

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

- **شهلا خورشیدی:** گروه شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۵۱۶-۴۱۳۳۵
- **حسین خارا*:** گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶
- **محدثه احمدنژاد:** پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۱

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶

چکیده

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اهمیت و ارزش زیادی از نظر کیفیت گوشت، تکثیر و پرورش آسان و همچنین صید ورزشی برخوردار بوده و مهم‌ترین گونه از ماهیان آزاد پرورشی آب شیرین است. این تحقیق به منظور تعیین اثر تنش‌های دمایی روی بعضی فاکتورهای خونی و بافت آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان روی ۳۰۰ عدد ماهی انجام شد. برای این منظور ماهیان با وزن ۳۰ گرم به طور تصادفی انتخاب شده و در ۵ تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) شامل تیمار ۱ (شاهد): دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۳: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۴: دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بالاترین تعداد RBC در تیمار ۱ (شاهد)، بالاترین تعداد WBC در تیمار ۵، بالاترین تعداد هموگلوبین و هماتوکریت در تیمار ۱ (شاهد) و کم‌ترین میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار ۱ (شاهد) وجود داشت ($P < 0/05$). در سایر فاکتورهای خونی (MCV، MCH، MCHC، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). همچنین علائمی مانند مرگ و میر، خونریزی شدید، تخریب سلول‌های کلراید، هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، تحلیل دستگاه پیلا، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکروز سلولی و آنوریکس یا تلاژیکتازی مشاهده گردید. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد برای قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب‌تر می‌باشد. چرا که بالاترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و کم‌ترین میزان کورتیزول و گلوکز در گروه شاهد مشاهده شد.

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

مقدمه

امروزه با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به دستیابی به منابع پروتئینی متنوع و سالم، آبی‌پروری می‌تواند به عنوان یکی از طرق تأمین پروتئین مورد نیاز نقش مهمی را ایفاء کند. از همین‌رو پیش‌بینی می‌شود که در دو دهه آینده، آبی‌پروری نقش به‌سزایی را در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء کند (Bell و Sargent، ۲۰۰۳). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اهمیت و ارزش زیادی از نظر کیفیت گوشت، تکثیر و پرورش آسان و هم‌چنین صید ورزشی برخوردار بوده و مهم‌ترین گونه از ماهیان آزاد پرورشی آب شیرین است (نفیسی‌بهبادی، ۱۳۸۵).

تولید آبزیان از دو منبع آبی‌پروری و صید در پنج دهه اخیر به‌طور مستمر افزایش یافته است. این افزایش مصرف سرانه آبزیان نشان‌دهنده استقبال عمومی مردم جهان می‌باشد (Treves-Brown، ۲۰۱۳). ماهی معمولاً در محیط‌های محصور از جمله استخر و قفس‌های توری پرورش داده می‌شود که برای افزایش تولید در چنین مکان‌هایی نیاز به افزایش تراکم در سطح می‌باشد که در نتیجه عوامل استرس‌زای زیادی بر ماهی تأثیر می‌گذارند (Li و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طور کلی استرس براساس منشاء تولید در ماهیان به سه دسته استرس بیولوژیک، استرس‌های شیمیایی، استرس فیزیکی تقسیم می‌شود (Wedemeyer، ۱۹۶۹). به‌طور کلی، ماهیان استخوانی همانند موجودات خشکی‌زی به دو صورت به استرس پاسخ می‌دهند: الف: فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال که موجب تولید کورتیزول می‌شود. ب: محور اعصاب سمپاتیک-سلول‌های کرومافین که موجب ترشح کاتاکولامین می‌گردد (Iwama و همکاران، ۱۹۹۷). بررسی در مورد انعطاف‌پذیری فیزیولوژیک مثل تحریک محیطی و اندازه‌گیری پروتئین‌های شوک حرارتی و ارتباط اکسیژن مصرفی و دما ثابت کرده که بی‌مهرگان آبی ضمن توانایی احساس حرارت، یک رفتار تنظیمی در برابر تغییر دمای محیط را نشان می‌دهند. با این حال هنوز روشن نشده است که چه تغییراتی در وضعیت محیط و دما باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در این موجودات خونسرد می‌شود (Hofmann و Helmuth، ۲۰۰۱).

خون یکی از مهم‌ترین مایعات زیستی بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. لذا در اختیار داشتن مقادیر طبیعی شاخص‌های خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در بیماری‌های مختلف همواره از ابزار مهم تشخیص در بسیاری از بیماری‌های ماهیان بوده است (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰). شناخت فاکتورهای خونی علاوه بر شناخت فیزیولوژی آبی شاخص مهم و منحصر‌به‌فرد هر

گونه است که آن را از سایر ماهیان متمایز می‌کند. اهمیت این شناخت نه تنها در تشخیص گونه مهم است بلکه از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (Abdel-Tawwab و همکاران، ۲۰۰۵؛ Bahmani و همکاران، ۲۰۰۱).

آبش جزو اولین قسمت‌هایی است که با آب تماس مستقیم دارد و همیشه تحت تاثیر عوامل خارجی موجود در محیط و آب قرار می‌گیرد. این امر آبش را به یکی از حساس‌ترین اندام‌های ماهی تبدیل کرده است (کبریتی و همکاران، ۱۳۸۹). از آنجایی که آبش ماهیان نقش بسیاری در مکانیسم‌های تنظیم یونی برعهده دارد (کوهکن، ۱۳۹۵) یک اندام تنظیم یونی مهم محسوب می‌شود و هم‌چنین به‌عنوان اندام مبادله‌کننده گازهای تنفسی اصلی به‌کار می‌رود (Takabe و همکاران، ۲۰۱۲). ویژگی آبش‌ها، داشتن نواحی سطحی وسیع و تبادل گازی بسیار کارآمد است. تعداد زیادی از تیغه‌های ریز در دو طرف رشته‌های آبش قرار گرفته‌اند و محل‌های اصلی تبادل گاز به‌حساب می‌آیند (Wang و همکاران، ۲۰۱۳). ماهیان در موارد لزوم با افزایش تیغه‌ها و نزدیک‌تر کردن فاصله بین آن‌ها و افزایش طول تیغه‌ها، ناحیه سطحی آبش‌ها را جهت دریافت اکسیژن بیش‌تر افزایش می‌دهند (Bowden و همکاران، ۲۰۱۴). بافت آبش به‌عنوان اندامی که مبادله گازها، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید باز و دفع مواد زائد نیتروژنی را برعهده دارد، به‌دلیل تماس مستقیم با محیط آبی و داشتن لایه اپیتلیال نازک، یکی از اندام‌های هدف برای ایجاد آسیب توسط مواد سمی بوده و اندام مهمی برای مطالعات آسیب‌شناسی بافتی می‌باشد (Farkas و همکاران، ۲۰۱۱). بافت‌شناسی یکی از شاخه‌های علم ریخت‌شناسی است و درباره ساختمان میکروسکوپی سلول‌های سالم، بافت‌ها و اعضای موجود زنده بحث می‌نماید (پوستی و صدیق‌مروستی، ۱۳۷۸). آسیب‌شناسی بافتی روشی مفید برای ارزیابی سلامت آبزیان بوده و اولین نشانه‌های آسیب یا تغییراتی که به‌وسیله آزمایش ساختاری و میکروسکوپی بافت‌های ماهی به‌آسانی قابل تشخیص نیست را نشان می‌دهد (Hao و همکاران، ۲۰۱۳).

تاکنون مطالعاتی درباره اثر تنش‌های دمایی روی فاکتورهای خونی و هیستوپاتولوژیک آبش آبزیان مختلف انجام شده است. در میان اکثر مطالعاتی که درباره تحمل دمایی ماهیان انجام شده است، بر محدوده‌های کشنده، درجه حرارت کشنده اولیه (ILT)، روش‌های گرمایی حاد (CTM) و روش‌های کشنده درازمدت (CLM) تمرکز دارد و معمولاً از روش‌های آماری و روش‌های پویا برای بررسی درجه حرارت نهایی یا نقطه‌ای که ماهی می‌تواند تحمل کند، استفاده می‌کند (Lopez-Olmeda و Sanchez-Vazquez، ۲۰۱۱؛ Mora و Maya، ۲۰۰۶؛ Ford و Beitinger، ۲۰۰۵؛ Rajaguru و

هپارین در یک کلمن حاوی یخ و به دور از تکان‌های شدید به یک آزمایشگاه هماتولوژی معتبر منتقل شدند. برای تهیه سرم، ۱ میلی‌لیتر خون از ماهیان هر تکرار دریافت شد و به مدت دو ساعت در دمای معمولی اتاق قرار گرفت تا منعقد گردد و سپس با سرعت ۳۵۰۰ دور در ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید (Panigrahi و همکاران، ۲۰۰۵). نمونه‌های سرم در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری تمام نمونه‌ها تعداد کل گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد کل گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین (HB)، درصد هماتوکریت (HCT)، MCH، MCV، MCHC، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و آنوزینوفیل‌ها، کورتیزول و گلوکز تعیین شد. شاخص‌های خونی WBC و RBC به وسیله یک پیپت ملانژور سفید برای گلبول سفید و یک پیپت ملانژور قرمز برای گلبول قرمز انجام شد و شمارش با استفاده از محلول رقیق‌کننده Rees و لام نئوبار پیشرفته صورت گرفت (Simmons، ۱۹۹۷).

