و گلوکز بیشتر از پروتئین کل می‌باشد. (۱) غلظت کل کلسیم سرم خون را شاخص مناسبی جهت شناخت دقیق تر روند تولیدمثلی اسبله ماهیان رسیده و در حال رسیدگی معرفی نمود. در تحقیقات انجام شده بر روی سایر گونه‌های ماهیان (۲۷) میزان طبیعی کلسیم سرم خون ماهیان پرورشی را صرف نظر از گونه ماهی برابر ۲۰ میلی‌گرم در دسی لیتر ذکر کردند که در این تحقیق میزان کلسیم سرم خون برای مولدین رسیده و نارس بترتیب ۴/۲۴ و ۸/۰۲ میلی مول در لیتر برآورد شد بطوریکه یکی از دلایل تفاوت در میزان این یون نوع گونه می تواند باشد. (۲۷) میزان یون‌های سدیم و پتاسیم را بر حسب گونه ماهی و محیط متغیر دانستند و در ماهیان آب شیرین به ترتیب ۱۵۰ و ۳ میلی مول در لیتر گزارش کردند و کاهش سدیم و کلر را در ماهیان آب شیرین ناشی از عفونت‌های عمومی و اختلال در کارکرد آبشش‌ها معرفی کردند که از این نظر با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت.

(۳۰) گزارش کردند که کلسیم و منیزیم در فرایندهای بیولوژیکی خون ماهی ضروری هستند. ماهی می‌تواند کلسیم و منیزیم را به طور مستقیم از آب یا غذا بدست آورد. بنابراین کلسیم از مهم‌ترین یون‌های موجود در آب محیط پرورشی ماهی است. آنها همچنین محدوده ۱۰۰-۲۵ میلی گرم در لیتر را برای کلسیم توصیه کردند و بیان کردند که برای بعضی گونه‌ها مثل باس راه راه (Stripped bass) ظرفیت بالای کلسیم نیاز است اما برخی ماهیان دیگر نظیر قزل آلی رنگین کمان می‌توانند میزان ۱۰ میلی گرم در لیتر کلسیم را اگر pH بالای ۶/۵ باشد تحمل کنند (۱۹). با توجه به نتایج بدست آمده تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) بین میزان غلظت کلسیم در مولدین رسیده و نارس ماهی سفید مشاهده می‌شود به طوری که این مقدار در مولدین نارس بیشتر از مولدین رسیده آماده تخم‌ریزی می‌باشد.

یون کلسیم موجود در پلاسماي خون ماهیان ماده، به عنوان شاخصی مطلوب برای پی بردن به زمان مناسب و قطعی رسیدگی جنسی مولدین محسوب می‌شود، چرا که در ماه‌های قبل از آغاز فصل تولید مثلی، مقادیر این یون در پلاسماي خون رفته رفته افزایش می‌یابد تا به اوج مقدار خود در زمان یک تا دو ماه پیش از آغاز فصل تکثیر برسد و بطور کلی کلسیم به عنوان فاکتور موثر در زرده سازی در طول دوره تکثیر افزایش می‌یابد که معمولاً در کپور ماهیان از جمله ماهی سفید قبل از مرحله خواب زمستانه کاهش خود را شروع خواهد نمود. دلیل این امر نیز به سبب تولید مثلی و نقش با اهمیت این یون در مرحله زرده‌سازی باز می‌گردد (۱۳، ۲۱). برای مثال غلظت این یون در پلاسماي خون ماهی پهن اقیانوس اطلس *Hippoglossus hippoglossus* پیش و پس از فصل تکثیر به ترتیب ۴/۵ و ۲/۸ میلی مول بر لیتر بوده است (۱۳). با توجه به این نکات و این موضوع که زمان انجام این تحقیق مصادف با دوره اوج تولیدمثلی ماهی سفید دریای خزر یعنی اوایل فصل بهار بوده است، لذا می‌توان گفت که مقدار بدست آمده برای این یون در تحقیق

