

بررسی تأثیر تراکم ذخیره سازی بر فاکتورهای ایمنی و میزان استرس وارده بر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

الهام قلیان^{۱*}، معصومه بحر کاظمی^۲، آذین محقق ثمری^۳، علی اصغر سعیدی^۳

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تراکم ذخیره‌سازی بر فاکتورهای ایمنی و میزان استرس زایی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) انجام شد. برای این منظور بچه ماهیان با میانگین وزنی اولیه $0.4 \pm 7/25$ گرم در ۳ تراکم ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد ماهی در هر متر مکعب ذخیره‌سازی شدند. طول دوره آزمایش به مدت ۶۰ روز بود. فاکتورهای ایمنی شامل ایمونوگلوبولین (Igm)، کمپلمانها (C_3, C_4) و پروتئین کل، کلسیم و هورمون کورتیزول مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش تراکم، میزان هورمون کورتیزول افزایش یافت و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). اما بر روی ایمونوگلوبولین (Igm)، کمپلمان‌ها (C_3, C_4) و پروتئین کل، کلسیم اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بنابراین در محدوده‌ی تراکم ذخیره‌سازی به کار رفته در این تحقیق، افزایش تراکم برای بچه ماهیان استرس‌زا بوده است.

کلید واژه: ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، تراکم ذخیره‌سازی، فاکتورهای ایمنی، استرس زایی، ایمونوگلوبولین، کمپلمان‌ها.

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۶/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۸

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران (نویسنده مسؤول)

e_gholian@yahoo.com

۲- استادیار علوم کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

۳- عضو هیئت علمی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

۱- مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از جمله ماهیان با ارزش دریای خزر است که بومی کشور ایران است و به طور عمده در سواحل غربی و جنوبی دریای خزر پراکنده است. با توجه به آلودگی آب دریاها و منابع آبی، از بین رفتن زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، موانع موجود بر سر راه مهاجرت ماهیان به هنگام تخم‌ریزی از دریا به رودخانه‌ها نظیر سدها، ورود فاضلاب‌های شهری به آب رودخانه‌ها و همچنین حضور صیادان غیرمجاز که اقدام به گستردن دام در مسیر مهاجرت می‌نمایند، بقای نسل برخی گونه‌های آبی نظیر ماهی آزاد دریای خزر به خطر افتاده است. در این راستا با توجه به اهمیت این گونه، از سال ۱۳۶۲ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت به منظور بازسازی ذخایر این گونه، تکثیر مصنوعی مولدین و پرورش بچه ماهیان تا مرحله اسملت و رهاسازی آنها انجام می‌شود (Bahrekazemi et al, 2011).

تغییرات خصوصیات خون ماهیان در پاسخ به شرایط زیست‌محیطی پاسخی است بر استرس‌های محیطی و می‌تواند به عنوان یک شاخص مهم زیستی مد نظر قرار گیرد. همچنین بررسی فاکتورهای خون‌شناسی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌های آبیان ایفا نماید، به شرط آنکه میزان طبیعی آنها در خون و دامنه آن در انواع ماهیان پرورشی (بچه ماهیان و سنین بالاتر از آن) در شرایط طبیعی در دسترس باشد (فضل‌اله زاده و همکاران، ۱۳۸۸). با توجه به مطالب عنوان شده، از آنجا که یکی از مهمترین مسائل در پرورش مقدماتی این ماهی، تکثیر مصنوعی و تولید لارو است، آزمایش حاضر با هدف تعیین تراکم بهینه ذخیره‌سازی بچه ماهیان آزاد دریای خزر جهت افزایش سطح کیفی پرورش این گونه به اجرا در آمد.

در ماهیان میزان هورمون کورتیزول در خون به عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های بروز استرس مطرح است. بنابراین به نظر می‌رسد افزایش تراکم می‌تواند به دلیل استرس وارده بر ماهیان موجب افزایش میزان این هورمون در خون شود (Runane et al, 2002). از طرفی فاکتورهای محیطی که برای ماهی استرس‌زا هستند ممکن است برای ارگانیزم‌های پاتوژن محیط مساعدتری را فراهم کنند و به تبع آن میزان ابتلا به آنها را افزایش می‌دهد. استرس می‌تواند بر توانایی ماهیان در مقاومت نسبت به عوامل پاتوژن با تأثیر بر اجزای اختصاصی و غیر اختصاصی سیستم ایمنی تأثیر بگذارد (Iwama et al, 1996).

ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از مهمترین شواهد فیزیولوژیک آنها و منعکس‌کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامتی ماهیان می‌باشد. تغییرات خصوصیات خون ماهیان در پاسخ به شرایط زیست محیطی پاسخی است بر استرس‌های محیطی و می‌تواند به عنوان یک شاخص مهم زیستی مدنظر قرار گیرد (رحیمی بشر و همکاران، ۱۳۸۶).

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- طرح آزمایش

این تحقیق اثر ۳ تراکم مختلف ذخیره‌سازی شامل ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی $7/25 \pm 0/44$ گرم را بر فاکتورهای ایمنی (ایمونوگلوبولین (Igm)، کمپلمان ها (C_3, C_4))، میزان پروتئین کل، کلسیم و میزان بروز استرس در ماهی (هورمون کورتیزول) مورد بررسی قرار داد. تعداد ۱۰۸۰ عدد بچه ماهی آزاد دریای خزر از مرکز تکثیر و پرورش ماهی آزاد واقع در منطقه لفور تهیه و بوسیله تانکرهای مخصوص حمل ماهی به حوضچه‌های سیمانی پرورش ماهی در مرکز فیروزکوه منتقل شدند و بعد از قرنطینه، طی ۴ هفته دوره آدآپتاسیون را گذراندند. سپس ۶۰۰ عدد ماهی به صورت تصادفی با تراکم‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد در متر مکعب ذخیره‌سازی شدند و برای هر یک از تیمارهای فوق، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. طول دوره آزمایش ۶۰ روز بود و بچه ماهیان در این دوره در شرایط محیطی یکسان (به استثناء تراکم ذخیره‌سازی) پرورش یافته و با غذای اکسترودر ساخت شرکت بیضاء تهران تغذیه شدند. آنالیز شیمیایی و تعیین درصد اجزای خوراک در آزمایشگاه تخصصی تحقیقاتی مازندران انجام شد. (جدول ۱).

غذادهی به صورت روزانه و در ۳ وعده صبح، ظهر و عصر انجام شد. جهت تعیین توده زنده استخرها و محاسبه‌ی میزان خوراک دهی، هر دو هفته یکبار متوسط وزن بچه ماهیان در هر استخر اندازه‌گیری شد و میزان خوراک مصرفی از روی توده زنده هر استخر و با توجه به جداول تغذیه ماهیان، تعیین گردید. در طول دوره پرورش میزان خوراک دهی بر اساس ۳ درصد از وزن بدن با توجه به درجه حرارت آب صورت گرفت (علیزاده و همکاران، ۱۳۸۶).

جدول ۱. ارزش غذایی و آنالیز تقریبی خوراک اکستروود مورد استفاده در تحقیق

درصد بر اساس وزن خشک	ترکیبات بیوشیمیایی
۵۷/۷	رطوبت
۵/۴۲	پروتئین کل
۱۷/۷	چربی
۱/۹	خاکستر
۹/۱۵	کربوهیدرات
۹۵/۰	کلسیم
۱۱/۱	فسفر

۲-۲- اندازه گیری فاکتوره

در طی دوره آزمایش هر ۱۵ روز یک بار وزن کل، طول کل، اکسیژن، دی اکسید کربن، pH، درجه حرارت آب، نیتريت و نیترات اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، طول از تخته‌ی بیومتری، اکسیژن به وسیله‌ی اکسیژن متر دیجیتالی، دی اکسید کربن، نیتريت و نیترات به وسیله‌ی کیت سنجش آب، درجه حرارت توسط دماسنج جیوه‌ای و pH بوسیله‌ی pH متر اندازه‌گیری شد. کلیه شرایط فیزیکی و شیمیایی آب و تغییرات آنها برای تمام تکرارها یکسان بود (جدول ۲). به منظور اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، خونگیری در ۲ مرحله ابتدا و انتهای دوره صورت گرفت. برای خونگیری از بچه ماهیان از هر یک از تکرارهای آزمایشی تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خونگیری توسط سرنگ از طریق ساقه دمی صورت گرفت. حین عملیات خونگیری دقت شد تا از ورود هوا به سرنگ کننده خون جلوگیری شود تا از همولیز شدن گلبولهای قرمز خون ممانعت بعمل آید. بعد از اتمام خونگیری نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در لوله آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد تخلیه و پس از تشکیل لخته، سانتریفوژ شد و نمونه سرم خون در لوله‌های کوچک (میکروتیوپ) تخلیه و در کنار یخ در دمای ۳ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه واقع در شهرستان قائمشهر انتقال و بلافاصله مورد سنجش قرار گرفتند. در این مطالعه میزان هورمون کورتیزول به روش Elisa، پروتئین کل به روش بیوره، کلسیم به روش رنگ سنجی با استفاده از کیت کلسیم پلاس (ساخت شرکت پارس آزمون) و کمپلمان‌ها به روش نفلومتری مورد سنجش قرار گرفتند (هدایتی و همکاران، ۱۳۷۹).