تعداد گلبول قرمز در میلی‌متر مکعب خون

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

تعداد گلبول سفید در میلی‌متر مکعب خون

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

مقدار هموگلوبین هر نمونه خون به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) با طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد که این کار با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران، بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد. برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. لوله‌ها در داخل میکروسانتریفیوژ (مدل D-78532 Tuttlngen ساخت شرکت Hettrich آلمان) قرار داده شد و به مدت زمان ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پس از اندازه‌گیری فاکتورهای خونی با استفاده از اعداد به‌دست آمده و روابط ریاضی می‌توان شاخص‌های خونی زیر را محاسبه نمود (Klontz، ۱۹۹۴):

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

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

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

تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید به وسیله متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰٪ گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) جهت رنگ‌آمیزی و شمارش انواع گلبول‌های سفید نظیر نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها،

Ramachandran، ۲۰۰۱؛ Beitinger و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعات نشان می‌دهد که آبشش به‌عنوان یک شاخص محرک در مقابل درجه حرارت آب محسوب می‌شود و اولین بافت هدف در آسیب‌های گرمایی است. از طرف دیگر، درجه حرارت بالا باعث واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی و متابولیسم انرژی می‌شود (Flores-Lopes و Thomaz، ۲۰۱۱). تعداد زیادی از مطالعات نیز تاثیر درجه حرارت پایین را بر بقای ماهیان بررسی نموده‌اند. به‌طوری‌که بیان شده است که حداقل دمای حد برای قزل‌آلای رنگین‌کمان حدود ۱ تا ۲ درجه سانتی‌گراد است (Finstad و همکاران، ۱۹۸۸) و در درجه حرارت پایین تغذیه و هضم مختل شده یا رشد ماهیان کند می‌گردد (Belkovskiy و همکاران، ۱۹۹۱). این پژوهش با هدف تعیین اثر تنش‌های دمایی بر فاکتورهای خونی، فاکتورهای استرس و بافت آبشش قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز ۱۳۹۳ در شرکت پرورش ماهی قزل‌آلای درنا واقع در قلعه رودخان در ۲۰ کیلومتری جنوب‌غربی شهر فومن در استان گیلان انجام شد. برای انجام این آزمایش از ۳۰۰ عدد ماهی ۳۰ گرمی استفاده شد. ۱۵ عدد وان به حجم ۵۰ لیتر در کنار یکدیگر قرار داده شد و آب مورد نیاز وان‌ها از آب رودخانه قلعه رودخان تأمین گردید. وان‌ها به‌وسیله پمپ هواده اکسیژن‌رسانی شدند. برای بررسی تنش‌های بالای دمای آب از هیتر و برای دماهای پایین از یخ استفاده شد. پس از آماده‌سازی وان‌ها و رساندن آن‌ها به دماهای موردنظر ماهیان به وان‌ها انتقال یافتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای موردنظر قرار گرفتند. این تحقیق شامل ۵ تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) بود. تیمارها به‌ترتیب شامل تیمار ۱ یا شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۳: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تیمار ۴: دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بودند. هم‌چنین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن و درجه حرارت با استفاده از دستگاه اکسی‌متر (OXI3230B/SET) سه بار در روز و pH با استفاده از دستگاه pHmeter مدل (PH330i/SET) یک بار در روز اندازه‌گیری شدند.

در هر آزمایش، پس از قرار گرفتن ماهیان در دمای موردنظر در سه تکرار در زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت خونگیری و نمونه‌برداری از بافت آبشش صورت گرفت. ماهیان هر تکرار پس از انجام مراحل بی‌هوشی توسط پودر گل میخک، از طریق قطع ساقه‌دمی خونگیری شدند و پس از انتقال به داخل ویال‌های محتوی ماده ضدانعقاد



با توجه به به نتایج به دست آمده، بیش‌ترین مقدار گلبول سفید مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($9700 \pm 854/4$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ سانتی‌گراد (6000 ± 200)، بیش‌ترین مقدار گلبول قرمز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($577666/7 \pm 14189/2$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($434333/3 \pm 7094/6$)، بیش‌ترین مقدار هموگلوبین مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($6/90 \pm 0/2$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($5/17 \pm 0/12$) و بیش‌ترین مقدار هماتوکریت مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($41/67 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد (31 ± 1) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تیمارهای مورد بررسی از نظر تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$) (شکل ۱).

با توجه به نتایج به دست آمده، بیش‌ترین مقدار MCV مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($737/3 \pm 13/05$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($705 \pm 10/54$)، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار MCH مربوط به تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد (120 ± 1 و 118 ± 1) و بیش‌ترین مقدار MCHC مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد (17 ± 0) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد (16 ± 0) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مشخص گردید که تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان MCV و MCH دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند ($P > 0/05$). همچنین با توجه به آزمون کروسکال-والیس مشخص گردید که تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان MCHC دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند ($P > 0/05$) (شکل ۲).

با توجه به نتایج به دست آمده، بیش‌ترین مقدار نوتروفیل مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($37/33 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ سانتی‌گراد (26 ± 1)، بیش‌ترین مقدار لنفوسیت مربوط به تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد ($67 \pm 1/12$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($58/33 \pm 1/16$)، بیش‌ترین مقدار مونوسیت مربوط به تیمار ۴: دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد (4 ± 112) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد (3 ± 0) و بیش‌ترین مقدار ائوزینوفیل مربوط به تیمار ۲: دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد ($1/67 \pm 0/58$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار ۴: دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد ($0/33 \pm 0/58$) می‌باشد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار نوتروفیل و لنفوسیت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0/05$).

لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها به‌روشنی زیگزاگ با استفاده از دستگاه شمارنده دستی انجام شد (Klontz, 1994). سطوح گلوکز و کورتیزول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر تعیین شد (Thrall و همکاران، ۲۰۰۴).

جهت بررسی هیستوپاتولوژیک آبخش ماهیان، در ابتدا به اندازه یک سانتی‌متر از بافت آبخشی را برداشته و در محلول بوئن فیکس کردیم. نمونه‌های فیکس شده توسط الکل ۱-بوتانول با درجات مختلف (۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۶) آبگیری شده و در مرحله بعدی عمل شفاف‌سازی (جایگزینی کلروفرم به جای الکل و جذب چربی بافت) صورت گرفت. پس از شفاف نمودن، نمونه‌های بافت آبخشی به وسیله پارافین مذاب پارافینه و قالب گیری شدند (پوستی و همکاران، ۱۳۸۲؛ بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷). با استفاده از میکروتوم از قالب‌های پارافینه حاوی بافت آبخش برش‌های بافتی به ضخامت ۷ میکرون (Akhundov و Fedorov, 1995) تهیه و برش‌های بافتی به‌روشنی ائوزین-هماتوکسیلین رنگ آمیزی شدند. نمونه بافت‌ها پس از رنگ آمیزی به وسیله میکروسکوپ نوری (مدل N-180M، شرکت NOVEL، چین) مجهز به دوربین (MD130، شرکت OME-TOP system، تایوان) و متصل به کامپیوتر مورد مطالعه قرار گرفتند (حلاجیان و همکاران، ۱۳۹۰).

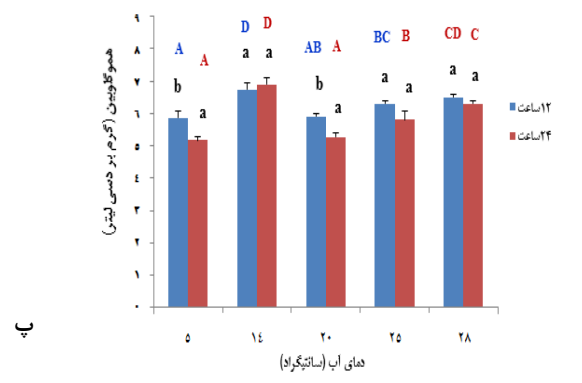
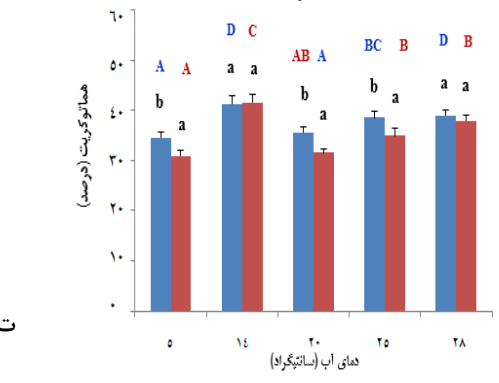
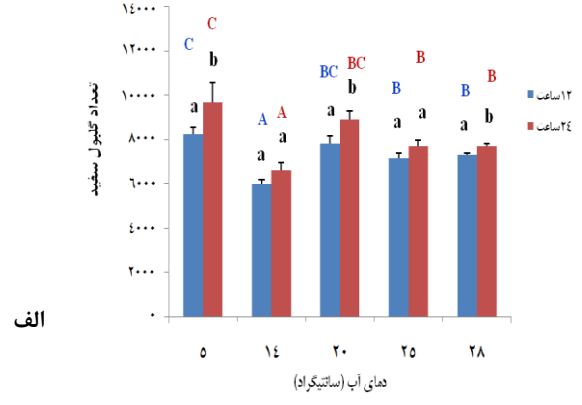
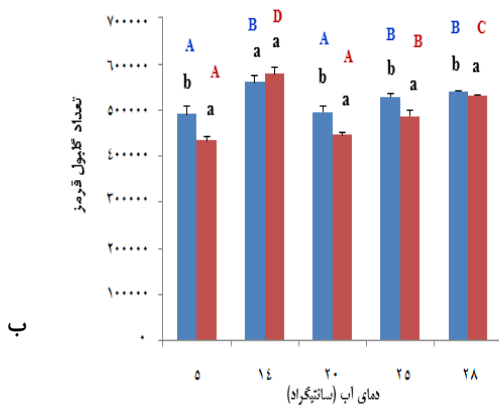
پس از پایان خونگیری و نمونه برداری از بافت آبخش ماهیان، طول کل و وزن کل در تمام تیمارها و تکرارها اندازه‌گیری گردید که برای این کار از خط‌کش مخصوص زیست‌سنجی ۱۵۰ سانتی‌متری و ترازوی دیجیتالی استفاده شد. وزن با دقت ۰/۱ گرم و طول با دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

جهت انجام آنالیزهای آماری نرم‌افزار SPSS ۱۸ مورد استفاده قرار گرفت. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA، تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد و برای بررسی میانگین داده‌های مورد بررسی از آزمون Duncan یا Tukey استفاده شد. در صورت عدم نرمال بودن داده‌ها آزمون کروسکال-والیس و تست Mann-whitney مورد استفاده قرار گرفت. همچنین جداول و نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ رسم شدند.