حاضر (۳/۶ میلی مول بر لیتر) در دوره زمانی که مقدار آن پس از یک میزان بیشینه در پلاسماي خونی مولدین ماده، رو به کاهش بوده تعیین شده است. در این تحقیق میزان گلوکز در مولدین رسیده و در حال رسیدگی (نارس) بترتیب $87/73 \pm 56/29$ و $45/04 \pm 21/09$ میلی گرم در دسی لیتر بود. (۱۹) این میزان را در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) $102/8 \pm 35/9$ میلی گرم در دسی لیتر بیان کردند. (۲۸) میزان سدیم، پتاسیم و گلوکز را در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) به ترتیب 3 ± 134 میلی‌مول در لیتر، $4/43 \pm 0/5$ میلی مول در لیتر و $26/9 \pm 3$ میلی‌گرم در دسی لیتر ذکر کردند. در تحقیق حاضر میزان این پارامترها در مولدین رسیده بصورت، $87/73 \pm 56/29$ ، $2/19 \pm 3/11$ ، $143/93 \pm 19/92$ میلی مول در لیتر، میلی گرم در دسی لیتر و مولدین در حال رسیدگی (نارس)، $19/32 \pm 4/21$ ، $3/16 \pm 2/137$ ، $40/21$ میلی مول در لیتر و $45/04 \pm 21/09$ میلی گرم در دسی لیتر بود که تفاوت‌های موجود بین این مقادیر را می‌توان به نوع گونه، شدت تغذیه، شرایط بوم‌شناسی، استرس‌های محیطی و برخی عوامل ناشناخته نسبت داد (۱۹، ۲۳).

اختلاف‌های مشاهده شده در مورد شاخص‌های خون شناسی و پارامترهای یونی و متابولیتی خون ماهیان تابع عواملی چون سن ماهی، فصل و محیط زیست ماهی، شرایط فیزیولوژی ماهی، آلودگی و بیماری‌های ماهی، بلوغ جنسی و فعالیت‌های ماهی و همچنین جنسیت ماهی می‌باشد (۹، ۱۱). خون به عنوان یک بافت سیال یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن می‌باشد. مطالعات نشان داده که وابستگی بین اعمال فیزیولوژیک و صفات ریختی آبزیان با شرایط محیطی وجود دارد و با تغییر شرایط محیطی، بسیاری از ماهیان برای سازگاری با شرایط جدید به منظور پایداری نسل خود واکنش‌های لازم را از خود نشان خواهند داد (۸). این مجموعه واکنش‌ها با گذشت زمان تغییر شکل ظاهری اندام‌ها و بافت‌های مختلف بدن از جمله تخمک‌ها (غشا سیتوپلاسم و هستک) را سبب خواهند شد (۷). آبشش سطح اولیه تماس بین ماهی و محیط آن برای انتقال گاز، موازنه اسید و باز، تنظیم یون و ترشح آمونیاک است (۱۷). مهاجرت و انتقال ماهی از آب شور به شیرین موجب تغییرات موازنه یونی و اسید و باز می‌گردد که روی فیزیولوژی بدن و رشد موثر است (۱۵، ۲۲، ۲۹).

طی این تحقیق ارتباط معنی‌داری بین یون کلسیم و پروتئین کل پلاسماي خون مولدین رسیده و در حال رسیدگی (نارس) وجود داشت. دلیل این امر را می‌توان به دو موضوع نسبت داد. اول اینکه همگام با رشد و نمو ماهی از نظر جثه و اندازه و بدنبال افزایش غلظت پروتئین کل پلاسماي خون (۲۳) و دوم اینکه رشد و نمو جنسی که با نوسانات سطوح کلسیم همراه است صورت می‌گیرد (۱۳، ۲۱). از آنجا که این تحقیق در زمان اوج فصل تولید مثلی ماهی سفید انجام شد (افزایش غلظت کلسیم در پلاسما) ارتباط مستقیم این دو فاکتور قابل توضیح است. دلیل دوم یون کلسیم در متابولیسم پروتئین‌ها نقش دارد و به عنوان یک کوفاکتور در ارتباط با تعداد زیادی از واکنش‌های متابولیکی و آنزیمی است (۱۴). همچنین (۱۴) گزارش کردند که حضور یون منیزیم در آب پرورشی به کاهش از دست دادن نمک‌های دیگر (مثل سدیم و پتاسیم) از مایعات بدن ماهی (برای مثال خون) کمک می‌کند که از این نظر با نتایج