جدول ۲. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب

شاخص	۱۲ درجه سانتی‌گراد
دما	کمتر از ۵۰ ppt
شوری	۸/۴
pH	۶-۷ میلی‌گرم در لیتر
اکسیژن محلول	۰-۱۰ میلی‌گرم در لیتر
Co2	کم تر از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر
نیتريت	۰-۲۰ میلی‌گرم در لیتر
نترات	

۲-۳- آنالیز آماری

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق، طرح کاملاً تصادفی بود. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات حاصله، از نرم‌افزار SPSS، ورژن ۱۶ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد و برای بررسی توزیع نرمال داده با آزمون shapiroweak مورد بررسی قرار گرفت. نتایج هر تیمار بوسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین داده‌ها نیز از آزمون دانکن استفاده شد.

۳- نتایج

نتایج مطالعات در مورد اثر تراکم ذخیره‌سازی بر روی پروتئین کل در خون، نشان داد که بیشترین میزان پروتئین کل به تیمار ۱ (تراکم ذخیره سازی ۵۰ عدد در متر مکعب) با مقدار $2/7 \pm 0/21$ گرم در دسی لیتر و کمترین میزان آن به تیمار ۳ (تراکم ذخیره سازی ۱۰۰ عدد در متر مکعب) با مقدار $2/57 \pm 0/35$ گرم در دسی لیتر تعلق داشت. با این وجود اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۳).

بر اساس نتایج حاصله از تحقیق و اطلاعات جدول (۳)، ملاحظه شد که کمترین و بیشترین میزان کلسیم به ترتیب به تیمار ۱ با مقدار $11/4 \pm 26$ میلی‌گرم در دسی لیتر و تیمار ۳ با مقدار $12/13 \pm 49$ میلی‌گرم در دسی لیتر تعلق داشته است. همچنین تفاوت بین ۳ تیمار معنی دار نبود ($P > 0/05$).

بر اساس نتایج حاصله از تحقیق و اطلاعات جدول (۳) ملاحظه شد که بیشترین میزان هورمون کورتیزول به تیمار ۳ (تراکم ذخیره‌سازی ۱۰۰ عدد در متر مکعب) با مقدار $27/83 \pm 2/18$ میلی‌گرم در دسی لیتر و کمترین مقدار آن به تیمار ۱ (تراکم ذخیره سازی ۵۰ عدد در متر مکعب) با مقدار $27/23 \pm 2/18$

میلی گرم در دسی لیتر تعلق داشته است. با این وجو بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$).

بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق و اطلاعات جدول (۳) ملاحظه شد که بیشترین میزان ایمونوگلوبولین به تیمار ۱ با مقدار $0/۳۸ \pm 0/۰۲$ میلی گرم در دسی لیتر تعلق داشت در حالیکه مقدار این فاکتور در تیمار دوم و سوم تقریباً برابر بود (با میانگین $0/۲۵ \pm 0/۰۱$ میلی گرم در لیتر) همچنین تفاوت بین تیمارها معنی دار نبود ($P > 0/05$).

بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق، مقدار کمپلمان C_3 در هر ۳ تراکم ذخیره سازی یکسان اندازه-گیری شد ($0/۲۹ \pm 0$ میلی گرم در دسی لیتر) و در نتیجه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتایج مطالعات در مورد اثر تراکم ذخیره‌سازی بر روی فاکتور C_4 ، نشان داد که بیشترین میزان C_4 ، به تیمار ۱ با مقدار $0/۸۴ \pm 0/۰۲$ میلی گرم در دسی لیتر تعلق داشت. همچنین مقدار C_4 ، در دو تیمار دوم و سوم کاملاً با هم برابر بود ($0/۷۵ \pm 0$ میلی گرم در دسی لیتر) و تفاوت بین تیمارها نیز معنی دار نبود ($P > 0/05$).