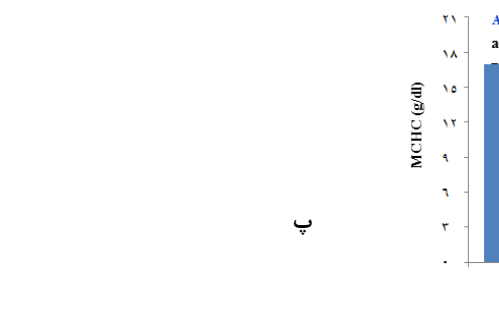
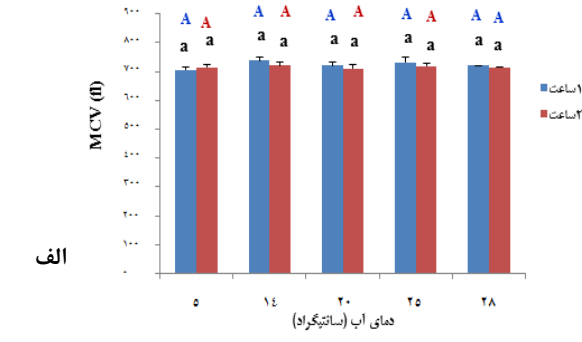
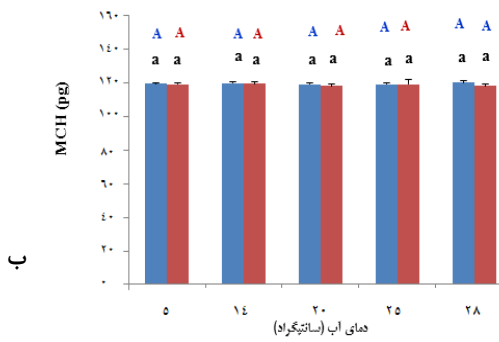
نتایج

در دمای بالا ماهیان ناآرام شده، میزان تنفس افزایش یافته و نزدیک به سطح آب جمع می‌شدند. در میان ۳۰۰ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه ۵۷ عدد تلفات مشاهده شد. بنابراین تلفات برابر با ۱۹٪ و بازماندگی برابر با ۸۱٪ می‌باشد. این تلفات تنها در تیمار ۲ و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد روی داده و مابقی تیمارها بدون تلفات می‌باشند.





شکل ۱: الف: روند تغییرات تعداد گلبول سفید در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات تعداد گلبول قرمز در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ج: روند تغییرات هموگلوبین در دما و زمان‌های متفاوت، د: روند تغییرات هماتوکریت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری. حروف A, B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a, b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.



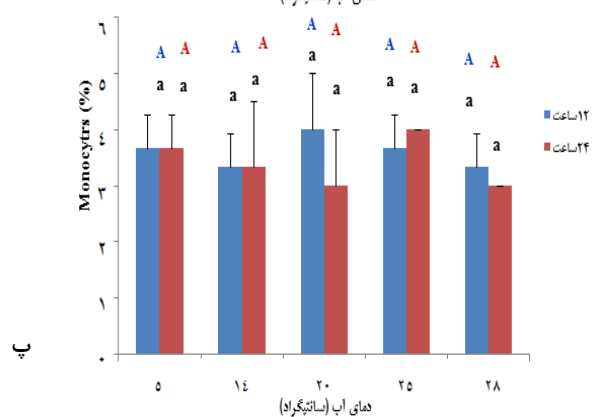
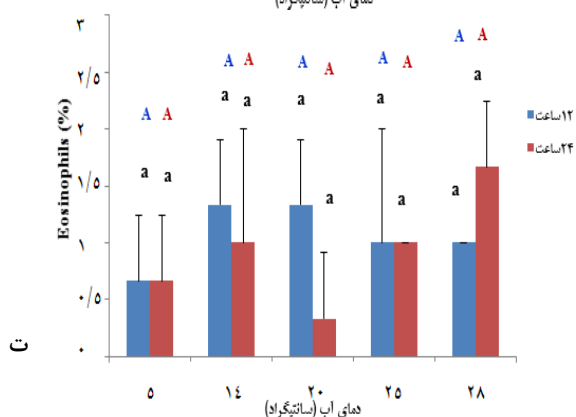
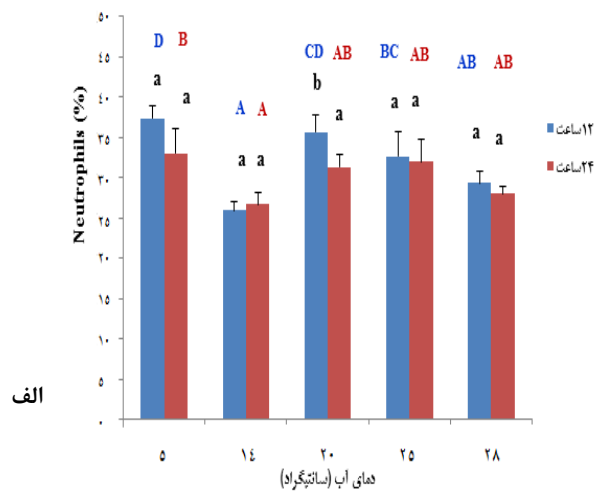
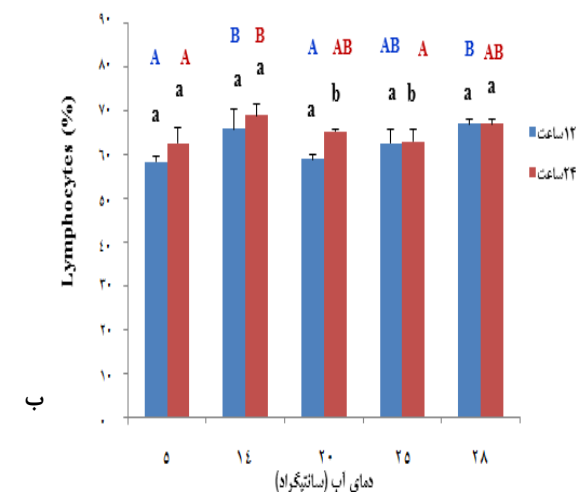
شکل ۲: الف: روند تغییرات MCV در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات MCH در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ج: روند تغییرات MCHC در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری.

حروف A, B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a, b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.



معنی‌دار نمی‌باشند ($P > 0.05$) (شکل ۳).

همچنین با توجه به آنالیز واریانس یک‌طرفه تیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار مونوسیت و نئوتروفیل دارای اختلاف



شکل ۳: الف: روند تغییرات نئوتروفیل در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات لنفوسیت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری،

پ: روند تغییرات مونوسیت در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ج: روند تغییرات نئوتروفیل در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری

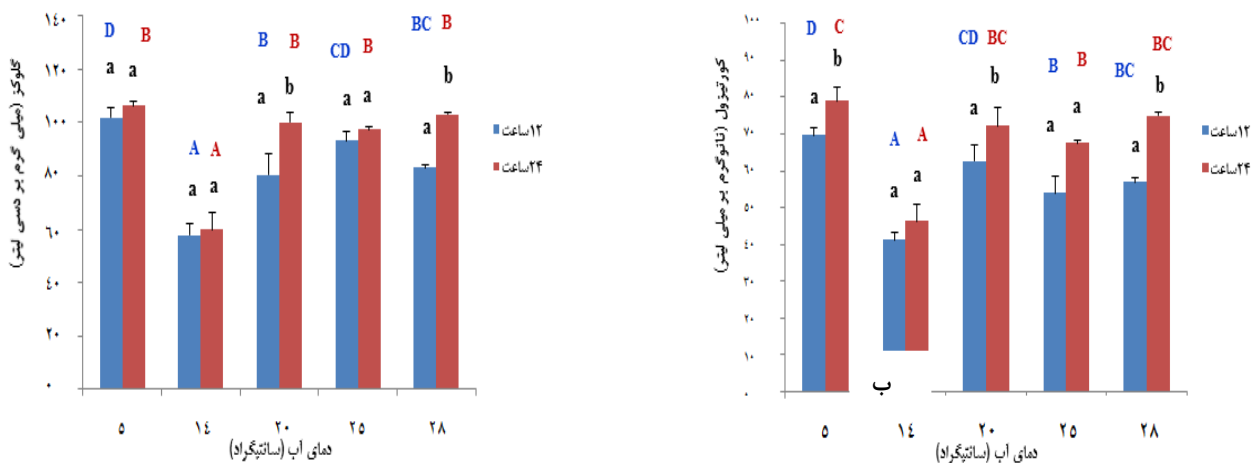
حروف A, B, و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a, b و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.

نکروز در لاملاها و در تیمار ۵ (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) و تیمار شاهد آنوریسم نوک لاملا مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد که در تیمار شاهد بیش‌ترین علائم کلینیکی، در تیمار ۳ خونریزی شدید و در تیمار ۲ (دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد) تخریب سلول‌های کلراید وجود داشته است. به‌طور کلی در آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان عوارضی از قبیل هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، خونریزی، تحلیل دستگاه پیلا، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکروز سلولی و آنوریسم یا تانژیکتازی مشاهده شد.