۳. رضوی صیاد، ب؛ زندگی ماهی سفید (۱۳۶۳) سازمان تحقیقات شیلات ایران.
۴. ستاری، مسعود. (۱۳۸۱) ماهی شناسی ۱ تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نشر حق شناس، ۶۵۹ صفحه.
۵. مانلی، بی. اف. جی، (۱۹۸۵) آشنایی با روش‌های آماری چند متغیره، ترجمه: مقدم، محمد.؛ محمدی شوطی، سید ابوالقاسم. و آقای سربرزه، مصطفی. (۱۳۷۳) انتشارات پیشناز علم، ۲۰۸ صفحه.
۶. نظری؛ رجب محمد؛ (۱۳۷۳) ماهی سفید دریای خزر. ماهنامه آبیان. شماره ۸. صفحه ۱۳ - ۱۰.
۷. نیکوم، سعیدی، ع.ا. یاسمی، م. جعفری، ع. آل خورشید، م. (۱۳۸۶) بررسی تغییرات مقادیر کورتیزول، گلوکز و هورمون‌های جنسی سرم به هنگام حمل مولدین ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. مجله علمی شیلات. سال شانزدهم، شماره ۳. پائیز ۱۳۸۶. صفحه ۱۴۷.
8. Akimova, N.V. and Ruban, G.L. (1993) The condition of the reproductive system of the Siberian Sturgeon *Acipenser baeri* as a bioindicator. *J. of Ichthyology*. vol. 33. No.4. pp 15-23.
9. Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Correa, C. F., Mazon, A. F., Araujo, M. R. R. and Moraes, G. (2002) Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.* 133: 375-382.
10. Bagheri, T. and Hedayati, S.A.A. (2007) *The study of blood parameter and determination of this correlation with gonadic stage of immature great sturgeon (Huso huso)*. 2nd National Conference of Animal Science. 129-130.
11. Ballarin, L., Dall'oro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A. and Barbaro, A. (2004) Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 138:45-51.
12. Barnhart, R.A. (1969) Effect of certain variable on hematological characteristics of rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* 3: 412-418.
13. Björnsson, B.T., Halldórsson, O., Haux, C., Norberg, B., and Brown, C.L. (1998) Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Plasma thyroid hormone and calcium levels. *Aquaculture* 166. 1-2.
14. Davis, D.A., Saoud, I.P., Boyd, C.E., and Rouse, D.B. (2005) Effects of potassium, magnesium, and age on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* post-larvae reared in inland low salinity well waters in west Alabama. *J. World Aquaculture* 36: 403-406.
15. Ellis, T., North, B., Scott, A. P., Bromage, N. R., Porter, M. and Gadd, D. (2002) The relationship between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.* 61: 493-531.
16. Fielder, D., Allan, G. L., Pepperall, D. and Pankhurst, P. M.

این تحقیق هم‌خوانی داشت. عدم مشاهده ارتباط معنی‌دار بین سایر پارامترها را می‌توان به این علت نسبت داد که فاکتورهای خونی بیشتر تحت تاثیر استرس ناشی از عوامل محیطی قرار می‌گیرند (۱۶، ۱۸). با توجه به رشد روز افزون جمعیت، محدودیت منابع و مطالعات نسبتاً اندک صورت گرفته بر روی پارامترهای متابولیتی و یونی خون و بیوشیمیایی سرم خون آبیان و گسترش هرچه بیشتر صنعت آبی‌پروری مستلزم مطالعات جامع و گسترده‌تری در این مباحث می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه جناب دکتر سرپرینه معاون محترم وزارت جهاد کشاورزی و رئیس سازمان شیلات ایران، دکتر خارا مدیر گروه محترم شیلات دانشگاه آزاد واحد لاهیجان، همچنین دکتر پورکاظمی، دکتر نظامی، دکتر خارا، دکتر نظری، مهندس درویشی، مهندس رحیمی اجدادی، مهندس عباسی، مهندس حلاجیان، مهندس کاظمی ابراز می‌دارند. در اینجا از دکتر صادقی، مهندس جلالی و سایر همکاران محترم ایشان در آزمایشگاه هماتولوژی و تشخیص طبی صادقی شهرستان آستانه اشرفیه همچنین پرسنل محترم آزمایشگاه ماهی شناسی مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک خان رشت و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و در ادامه از زحمات بیدریغ مسئولین شیلات ناحیه دو بندرکیاشهر و آقای محمد سلسله در تهیه نمونه‌های مولدین نیز کمال تشکر را داریم.