جدول ۳. مقایسه پارامترهای خونی در تراکم‌های ذخیره سازی مختلف در ماهی آزاد دریای خزر

تراکم (m^3 /تعداد)	۵۰	۷۵	۱۰۰
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	$۲/۷ \pm 0/۵۳^a$	$۳/۶۴ \pm 0/۲۱^a$	$۲/۵۷ \pm 0/۳۵^a$
کلسیم (میلی گرم در دسی لیتر)	$۱۱/۴ \pm 0/۲۶^a$	$۱۱/۶۷ \pm 0/۳۰^a$	$۱۲/۱۳ \pm ۰/۴۹^a$
C_3 (میلی گرم در دسی لیتر)	$0/۲۹ \pm 0^a$	$0/۲۹ \pm 0^b$	$0/۲۹ \pm 0^a$
C_4 (میلی گرم در دسی لیتر)	$0/۸۴ \pm 0/۰۲^a$	$0/۷۵ \pm 0^b$	$0/۷۵ \pm 0^b$
Igm (میلی گرم در دسی لیتر)	$0/۳۸ \pm 0/۱۷^a$	$0/۲۵ \pm 0/۰۱^a$	$0/۲۵ \pm 0^b$
کورتیزول (میلی گرم در دسی لیتر)	$۲۳/۲۷ \pm ۲/۱۸^a$	$۲۵/۹۳ \pm ۲/۰۶^{ab}$	$۲۸/۷۳ \pm ۲/۱۸^b$

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند تفاوت معنی دار ندارند ($P > 0.05$)

۴- بحث

مطالعات در مورد تأثیر تراکم ذخیره‌سازی بر پارامترهای خونی غیر اختصاصی در آبی‌پروری در مقایسه با ایمنی اختصاصی ناشی از دامنه‌ی وسیعی از میکروارگانیزم‌ها (باکتری‌ها و ویروس‌ها) کمتر است

(Adkison et al, 1996). تراکم به شکل معمول به عنوان یک عامل استرس‌زا برای ماهی قابل‌پذیرش است (Vijayana and leaderland, 2003). این نوع استرس از طریق ایجاد رقابت غذایی و کاهش دریافت غذا بوسیله تعدادی از ماهیان با افزایش نیازهای متابولیک و انرژی ایجاد می‌گردد که نهایتاً ممکن است منجر به اختلاف رشد و اثرات منفی آن در پاسخ ایمنی غیراختصاصی شود (Pichering and polling, 1981) دامنه میزان پروتئین کل در ماهیان استخوانی بین ۸-۲ گرم در دسی لیتر متغیر است. در این مطالعه اختلاف معنی داری در میزان پروتئین کل سرم خون تیمارها با تراکم ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد در هر متر مکعب مشاهده نشد. به این صورت که حداقل و حد اکثر پروتئین کل به ترتیب به تراکم ۵۰ و ۱۰۰ عدد در هر متر مکعب ثبت گردید. به نظر می‌رسد که عدم تغییرات در میزان پروتئین کل سرم خون به جهت نابالغ بودن بچه ماهی، مدت زمان مطالعه، عدم رقم بندی و حمل و نقل های بین استخری ارتباط داشته باشد (Overturf et al, 2003).

Magnadotlie و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند غلظت پروتئین کل و ایمونوگلوبولین‌ها در گونه ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar L.*) بیشتر با درجه حرارت آب، فصل و اندازه ماهی (سن) تغییر می‌کند و این تغییرات نیز در ماهی کپور معمولی با فصل، حمل و نقل و عوامل محیطی مرتبط است. Fevloten در سال ۲۰۰۲ در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که تراکم بر ایمونوگلوبولین‌ها اثر افزایشی داشته به ویژه نشان داد که درجه حرارت و برخی بیماری‌های باکتریایی بروز و غلظت ایمونوگلوبولین (Igm) دارای اثر افزایشی است. در سال ۲۰۰۲، Ruane و همکاران گزارش کرد که تراکم ذخیره‌سازی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر افزایش غلظت پروتئین کل (آلبومین و گلوبولین) اثر معنی‌داری ندارد.