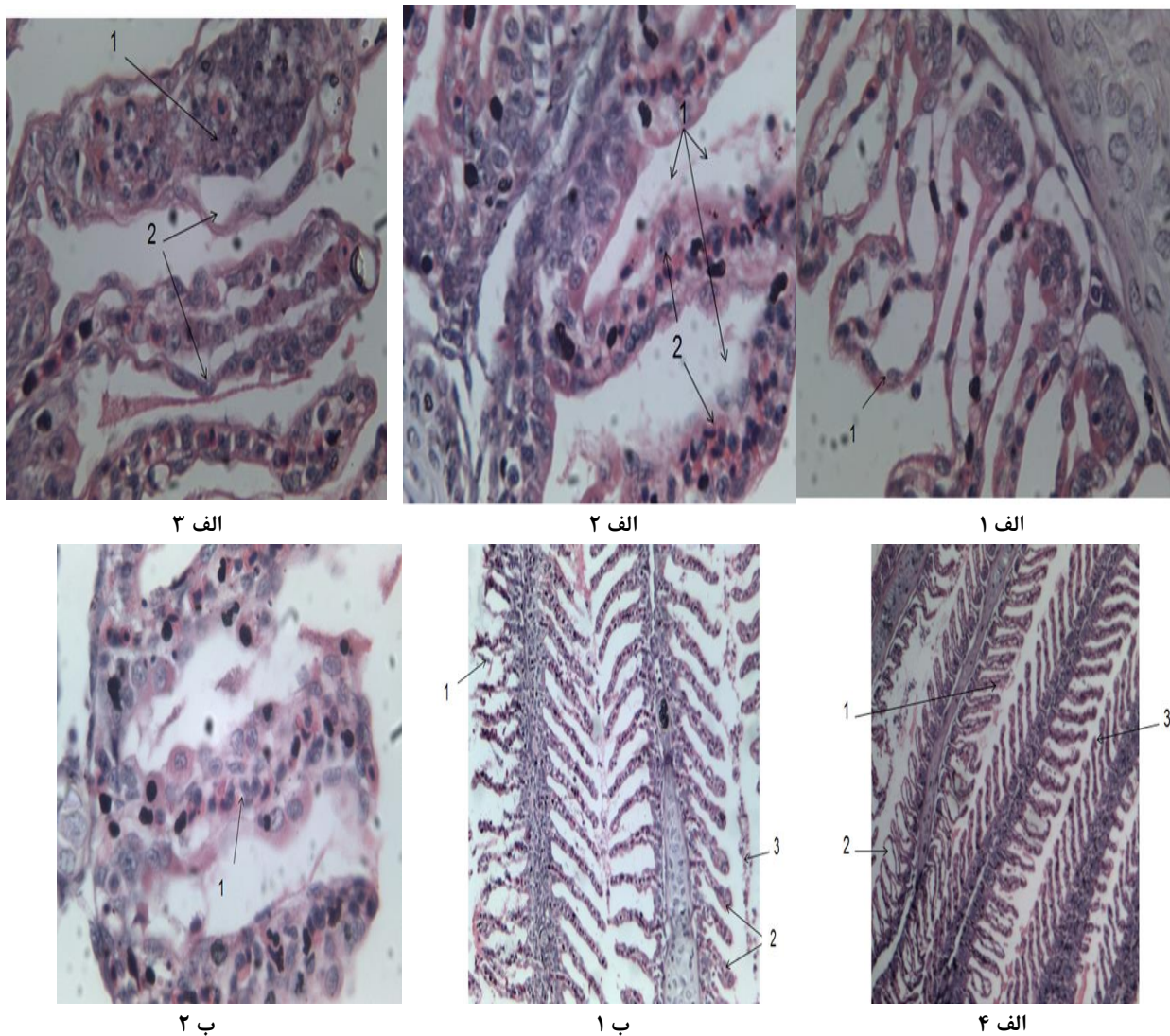
با توجه به به نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین مقدار کورتیزول مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($79 \pm 3/61$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($41/33 \pm 2/08$) و بیش‌ترین مقدار گلوکز مربوط به تیمار ۵: دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ($106/33 \pm 1/53$) و کم‌ترین نیز مربوط به تیمار شاهد: دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ($57/67 \pm 4/73$) می‌باشد. با توجه به آزمون کروسکال والیس تیمارهای مورد بررسی از نظر مقدار کورتیزول و گلوکز خون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$) (شکل ۴).

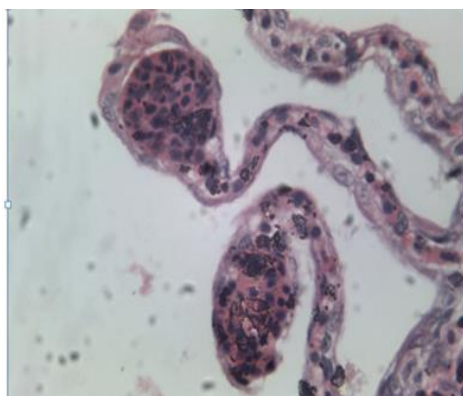
نتایج مطالعه هیستوپاتولوژیک آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که شوک حرارتی روی تیمار ۲ تاثیر گذاشته و در زمان ۲۴ ساعت ۶۰٪ مرگ و میر مشاهده شد. در تیمار ۴ (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) علائم نکروز، در تیمار ۳ (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد)



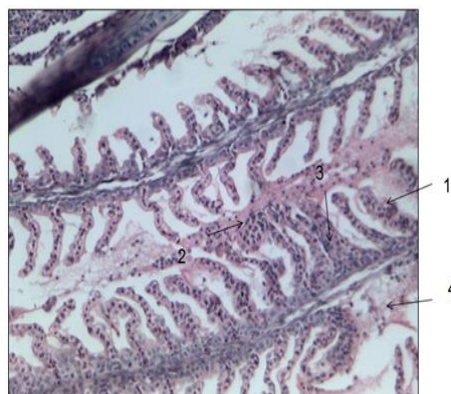


شکل ۴: الف: روند تغییرات کورتیزول در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، ب: روند تغییرات گلوکز در دما و زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری. حروف A, B و ... بیانگر اختلاف معنی‌دار در یک زمان بین دماهای مختلف و حروف a, b, ... بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر یک از دماها در زمان‌های مختلف می‌باشد.



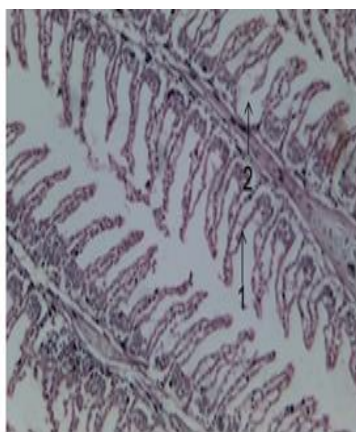


ج

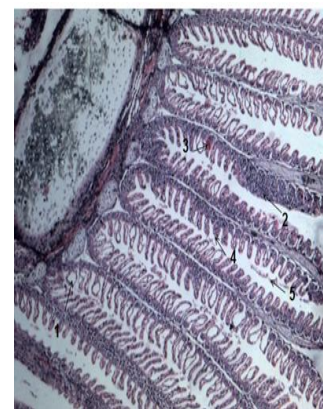
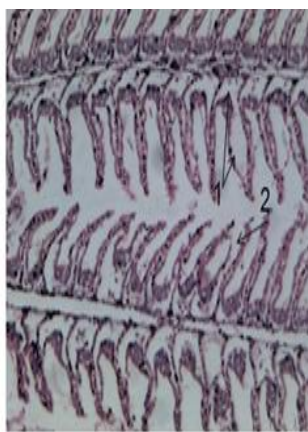


پ

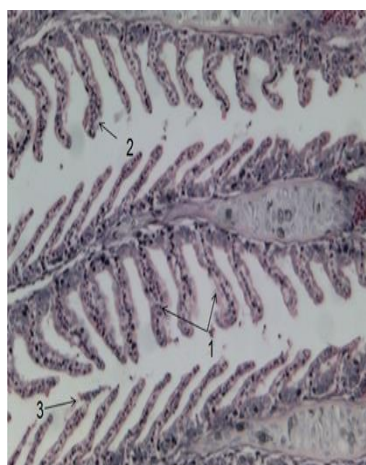
شکل ۵: مقطع آبخش در طی ۱۲ ساعت. الف ۱: تیمار شاهد (جدا شدن اپیتلیوم لاملا)، الف ۲: تیمار شاهد (۱- هایپرپلازیای اپیتلیوم لاملا، ۲- هایپر تروفی و پاره شدن اپیتلیوم لاملا، ۲- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا)، الف ۳: تیمار شاهد (۱- هایپرپلازیای اپیتلیوم لاملا، ۲- جدا شدن اپیتلیال لاملایی)، الف ۴: تیمار شاهد (۱- هایپرپلازیای اپیتلیوم لاملا، ۲- جدا شدن اپیتلیوم لاملایی، ۳- پیچ خوردگی انتهای لاملا)، ب ۱: تیمار ۲ (۱- جدا شدن اپیتلیال لاملا و تخریب و پارگی اپیتلیال لاملا، ۲- ادم اپیتلیال لاملا، ۳- خونریزی)، ب ۲: تیمار ۲ (۱- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا)، ب ۳: تیمار ۳ (۱- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا، ۲- پارگی لاملا و خونریزی، ۳- جوش خوردن لاملا، ۴- نکروز)، ج: تیمار ۵ (۱- تحلیل دستگاه پیلار و افزایش خون در لاملا، ۲- گریزش شکل شدن نوک لاملا) (رنگ آمیزی اتوزین-هماتوکسیلین، $\times 40$ و $\times 100$ و $\times 400$).