پاورقی‌ها

1. Semi Artificial Reproduction
2. Matured Females
3. Germinal Vesicle Break Down
4. Teca layer
5. Granulosa layer
6. Zona Radiata Layer
7. Immature Female
8. Ovulation
9. Adaptation
10. Hematocrite
11. Least Significant Difference
12. Pearson
13. Fisher Test

منابع مورد استفاده

۱. بهمنش، ش. (۱۳۸۷) مطالعه امکان تکثیر مصنوعی ماهی اسبله *Silurus glanis* با القا هورمون‌های مصنوعی و چرخه تولیدمثل آن در تالاب انزلی. پایان نامه دکتری. انشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۲. پیری، م. رضوی صیاد، ب.ع.، غنی نژاد، د. و ملکی شمالی، ع. (۱۳۷۸) ماهیان استخوانی دریای خزر (آب‌های ایران) گذشته حال آینده توسعه پایدار. مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان بندر انزلی.

24. Scherek, C.B.; Contreas-Sanchez, W. and Fitzpatrick, M.I., (2001) Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture*. 197, pp. 3-24.
25. Shafiei sabet, S. Imanpoor, M.R, Aminian fatideh, B. (2007) A comparative study of morphometric and meristic specialties of Caspian Sea Kutum (*Rutilus frisii kutum* Kamenskii, 1901) in sefid-rud estuary. *The first national conference on the Caspian Sea fisheries resources*. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
26. Thomas, L. (1998) *Clinical laboratory diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-books Verlagsgesellschaft. Pp.131-647.
27. Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., Denicola, D., Fettman, M. J., Lassen, E.D., Rebar, A. and Weiser, G. (2004) *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Lippincott Williams and Wikins, USA, 501p.
28. Timothy Leard, A., Wagner, B. A., Camp, K. L., Wise, D. J. and Gao, X. D. (1998) Seasonal values of selected blood parameters of farm-raised channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in the Mississippi Delta. *J. Vet Diagn Invest*. 10: 344-349.
29. Varsamos, S., Nebel, C., and Charmantier, G. (2005) Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology* 141: 401-429.
30. Wurts, W. A. and Durborow, R. M. (1992) *Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds*. SRAC Publication No. 464.
31. Zaprudnova, R.A., Prozorovskaya, M.P. (1999) The change in concentrations of catecholamine and ions in Tissues of Bream *Abramis brama* under Stress. *Journal of Ichthyology*, 39, 262-266.
- (2007) The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper (*Pagrus auratus*). *Aquaculture*. 272: 656-666.
17. Jensen, F.B. and Brahm, J. (1995) Kinetics of chloride transport across fish red blood cell membranes. *J. Exp. Biol*. 198: 2237-2244.
18. Jensen, F. B., Lecklin, T., Busk, M., Bury, N. R., Wilson, R., Wood, C. M. and Grosell, M. (2002) Physiological impact of salinity increase at organism and red blood cell levels in European flounder platichthy flesus. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 274: 159-174.
19. Khajeh, Gh. Peighan, R. (2007) The investigation of some blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in earthen pond. *Journal of veterinary research* 3:197-203.
20. Neter, J., Kutner, M.H., Nachtshein, C.J. and Wasserman, W. (1996) *Applied Linear Statistical Modern*, 4th ed. Irwin, pp: 75-132.
21. Norberg, B., Brown, C.L., Halldorsson, O., Stensland, K. and Björnsson, B.T. (2003) *Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (Gadus morhua)*. *Aquaculture* 229: 451- 467.
22. Pickering, A.D. (1981) *The concept of biological stress*. In: Pickering, A.D. *Stress and Fish*. Academic Press, London, Pp 1-9.
23. Sano, T. (1969) Haematological studies of the culture fishes in Japan 3. Changes in blood constituents with growth of Rainbow trout. *J. Tokyo Univ. Fish*. 46: 78-87.