غلظت کلسیم سرم خون تیمارها با تراکم ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد بچه ماهی در هر متر مکعب اختلاف معنی داری را نشان نداد، حداقل غلظت کلسیم سرم خون در تراکم ۵۰ و حداکثر آن در تراکم ۱۰۰ قطعه ماهی در هر متر مکعب اندازه گیری شد. به نظر می‌رسد که مدت زمان پرورش، نابالغ بودن ماهیان مورد بررسی، نوع غذا، تعداد دفعات غذایی و درصد غذایی یکسان برای همه تیمارها این عدم اختلاف معنی‌داری را موجب گردیده است و اگر مدت زمان پرورش طولانی مدت بود، ممکن بود میزان افزایش کلسیم را نشان می‌داد. یوسفیان در سال ۲۰۱۰ در بررسی پارامترهای بیوشیمیایی در ماهیان نر و ماده قزل

آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش کرد که غلظت کلسیم در ماهیان نر و ماده دارای اختلاف معنی داری نبود.

غلظت کورتیزول به هورمون استرس نیز مشهور است و با القای تأثیرات منفی بر روی هورمون‌های آنابولیک و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاتابولیسم آنها موجب کاهش رشد در ماهیان می‌شود. هر دو هورمون کورتیزول و کتکول آمین‌ها به تنهایی و به صورت توأم با هم منجر به افزایش تولید گلوکز در ماهیان و بروز پدیده‌ی هایپرگلاسیسم می‌شوند. با توجه به نتایج بدست آمده از جدول ۳ در مورد میزان هورمون کورتیزول در تراکم‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ عدد در هر متر مکعب، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. برخی از محققان تراکم را به عنوان عامل استرس‌زا در پرورش ماهیان به حساب می‌آورند و بر این امر معتقد بودند که با افزایش تراکم، سطوح کورتیزول که به عنوان مهمترین هورمون شناخته شده استرس در ماهیان به شمار می‌رود با تأثیر بر روی محور کلیوی در برخی گونه‌ها افزایش می‌یابد (Vijayan et al, 2003).

Pickering و همکاران (۱۹۸۷) ثابت نمودند که ادامه یافتن استرس مزمن و در گیر بودن ماهیان با شرایط موجود اگرچه ممکن است موجب سازگاری ماهی شود ولی اغلب با کاهش مقاومت و توان ماهیان و یا مرگ و میر آن‌ها همراه است. همچنین آنها به این نتیجه رسیدند که مقایسه تغییرات سطوح کورتیزول در آزاد ماهیانی که شبانه مورد خونگیری قرار گرفتند نسبت به ماهیانی که در روشنایی روز خونگیری شدند حاکی از وجود افزایش قابل توجه در مقادیر کورتیزول ماهیان مورد بررسی در ساعات تاریکی بوده است.

Mazur و همکاران (۱۹۹۳) به این نتایج رسیدند که در برخی از ماهیان استخوانی استرس به عنوان یک اثر اولیه موجب افزایش سطوح کاتکول آمین‌های پلازما در طی چند دقیقه و سپس افزایش سطوح کورتیزول می‌گردد که ممکن است تا چند ساعت پس از توقف استرس نیز اتفاق افتد ولی این تغییرات بر حسب گونه و نوع استرس به صورت الگوهای مختلف ظاهر می‌شود. اما در بررسی‌های انجام شده بر روی *Gilthead (Sparus aurat)* seabream میزان غلظت کورتیزول در طول مدت انجام آزمایش در این ماهیان در تراکم بالا افزایش یافت و بروز این حالت نشانه عدم آداپته شدن این ماهیان با تراکم بالاست (Montero et al., 1999). همچنین Neil و همکاران در سال ۱۹۸۱ تغییرات میزان هورمون کورتیزول ناشی از تراکم بالا و پایین در کپور معمولی را مورد بررسی قرار داد و گزارش کرد که افزایش کورتیزول بعد از ۳ روز شروع و بعد از ۸ روز به حداکثر می‌رسد به گونه‌ای که میزان کورتیزول در تراکم بالا ۴ برابر بیشتر از تراکم پایین است.