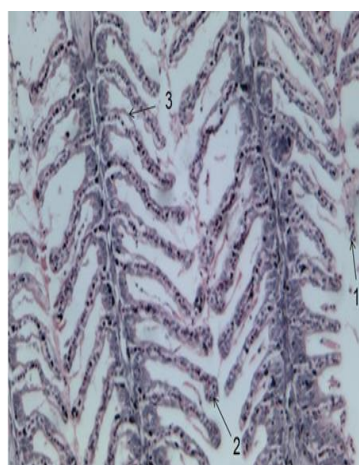
الف ۲



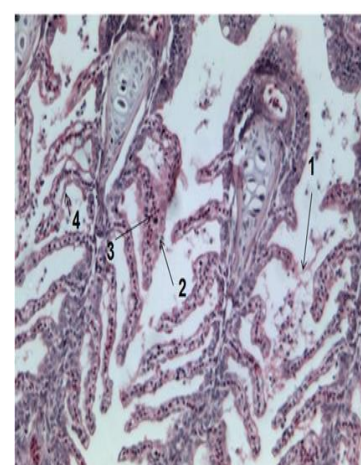
الف ۱



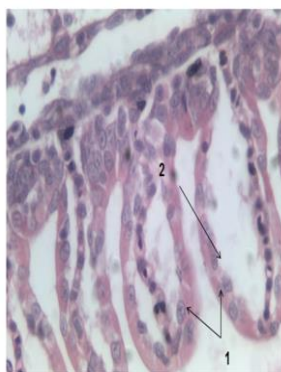
پ ۲



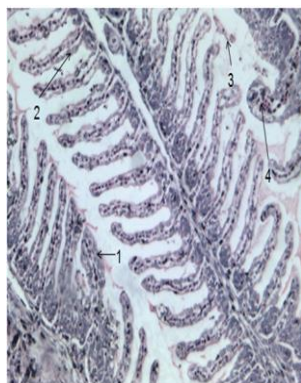
پ ۱



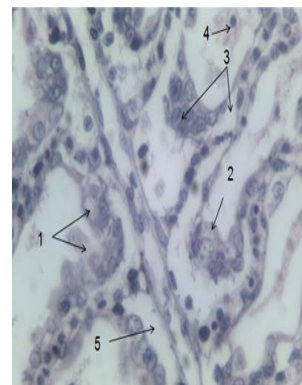
پ



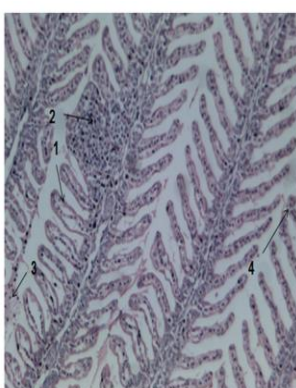
۱د



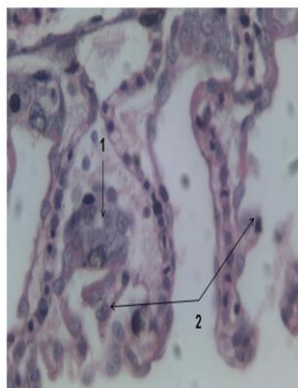
۲ج



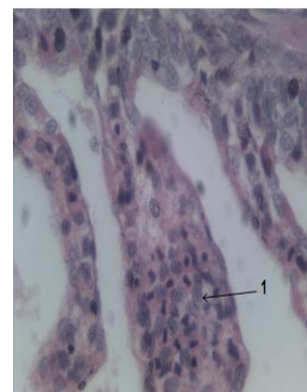
۱ج



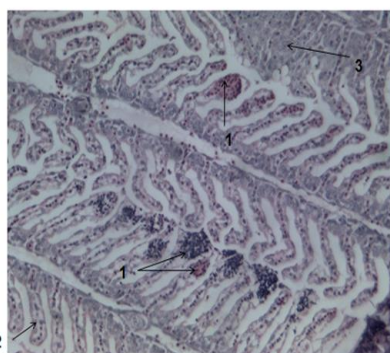
۴د



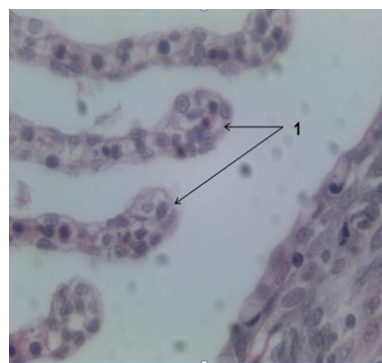
۳د



۲د



۶د



۵د

شکل ۶: مقطع آبخش در طی ۲۴ ساعت. الف: ۱: تیمار شاهد (۱- جداشتن اپیتلیال لاملا، ۲- چسبیدن لاملاها به همدیگر، ۳- آنوریسیم، ۴- هایپرپلازی، ۵- خونریزی)، الف: ۲: تیمار شاهد (سمت راست: ۱- جداشتن اپیتلیال لاملا، پارگی در اپیتلیوم لاملا، سمت چپ: ۱- جداشتن اپیتلیال لاملا و فیلامنت، ۲- پارگی در اپیتلیوم لاملا)، ب: تیمار ۲ (۱- خونریزی، ۲- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیوم لاملا، ۳- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، ۴- جداشتن اپیتلیال لاملا)، پ: تیمار ۳ (۱- خونریزی، ۲- پیچ‌خوردگی نوک لاملا، ۳- جداشتن اپیتلیال لاملا)، پ: تیمار ۳ (۱- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیوم لاملا، ۲- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، ۳- جداشتن اپیتلیال لاملا، ج: تیمار ۴ (۱- علائمی از نکروز، ۲- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های کلراید، ۳- جداشتن اپیتلیال لاملا و فیلامنت، ۴- خونریزی، ۵- از بین رفتن اپیتلیال سنگفرشی فیلامنت)، ج: تیمار ۴ (۱- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیال، ۲- جداشتن اپیتلیال لاملا، ۳- خونریزی، ۴- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا)، د: تیمار ۵ (۱- هایپرتروفی یا ادم در سلول‌های اپیتلیال لاملا، ۲- جداشتن اپیتلیال لاملا)، د: تیمار ۵ (۱- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا)، د: تیمار ۵ (۱- تخریب اتصالات سلولی و جداشتن اپیتلیال فیلامنت، ۲- تخریب اتصالات سلول‌های اپیتلیالی لاملا و تغییر شکل آن)، د: تیمار ۵ (۱- جداشتن اپیتلیال لاملا، ۲- اتصال لاملاها بهم، ۳- خونریزی، ۴- خوردگی و تغییر فرم نوک لاملا)، د: تیمار ۵ (۱- پیچ‌خوردگی و تغییر فرم نوک لاملا)، د: تیمار ۶ (۱- تحلیل دستگاه پیلا و پرخونی در لاملا، لاملاهای گریزی‌شکل، ۲- جداشتن اپیتلیال لاملا، ۳- اتصال لاملاها بهم) (رنگ‌آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین، $\times 40$ ، $\times 100$ و $\times 400$).

بحث

دما یکی از فاکتورهای کلیدی در کنترل فرآیندهای بیولوژیکی تمامی موجودات بالاخص موجودات خونسرد است. دما در سطح سلولی با افزایش یا کاهش فرآیند کاتالیزوری آنزیم‌های متابولیکی و هضمی عمل می‌کند (Garcia Esquivel و همکاران، ۲۰۰۷). در ماهیان سازش‌های دمایی عموماً با تغییرات متابولیکی تعیین می‌گردد که در طی آن یک مرحله آغازین استرس دمایی وجود دارد و پس از آن با یک جبران تدریجی همراه است. تغییرات در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مانند گلوکز خون می‌تواند به‌عنوان یک شاخص استرس در نظر گرفته شود (Santos و Pacheco، ۱۹۹۶). آنالیز خون‌شناسی و شیمی‌بالینی، اگرچه اغلب در امور پزشکی ماهی استفاده نمی‌شود، می‌تواند اطلاعات تشخیصی قابل توجهی را ارائه دهد. مطالعات نشان داده‌اند که زمانی که کیفیت آب تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف است، هر گونه تغییر فیزیولوژیکی در مقادیر یک یا چند پارامتر خونی منعکس خواهد شد (Van Vuren، ۱۹۸۶).

با اندازه‌گیری پارامترهای خونی در طول تحقیق حاضر، مشخص گردید که در برخی شاخص‌ها اثر دما بر این پارامترها معنی‌دار بوده اما در برخی پارامترهای دیگر اثر پیش‌بینی‌شده ملاحظه نگردید. در مطالعه حاضر بالاترین تعداد گلبول قرمز (RBC) در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده گردید که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. درحالی‌که اختلاف معنی‌دار آماری در تعداد گلبول سفید (WBC) در تیمار ۵ در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد و در تعداد هموگلوبین و هماتوکریت اختلاف معنی‌داری در تیمار ۱ (شاهد) با سایر تیمارها وجود داشت. در سایر فاکتورهای خونی (MCV، MCH، MCHC، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. براساس مطالعات هماتولوژی، پیش‌بینی حالت فیزیولوژیکی ماهیان در آب‌های طبیعی ممکن می‌باشد. مطالعات هماتولوژی در ماهیان استخوانی نشان داده‌اند که مقادیر هماتوکریت ممکن است به‌عنوان یک شاخص کلی سلامت ماهی مفید باشد، از آنجایی‌که به ماهیان غذایی با مقادیر آهن داده می‌شود و یا این‌که ماهیان در معرض کم‌خونی قرار دارند، همگی دارای مقادیر هماتوکریت (HCT) کاهش یافته می‌باشند (Taylor و Wilson، ۱۹۹۳). مطالعات هماتولوژی بیان می‌کنند که گلبول‌های قرمز شاخصی مهم و قابل اعتماد از منابع مختلف استرس هستند (Rainza- Paiva و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعه روی ماهی کپور نشان‌دهنده تحمل خوب گونه‌ها به طیف دمایی متنوع است. پاسخ‌های خونی مشاهده‌شده نشان می‌دهد که طیف دمایی به‌کار گرفته‌شده روی ماهی کپور به‌عنوان یک عامل استرس‌زا

عمل می‌کند. نتایج نشان داد که ماهی کپور معمولی پاسخ استرس را نسبت به شوک سرمایی و گرمایی نشان می‌دهد. با این‌حال، باوجود عدم تغییر در شاخص‌های هماتولوژی خون نسبت به درجه حرارت، پاسخ‌های متابولیک متمایز بودند. شوک سرمایی نسبت به شوک گرمایی برای کپور معمولی پر استرس‌تر بود. می‌توان نتیجه گرفت که نتیجه حاضر می‌تواند تا حدی توانایی ماهی کپور برای مقاومت در برابر طیف گسترده‌ای از دماهای محیطی را توضیح دهد (Bozorgnia و همکاران، ۲۰۱۱). اثرات حاد دماهای مختلف در پارامترهای خون ماهی کپور معمولی نشان داد که غلظت هماتوکریت توسط دماهای مختلف آب تغییر نیافت (Bozorgnia و همکاران، ۲۰۱۱؛ Houston و Cry، ۱۹۷۴). بررسی روی ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) افزایش در سطوح هماتوکریت را در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد. این مشاهدات تایید کرد که این ماهی به دمای بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول فصل زمستان سازگارتر است. مقدار هموگلوبین نیز در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری نداشت (Cho و همکاران، ۲۰۱۵). نتیجه مطالعات نشان داده است که با افزایش دما سطوح RBC نیز افزایش می‌یابد. زمانی که فعالیت اکسیژن در دمای افزایش‌یافته منطبق با کاهش RBC باشد، در نتیجه بدن برای جبران این کاهش، تعداد گلبول‌های قرمز را در خون افزایش می‌دهد. بنابراین سطح MCV در خون کاهش می‌یابد. سطوح هموگلوبین با مقادیر RBC مرتبط است. زمانی که تعداد گلبول‌های قرمز در خون افزایش می‌یابد سطوح هموگلوبین نیز افزایش می‌یابد. مقدار گلبول سفید یکی از شاخص‌های مهم سلامت یا بیماری در ماهیان می‌باشد. زمانی که دما افزایش یافت مقدار گلبول سفید در خون افزایش می‌یابد (Bozorgnia و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از این تحقیق روی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که پس از انجام تنش‌های دمایی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها در شرایط مختلف دمایی از نظر مقدار کورتیزول وجود دارد و کم‌ترین میزان کورتیزول در شرایط نرمال، در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده گردید. مقدار کورتیزول در پاسخ به عامل استرس‌زا در پلاسمای خون افزایش یافته و غلظت آن از جمله شاخص‌های مناسب در ارزیابی پاسخ ماهیان نسبت به استرس محسوب می‌گردد (Fevolden و همکاران، ۲۰۰۲؛ Carrick و Pottinger، ۲۰۰۱). کورتیزول تأثیرات قابل توجهی را نیز در تجزیه ذخایر انرژی در طول مدت بروز استرس دارا می‌باشد (Ruane و همکاران، ۲۰۰۲). سطوح کورتیزول و گلوکز شاخص‌های کلی استرس در ماهیان هستند (Pacheco و Santos، ۲۰۰۱).



مطالعه روی *Ictalurus melas* نشان داد که مقادیر قند خون در ارتباط با دوره‌های فصلی (بهار و پاییز) دارای تفاوت معنی‌داری بین فصول نبود، اما با افزایش دمای آب، کاهش یافت (Ottolenghi و همکاران، ۱۹۹۵). هم‌چنین مطالعه روی گربه ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) نشان داد که در دمای بالاتر میزان بیش‌تر گلوکز (هایپرگلیسمی) و در دمای پایین‌تر، میزان کم‌تر گلوکز (هیپوگلیسمی) وجود دارد (Lermen و همکاران، ۲۰۰۴). پژوهش روی ماهی گورامی عظیم‌الجثه (*Osphronemus goramy*)، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای دمایی از لحاظ میزان گلوکز پلاسما بود. این مسئله می‌تواند هم‌چنین نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت در شرایط استرس‌زا برای این گونه در محدوده دمایی موردبررسی باشد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۰). سطوح بالای گلوکز خون در دماهای پایین نشان‌دهنده سوخت و ساز کند و هم‌چنین شاخص زیرکشنده استرس است (Best و همکاران، ۲۰۰۱). Cho و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول زمستان برای ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) پر استرس‌تر می‌باشد. علاوه‌براین، در این ماهی گلوکز شاخص بهتری نسبت به کورتیزول بود. بررسی اسلایدهای تهیه شده از بافت آبشش نشان می‌دهد که شوک حرارتی روی تیمارها چه در دمای بالا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و چه در دمای پایین ۵ درجه سانتی‌گراد وجود دارد و این دماها مزید بر علت شده تا علائمی را مشاهده کرد. علائم ظهوریافته از بافت در همه تیمارها وجود دارد و کم و زیاد بودن علائم است که تفاوت ایجاد می‌نماید. نتایج مطالعه حاضر علائمی مانند مرگ و میر، خونریزی شدید، تخریب سلول‌های کلراید، هایپرتروفی یا ادم سلول‌های اپیتلیوم، تحلیل دستگاه پیلا، تحلیل سلول‌های اپیتلیال، نکروز سلولی و آنورسم یا تلانژیکتازی را نشان داد. مطالعات نشان می‌دهد که هیستوپاتولوژی نشانگر مفیدی برای آلودگی‌های زیست‌محیطی می‌باشد. پاسخ‌های ماهیان به استرس‌های دمایی نشان می‌دهد که تغییرات فیزیکی به اندازه کافی شدید خواهد بود که منجر به تغییرات ساختاری در سطح بافت، بخصوص در زمان افزایش و کاهش درجه حرارت آب شود (Saber، ۲۰۱۱). Saber (۲۰۱۱) در بررسی اثر تغییرات دمایی روی بافت آبشش کپور (*Cyprinus carpio*) وجود هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های لاملا، آتروفی سلولی، جمع‌شدن خون و خونریزی، ترکیب‌شدن لاملا و آسیب به لاملا را مشاهده کرد. این تغییرات می‌تواند با افزایش در فعالیت اندام‌هایی که در معرض محیط درحال تغییر هستند، فاصله انتشار ناشی از آب اطراف به مویرگ‌ها و در برخی مواقع افزایش در مقدار بافت (گلبول‌های خون) در فضاهای خونی لاملائی ثانویه مرتبط باشد (Saber، ۲۰۱۱)؛

بررسی ماهی هامور خال قرمز (*Epinephelus akaara*) نشان داد که بین تیمارهای دمایی مختلف هیچ‌گونه اختلافی در سطوح کورتیزول وجود ندارد (Cho و همکاران، ۲۰۱۵). هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از مطالعه گربه‌ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) نشان داد که سطح کورتیزول پلاسما در هر دو تیمار حاد و مزمن بدون تغییر باقی ماندند (Lermen و همکاران، ۲۰۰۴). Chen و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند که غلظت کورتیزول پلاسما در ماهی کپور معمولی تنها پس از مواجهه حاد با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش یافته است، درحالی‌که در آزمایش مزمن، غلظت کورتیزول به سطوح مشابه با گروه شاهد بازگشت. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر تا حدودی مشابهت دارد. به‌طوری‌که در مطالعه حاضر نیز در تمامی تیمارها به‌جز تیمار شاهد که دمایی نامطلوب بروز کرده، مقدار کورتیزول افزایش یافت.

نتایج حاصل از این تحقیق روی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از انجام تنش‌های دمایی نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد و کم‌ترین میزان گلوکز در شرایط نرمال، در تیمار ۱ (شاهد) و بیش‌ترین میزان گلوکز در تیمار ۵ در دمای ۵ مشاهده گردید. این نتیجه بیانگر این نکته می‌باشد که گلوکز می‌تواند نقش موثری در مقابله با تنش ایفا نماید. بروز استرس در ماهیان می‌تواند موجب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و تغییراتی در ترکیبات خون مانند هایپرگلیسمی در نتیجه افزایش میزان گلوکز خون شود. تغییرات در این ترکیب می‌تواند به‌عنوان پارامتری مهم برای ارزیابی سلامت ماهی مورد استفاده قرار گیرد (Affonso و همکاران، ۲۰۰۷). تغییر در میزان گلوکز خون می‌تواند نشانه‌ای از استرس و یا آلودگی‌های محیطی باشد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۰). Chen و همکاران (۱۹۹۵) معنی‌دار بودن رابطه بین افزایش قند خون ماهی و استرس حرارتی را گزارش نموده‌اند. هم‌چنین Wendelaar Bonga (۱۹۹۷) بیان نمود که هایپرگلیسمی یک پاسخ معمول به استرس حاد در ماهیان است. بنابراین می‌توان بیان نمود که نتایج دو مطالعه فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. مطالعه روی گربه ماهی نقره‌ای نشان داد که این ماهی تحت‌تأثیر شرایط سرد، گلوکز را ذخیره کرده، درحالی‌که در آب گرم، مصرف گلوکز محتمل است (Lermen و همکاران، ۲۰۰۴). Joshi و Tandon (۱۹۷۴) گزارش کردند که سطوح گلوکز سرم در گونه *Clarias batrachus* با کاهش دما افزایش می‌یابد. بالاترین سطح گلوکز خون در طول زمستان و پایین‌ترین سطح در طول تابستان مشاهده شد و با کاهش درجه حرارت در ارتباط است.

ثانویه آبششی ممکن است نشان دهد که کاهش درجه حرارت، باعث اختلال در کارایی تبادل گازی آبشش شود (Ayoola, 2008a, Ayoola, 2008b؛ Fagr و Hossam, 2007).

در نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد با توجه به نتایج به دست آمده از اثرات طولانی مدت دما روی شاخص‌های خونی و هیستوپاتولوژیک آبشش قزل‌آلا، دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد، دمای مناسب و مطلوبی برای پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌شمار می‌رود. چرا که بالاترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و کم‌ترین میزان کورتیزول و گلوکوز در گروه شاهد مشاهده گردید. نتایج بافت‌شناسی نیز نشان‌دهنده بروز آسیب بافتی در دماهای متفاوت می‌باشد. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که مشابه این مطالعه روی سایر ماهیان دارای ارزش اقتصادی و پرورش انجام شود.