Mommson و همکاران در سال ۱۹۹۸ غلظت کورتیزول سرم را به بلوغ، شوری و مراحل تغذیه مرتبط دانستند. در بررسی اثرات استرس بر روی رشد همواره افزایش کورتیزول منجر به کاهش رشد در ماهیان نمی‌گردد. این حالت بویژه در صورت قرارگرفتن ماهیان در معرض استرس‌های حاد مشاهده گردیده است. اما در صورت مواجه‌شدن ماهیان با استرس‌های مزمن افزایش کورتیزول در طولانی مدت توأم با کاهش رشد خواهد بود. بررسی‌های انجام شده بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان می‌دهد که تفاوتی در سرعت رشد ماهیانی که بصورت سریع یا بطئی نسبت به استرس عکس‌العمل نشان می‌دهند، علی‌رغم بالا بودن میزان کورتیزول خون آنها مشاهده نگردیده و از این رو می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کورتیزول به تنهایی پارامتری مناسب جهت ارزیابی تأثیر استرس بر روی رشد محسوب نمی‌گردد و بررسی فاکتورهایی مانند: گلوکز خون، پروتئین و غیره در کنار کورتیزول به مراتب مفیدتر خواهد بود (Wered et al, 2000). همچنین به نظر می‌رسد که این تراکم بدلیل کوتاه بودن دوره پرورش، عدم رقم‌بندی و دستکاری‌های فیزیکی، عدم استفاده از داروها و کیفیت غذای مصرفی باشد.

فهرست منابع

- ۱- فضل اله زاده، ف، (۱۳۸۸). اثر گیاه سیر (*Alium sativum*) بر فاکتورهای خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط استرس دمایی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ۷۵ صفحه.
- ۲- هدایتی، م، (۱۳۷۹). آشنایی با مبانی تئوری و اصول عملی الایز، انتشارات کتاب میر، جلد اول، ۷۴ صفحه.
3. Adkison, M.A, Basurco, R.P, (1996). humoral immunoglobulins of the white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). partial characterization of and recognition with monoclonal antibodies. developmental and comparative immunology, 14 (2), 285-298.
4. Bahre kazemi, M, Soltani, M, Matinfar, A, Abtahi, B, (2011). biochemical and histological studies of over-ripened oocyte in the Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*), Iranian journal of fisheries sciences, pp:33-48
5. Fevolden, S, ;Roed, K.H .and fjalested, K.T, (2002). selection response of cortisol and lyzozyme in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and correlation to growth, aquaculture, 205 (1-2), 61-75.

6. **Marlowe, C, Berg, A, Brinchmann, F, (2009).** short term crowding stress in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. modulates the humoral immune response. aquaculture, 295 (1-2), 110-115.
7. **Mazur, F, iwama, G, (1993).** effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma cortisol and survival in wild and hatchery-reared Chinook salmon (*Oncorhynchus mykiss*), aquaculture, 112 (4), 291-299.
8. **Magnadottir, B, Jonsdottir, H, Helgason, Bjornsson, B, Jorgensen, T, Q, (1999).** humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.), biochemistry and physiology, 122 (B), 173- 180.
9. **Mommsen, T.P, (1998).** growth and metabolism. in: evans , D.H, the physiology of fishes. CRC press, pp:65-97
10. **Montero, D ;Marrero, M. ;Izaquierdo, M.S. ;Robaina, (1999).** effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juvenils subjected to crowding stress. aquaculture, 171(3-4), 269-278.
11. **Neill, J, (1981).** heavy metals and the humoral immune response of fresh water teleost. in: Pickering A.D, stress and fish, academic press, London, pp:328-329
12. **Overturf, K, (2003).** comparison of growth performance , immunological response and genetic diversity of five of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) . aquaculture, 217, 93-106.
13. **Pickering, A.D., Pottinger, T.G, Carragher, J.F., Sumpter., J.P., (1987).** the effect of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. Gen. comp. Comp. Endocrinol. pp:38-48
14. **Pottinger, T.G, and carick, T.R, (1999).** A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Aquaculture, 175, 351-363
15. **Ruane, N.M. nuisman, E.A. and komeon, J., (2002).** The influence of feeding history on the acute stress response of common carp (*Cyprinus carpio*), Aquaculture, 218, 245-257.
16. **Vijayan, M.M, leatherland, J.F, (2003).** Effect of stocking density on the growth and stress response in brook charr (*Salvelinus fontinalis*), Aquaculture,
17. **Wered, J.H.V and komen, J., (2000).** Fact and fiction Comparison Biochemistry Physiology, 120 (A), 107-112.