تشکر و قدردانی

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

منابع

۱. ابراهیمی، م.ح.؛ ایمان‌پور، م.ر. و عدلو، م.ن.، ۱۳۹۰. اثرات دما بر رشد، بازماندگی و بعضی فاکتورهای خونی در ماهی گورامی عظیم الجثه (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۵، صفحات ۶۴۸ تا ۶۵۴.
۲. بهمنی، م. و کاظمی، ر.، ۱۳۷۷. مطالعه بافت‌شناسی روی گناد تاسماهیان پرورشی جوان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱، صفحات ۱ تا ۱۶.
۳. پوستی، ا. و صدیق‌مروستی، م.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی - اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی. تالیف تاکاشی هایبیا. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۳۱ صفحه.
۴. پوستی، آ.؛ ادیب‌مرادی، م. و فضیلی، آ.، ۱۳۸۲. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و تکنیک‌های بافت‌شناسی. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۴۶ صفحه.
۵. حلاجیان، ع.؛ کاظمی، ر.؛ محسنی، م.؛ دژندیان، س.؛ یوسفی جوردی، آ.؛ بهمنی، م.؛ پوردهقانی، م.؛ یزدانی، م.ع. و یگانه، ه.، ۱۳۹۰. تکه‌برداری به روش جراحی و مطالعه بافت‌شناسی گناد تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. شماره ۳، صفحات ۲۲۹ تا ۲۳۳.
۶. شاهشونی، د.؛ وثوقی، غ.ح. و خضرای‌نیا، پ.، ۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری انگشت‌قد

Ayoola, 2008a, Ayoola, 2008b, Antonio و همکاران، ۲۰۰۷؛ Olojo و همکاران، ۲۰۰۵). یک ویژگی بارز در درجه حرارت بالا، هایپرپلازی و هایپرتروفی سلولی می‌باشد (Saber, 2011). تغییرات در تیغه‌های آبششی می‌تواند در افزایش فاصله انتشار آب اطراف به مویرگ‌ها و به‌طور هم‌زمان افزایش مقدار بافت در تیغه‌های ثانویه و اختلال انتشار اکسیژن از طریق اپیتلیوم متورم شرکت کند (Bhagwant و Elahee, 2002). زمانی که ماهی دچار نوع شدیدی از استرس می‌باشد، در آبشش جمع‌شدن خون اتفاق افتاده، که ممکن است تغییراتی در رگ‌های خونی نیز رخ دهد. در این حالت، سلول‌های پیلاز آسیب دیده می‌توانند منجر به ایجاد یک جریان خونی زیاد در داخل تیغه شوند، که باعث اتساع کانال حاشیه‌ای، جمع‌شدن خون و یا حتی یک آنوریسیم می‌شود (Martinez و همکاران، ۲۰۰۴؛ Rosety-Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۲؛ Takashima و Hibiya, 1995). پارگی اپیتلیوم آبششی می‌تواند سبب خونریزی شود، این ضایعه می‌تواند به‌عنوان تفسیری از یک جراحت مستقیم از عامل حرارتی روی بافت باشد (Temminck و همکاران، ۱۹۸۳). حضور حفره مملو از موکوس در رشته‌های آبششی کپور ممکن است به‌عنوان یک تله یونی برای تمرکز عناصر کمیاب از آب اطراف و کمک به چسبندگی سلولی بین تیغه‌های ثانویه مجاور در نظر گرفته شود (Tao و همکاران، ۲۰۰۰). این عمل ممکن است به‌منظور حفاظت سلول‌های اپیتلیوم در مقابل سایش مکانیکی و عفونت به‌کار رود (Olson و Fromm, 1973). در درجه حرارت پایین، آبشش ضایعاتی شبیه به ضایعات درجه حرارت بالا مانند هایپرپلازی سلول‌های لاملاری، خونریزی بین تیغه‌های ثانویه آبششی، و هم‌چنین ادغام جزئی برخی از تیغه‌های ثانویه که مثالی از مکانیسم‌های دفاعی است را نشان می‌دهد (Camargo و Martinez, 2007). هم‌جوشی لاملار ثانویه ممکن است به‌عنوان یک نتیجه نهایی از هایپرپلازی لاملار باعث یک هم‌جوشی در بسیاری یا تمام مویرگ‌های لاملاری در داخل اپیتلیوم هایپرپلازی شود. با این حال، معمولاً، سطح گسترش کم است، اما به دلیل تغییرات در قوام موکوسی با از دست دادن خواص مواد فعال در سطح، تیغه‌های ثانویه انفرادی ممکن است به‌صورت مرکزی به هم بچسبند. این پاسخ به همراه تعدادی از محرک‌ها مانند عفونت انگلی تک‌یاخته‌ای (Goldes و همکاران، ۱۹۸۸)، اثرات مزمن آلومینیوم (باران اسیدی) در قزل‌آلای قهوه‌ای و کاهش درجه حرارت رخ می‌دهد (Saber, 2011؛ Karlsson-Norrgren و همکاران، ۱۹۸۶a؛ Karlsson-Norrgren و همکاران، ۱۹۸۶b). از سوی دیگر، انقباض عروق خونی آبششی و آتروفی سلولی ممکن است به‌علت شرایط نامساعد محیطی مانند کاهش سطح آب و محتوای اکسیژنی نسبتاً کم در ارتباط با دمای پایین آب باشد (Chandra, 1987). آسیب‌وارده به برخی تیغه‌های



- elevated temperatures. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 175, pp: 64-71.
۲۳. **Bozorgnia, A.; Hosseinifard, M. and Alimohammadi, R., 2011.** Acute Effects of Different Temperature in the Blood Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). 2nd International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE vol. 6, IACSIT Press, Singapore. pp: 52-55.
 ۲۴. **Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R., 2007.** Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*. Vol. 5, No. 3, pp: 327-336.
 ۲۵. **Chandra, K.J., 1987.** Fish health monitoring and control of disease. In training manual of training on integrated farming to the upazila fisheries officer. DOF, Bang. Vol. 1, 155 p.
 ۲۶. **Chen, G.R.; Sun, L.T.; Lee, Y.H. and Chang, C.F., 1995.** Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. *J Appl Aquaculture*. Vol. 5, pp: 21-31.
 ۲۷. **Cho, C.H.; Kim, J.E.; Kim, H.B. and Baek, H.J., 2015.** Effects of Water Temperature Change on the Hematological Responses and Plasma Cortisol Levels in Growing of Red Spotted Grouper, *Epinephelus akaara*. *Development and Reproduction*. Vol. 19, No. 1, pp: 19-24.
 ۲۸. **Farkas, J.; Christian, P.; Gallego-Urrea, J.A.; Roos, N.; Hasselov, M.; Tollefsen, K.E. and Thomas, K.V., 2011.** Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquat. Toxicol*. Vol. 101, pp: 117-125.
 ۲۹. **Fevolden, S.E.; Røed, K.H. and Fjalestad, K.T., 2002.** Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture*. Vol. 205, pp: 61-75.
 ۳۰. **Finstad, B.; Staurnes, M. and Reite, O.B., 1988.** Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*. Vol. 72, pp: 319-328.
 ۳۱. **Flores-Lopes, F. and Thomaz, A.T., 2011.** Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazilian Journal of Biology*. Vol. 71, pp: 179-188.
 ۳۲. **Ford, T. and Beitinger, T.L., 2005.** Temperature Tolerance in the Goldfish, *Carassius auratus*. *J. Therm. Biol*. Vol. 30, No. 2, pp: 147-152.
 ۳۳. **Garcia Esquivel, Z.; Magallon, S.M. and Gonzales Gomez, A.M., 2007.** Effect of temperature and photoperiod on the growth, feed consumption, and biochemical content of juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*, fed on a balanced diet. *Aquaculture*. Vol. 262, pp: 129-141.
 ۳۴. **Goldes, S.A.; Ferguson, H.W.; Moccia, R.D. and Daoust, P.Y., 1988.** Histological effects of the inert suspended clay kaolin on the gills of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish Dis*. Vol. 11, pp: 23-34.
 ۳۵. **Hao, L.; Chen, L.; Hao, J. and Zhong, M., 2013.** Bioaccumulation and sub-acute toxicity of zinc nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): A comparative study with its bulk counterparts. *Ecotoxicol. Environ. Safet*. Vol. 91, pp: 52-60.
 ۳۶. **Helmuth, B.S.T. and Hofmann, G.E., 2001.** Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *The Biological Bulletin*. Vol. 201, No. 3, pp: 374-84.
 ۳۷. **Hossam, H.A. and Fagr, K.A., 2007.** Study on the aspect of hexavalent chromium on some biochemical, cytotoxicological and histopathological aspects of the *oreochromis spp*. *Pakistan J. Biol. Sci*. Vol. 10, No. 22, pp: 3973-3982.
 ۳۸. **Houston, A.H. and cry, D., 1974.** Thermoacclimatory variation in hemoglobin system of gold fish and rainbow trout. *J. of experimental biology*. Vol. 61, pp: 445-461.
 ۳۹. **Iwama, G.K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P. and Schreck, C.B., 1997.** Fish Stress and Health in Aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar Series, vol. 62. Cambridge University Press, UK. 278 P.
 - قره‌برون و ازون‌برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۵۰، بهار ۸۰. صفحات ۱۴ تا ۱۸.
 ۷. **کبریتی، م.؛ پیغان، ر. و محمدیان، ب.، ۱۳۸۹.** بررسی تلفات و ضایعات پاتولوژیکی ناشی از حمام نمک ۲۴ ساعته در آبشش ماهیان انگشت‌قد کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). فصلنامه تالاب. صفحات ۴۹ تا ۵۶.
 ۸. **کوهکن، ا.، ۱۳۹۵.** آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مواجهه با سطوح مختلف شوری. مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای. سال ۱۳، شماره ۱، صفحات ۱۸۵۵ تا ۱۸۶۲.
 ۹. **نفیسی‌بهابادی، م.، ۱۳۸۵.** راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. ۳۶۵ صفحه.
 ۱۰. **Abdel-Tawwab, M.; Mousa, M.A.A.; Sharaf, S.M. and Ahmad, M.H., 2005.** Effect of Crowding Stress on Some Physiological Functions of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fed Different Dietary Protein Levels. *International Journal of Zoological Research*. Vol. 1, No. 1, pp: 41-47.
 ۱۱. **Affonso, E.G.; Silva, E.C.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, S.M.; Nunes, E.S.S.; Ituassu, D.R.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Fim, J.D.I. and Marcon, J.L., ۲۰۰۷.** Effect of high level of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxa (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and physiology*. Vol. 147, pp: 383-388.
 ۱۲. **Akhundov, M.M. and Fedorov, K., 1995.** Effect of exogenous estradiol on ovarian development in juvenile starlet (*Acipenser ruthenus*). *Journal of Ichthyology*. Vol. 33, pp: 109-120.
 ۱۳. **Antonio, F.F.; Jorge, V.F.C.; Sofia, G.S.; Sandra, M.M.; Joao, C. and Pedro, M., 2007.** Histopathological changes in liver and gills epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesq. Vet. Bars. Marco*. Vol. 27, No. 3, pp: 103-109.
 ۱۴. **Ayoola, S.O., 2008a.** Histopathological effects of glyphosate on juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) *Amerisurasian. J. Agric. Environ. Sci*. Vol. 4, No. 3, pp: 362-367.
 ۱۵. **Ayoola, S.O., 2008b.** Toxicity of glyphosate herbicides on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *Afr. J. Agric. Res*. Vol. 3, No. 2, pp: 825-834.
 ۱۶. **Bahmani, M.; Kazemi, R. and Donskaya, P., 2001.** A comparative study of some haematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 24, pp: 135-140.
 ۱۷. **Beitinger, T.L.; Bennett, W.A. and McCauley, R.W., 2000.** Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environ. Biol. Fishes*. Vol. 58, pp: 237-275.
 ۱۸. **Belkovskiy, N.M.; Lega, Y.V. and Chernitskiy, A.G., 1991.** Disruption of water-salt metabolism in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in seawater at low temperatures. *Journal of Ichthyology*. Vol. 31, pp: 134-141.
 ۱۹. **Bell, J.G. and Sargent, J.R., 2003.** Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*. Vol. 218, pp: 491-499.
 ۲۰. **Best, J.H.; Eddy, F.B. and Codd, G.H., 2001.** Effects of purified microcystin-LR and cell extracts of *Microcystis* strains PCC 7813 and function in brown trout (*Salmo trutta*) alevins. *Fish Physiol Biochem*. Vol. 24, pp: 171-178.
 ۲۱. **Bhagwant, S. and Elahee, K.B., 2002.** Pathologic gill lesions in two edible lagoon fish species, *Mulloidichthys flavolineatus* and *Mugil cephalus*, from the bay of poudre d'or, Mauritius. *Western Indian Ocean. J. Mar. Sci*. Vol. 1, No. 1, pp: 35-42.
 ۲۲. **Bowden, A.J.; Gardiner, N.M.; Couturier, C.S.; Stecyk, J.A.; Nilsson, G.E.; Munday, P.L. and Rummer, J.L., 2014.** Alterations in gill structure in tropical reef fishes as a result of

- dodecyl sulfate. *Ecotoxicol and Environ Safety*. Vol. 51, pp: 223-228.
۵۷. **Ruane, N.M.; Carballo, E.C. and Koman, J., 2002.** Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Aquac. Res.* Vol. 33, pp: 777-784.
۵۸. **Saber, T.H., 2011.** Histological Adaptation to Thermal Changes in Gills of Common Carp *Cyprinus carpio*. *Jou. Raf. Sci.* Vol. 22, No. 1, pp: 46-55.
۵۹. **Santos, M.A. and Pacheco, M., 1996.** *Anguilla anguilla*. Stress biomarkers recovery in clean water and secondary treated pulp mill effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 35, pp: 96-100.
۶۰. **Simmons, A., 1997.** *Hematology*. Simmons, Butterworth Heinemann. 507 P.
۶۱. **Takabe, S.; Teranishi, K.; Takaki, S.; Kusakabe, M.; Hirose, S.; Kaneko, T. and Hyodo, S., 2012.** Morphological and functional characterization of a novel Na⁺/K⁺-ATPase immunoreactive, follicle-like structure on the gill septum of Japanese banded houndshark, *Triakis scyllium*. *Cell Tissue Res.* Vol. 348, pp: 141-153.
۶۲. **Takashima, F. and Hibiya, T., 1995.** An Atlas of Fish Histology: normal and pathological features. 2nd edn. Tokyo, Kodansha. 195 P.
۶۳. **Tandon, R.S. and Joshi, B.D., 1974.** Effect of trypanosome infection on blood glucose levels of some fresh water teleosts. *J Inland Fish Soc India*. Vol. 6, pp: 81-82.
۶۴. **Tao, S.; Li, H.; Li, C.S. and Lam, K.C., 2000.** Fish uptake of inorganic and mucous complexes of lead. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* Vol. 46, pp: 174-180.
۶۵. **Temmink, J.; Bowmeister, P.; Jong, P. and Van der Berg, J., 1983.** An ultrastructural study of chromate-induced hyperplasia in the gill of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquatic Toxicology*. Vol. 4, pp: 165-179.
۶۶. **Thrall, M.A.; Baker, D.C.; Campbell, T.W.; Denicola, D.; Fettman, M.J.; Lassen, E.D.; Rebar, A.H. and Weiser, G., 2004.** *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Lippincott Williams and Wilkins, USA. 501 P.
۶۷. **Treves-Brown, K.M., 2013.** *Applied fish pharmacology* (Vol. ۳). Springer Science and Business Media.
۶۸. **Van Vuren, J.H.J., 1986.** The effects of toxicants on the haematology of *Labeo umbratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 83, pp: 155-159.
۶۹. **Wang, P.; Lin, C.; Hwang, L.; Huang, C.; Lee, T. and Hwang, P., 2013.** Differential responses in gills of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 152, pp: 544-551.
۷۰. **Wedemeyer, G.A., 1969.** Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Comp Biochem Physiol*. Vol. 29, pp: 1247-1251.
۷۱. **Wendelaar Bonga, S.E., 1997.** The stress response in fish. *Physiol. Rev.* Vol. 77, pp: 591-625.
۷۲. **Wilson, R.W. and Taylor, E.W., 1993.** The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*, during acute exposure. *J. Comp. Physiol.* Vol. 163, pp: 38-47.
۴۰. **Karlsson-Norrgren, L.; Dickson, W.; Ljungberg, O. and Runn, P., 1986a.** Acid water and aluminium exposure: gill lesions and aluminium accumulation in farmed brown trout, *Salmo trutta*. *J. Fish Dis.* Vol. 9, pp: 1-10.
۴۱. **Karlsson-Norrgren, L.; Björklund, I.; Ljungberg, O. and Runn, P., 1986b.** Acid water and aluminium exposure: experimentally induced gill lesions in brown trout, *Salmo trutta*. *J. Fish Dis.* Vol. 9, pp: 11-26.
۴۲. **Klontz, G.W., 1994.** *Fish Hematology*. P: 121-132. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kikoff, T.C., Kaattari, S.L. and Smith, S.A. (Eds.). *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications. Fair Haven, New Jersey, USA. pp: 121-132.
۴۳. **Lermen, C.L.; Lappe, R.; Crestani, M.; Vieira, V.P. and Gioda, C.R., 2004.** Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. Vol. 239, pp: 497-504.
۴۴. **Li, P., Lewis, D.H. and Gatlin, D.M., 2004.** Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish and shellfish immunology*. Vol. 16, No. 5, pp: 561-569.
۴۵. **López-Olmeda, J.F. and Sánchez-Vázquez, F.J., 2011.** Thermal biology of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Thermal Biology*. Vol. 36, No. 2, pp: 91-104.
۴۶. **Martinez, C.B.R.; Nagae, M.Y.; Zaia, C.T.B.V. and Zaia, D.A.M., 2004.** Morphological and physiological acute effects of lead in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian J. of Biol.* Vol. 64, No. 4, pp: 797-807.
۴۷. **Mora, C. and Maya, M.F., 2006.** Effect of rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes. *Journal of Thermal Biology*. Vol. 31, No. 4, pp: 337-341.
۴۸. **Olojo, A.A.; Olurin, K.B.; Mbaka, G. and Oluwemimo, A.D., 2005.** Histopathology of gills and liver tissues of the African catfish *Calarias gariepinus* exposed to lead. *Afr. J. Biotech.* Vol. 4, No. 1, pp: 117-122.
۴۹. **Olson, K.R. and Fromm, P.O., 1973.** Scanning electron microscopic study of secondary lamellae and chloride cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Z. Zellforsch.* Vol. 143, pp: 439-449.
۵۰. **Ottolenghi, C.; Puviani, A.C.; Ricci, D. and Morsiani, E., ۱۹۹۰.** The effect of high temperature on blood glucose level in two teleost fish (*Ictalurus melas* and *Ictalurus punctatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 111, pp: 229-235.
۵۱. **Pacheco, M. and Santos, M.A., 2001.** Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla Anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. *Ecotoxic Environ Saf.* Vol. 49, pp: 64-75.
۵۲. **Panigrahi, A.; Kiron, V.; Puangkaew, J.; Kobayashi, T.; Stath, S. and Sugita, H., 2005.** The Viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 243, pp: 241-254.
۵۳. **Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., 2002.** Stress responsiveness affects dominant – subordinate relationships in rainbow trout. *Horm. Behav.* Vol. 40, pp: 419-427.
۵۴. **Rainza-Paiva, M.J.T.; Ishikawa, C.M.; Das Eiras, A.A. and Felizardo, N.N., 2000.** Haematological analysis of Chara, *Pseudoplatystoma fasciatum* in captivity. *Aqua* 2000. Responsible aquaculture in the new millennium. Nice, France. May 2-6 2000. European Aquaculture Soc. Special Pub. Vol. 28, 590 p.
۵۵. **Rajaguru, S. and Ramachandran, S., 2001.** Temperature tolerance of some estuarine fishes. *Journal of Thermal Biology*. Vol. 26, No. 1, pp: 41-45.
۵۶. **Rosety Rodriguez, M.; Ordonez, F.J.; Rosety, M.; Rosety, J.M.; Ribelles, A. and Carrasco, C., 2002.** Morphohistochemical changes in the gills of turbot, induced by sodium

