اثر دماهای مختلف انکوباسیون بر تکامل، رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک طی دوره جنینی و لاروی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

سید حسین مرادیان *[1]، وحید تقی زاده[1]، همایون حسین زاده صحافی[2]، محمدرضا ایمان پور[1] و حامد پاک نژاد[1]

۱-گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران، صندوق پستی: ۴۹۱۷۵-۴۸۷

۲-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹/۱۴۹۶۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۷ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۱۲/۱۴

چکیده

دمای آب یکی از مهمترین فاکتورهای محیطی تأثیرگذار بر تخم گشایی و تکامل جنین و بازماندگی و رشد در دوران لاروی ماهیان است. در پژوهش حاضر، تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه در سه دمای ۷، ۱۱ و ۱۵ ^{o}C در ۴ تکرار انکوباسیون و پرورش داده شد، تا تأثیرات بر تکامل، بازماندگی، رشد و برخی فاکتورهای فیزیولوژیک بررسی شود. سه گروه پنج‌تایی از جنین‌ها و لاروها در هفت مرحله جمع‌آوری شد و نمونه‌ها تا زمان استفاده در تانک ازت نگهداری شدند. مدت زمان تکامل در بین تیمارهای دمایی اختلاف معنی‌داری را نشان داد. در مراحل مختلف اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از لحاظ میزان بازماندگی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، که نشان‌دهنده دماهای بهینه متفاوت در دوره‌های مختلف تکاملی بود. در دوره چشم‌زدگی تا تفریخ دمای ۱۱ ^{o}C و ۷، در دوره تفریخ تا شروع تغذیه، دمای ۷ ^{o}C و در نهایت در دوره شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه لاروی دمای ۱۵ ^{o}C دمای بهینه بازماندگی بودند. وزن نهایی در ماهیان پرورش یافته در دمای ۱۵ ^{o}C به طور معنی‌داری بیشتر از بقیه بود، به طوری‌که میانگین وزن لاروها در انتهای دوره در دماهای ۷، ۱۱ و ۱۵ به ترتیب حدود ۳۴۲/۵۷، ۵۹۶/۰۰ و ۱۱۱۶/۲۹ میلی‌گرم بود. نتایج تحلیل آماری آنوای دوطرفه نشان می‌دهند که هم دما و هم مرحله تکاملی بر میزان پروتئین کل و گلوبولین کل تأثیر عمده داشتند و اثر متقابل بین دما و مرحله تکاملی نیز معنی‌دار بود. در مورد آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین دما تاثیری بر میزان آلبومین ایجاد نکرد، ولی مراحل تکاملی بر میزان آلبومین تاثیر داشت. علاوه بر این تأثیرات متقابل میان دما و مرحله تکاملی معنی‌دار بود. به طور کلی اگرچه بازماندگی در دمای ۱۵ ^{o}C در مراحل ابتدایی کمتر بود ولی بازماندگی بیشتر بعد از شنای فعال و رشد سریعتر می‌تواند راهکاری مفید برای کاهش تلفات لاروی و در نتیجه مدیریت بهتر پرورش لاروی باشد.

کلمات کلیدی: دما، انکوباسیون، تکامل، بازماندگی، رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

* عهده‌دار مکاتبات (✉). moradian.s.h@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از گونه‌های مهم پرورشی است و مهمترین عامل محدودکننده در توسعه تولید این ماهی بیماری‌ها هستند (Heinecke *et al*., 2014). یکی از مهمترین مشکلات موجود در پرروش ماهی میزان تلفات بالا طی مراحل اولیه تکاملی است که ناشی از عواملی مانند اندازه کوچک، توانایی محدود شنا و آسیب‌پذیری به تغییرات محیطی است (Rice *et al*. 1987; Miller *et al*. 1988; Hardy and Litvak, 2004). بنابراین، یکی از چالش‌های اساسی در پرورش لاروی امنیت زیستی است. به نظر می‌رسد که لاروها در مقایسه با ماهیان بالغ آسیب‌پذیری بیشتری به عوامل بیماری‌زا دارند (Bricknell and Dalmo, 2005) که انعکاسی از سیستم ایمنی ابتدایی در لاروها است (Bricknell and Dalmo, 2005). مراقبت از لاروها در این دوران حساس مستلزم مدیریت خوب پرورشی است، به طوری که سیستم مدیریتی به جای درمان، مانع از ظهور عوامل بیماری‌زا شود (Verner-Jeffreys *et al*., 2003, 2004). مدیریت خوب شامل ارزیابی خطرات محیط پرورش لاروی و شرایط درونی این محیط است تا خطرها را شناسایی و برطرف سازد. یک پرورش‌دهنده موفق به منظور اطمینان از امنیت زیستی سیستم پرورشی، راه‌کارهای مختلفی از جمله دستکاری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تغییر در سیستم ایمنی مادری و لاروی و استفاده از محرک‌های ایمنی جهت جلوگیری از شیوع بیماری‌ها را مدنظر قرار می‌دهد. استفاده از پربیوتیک و پروبیوتیک‌ها، واکسیناسیون مولدین جهت دستکاری ترکیب ایمونوگلوبولین در تخم و لارو دارای کیسه زرده، استفاده از محرک‌های ایمنی جهت بهبود سیستم دفاع ایمنی لاروی و نهایتاً واکسیناسیون مستقیم لاروها بعد از تکامل کامل سیستم ایمنی آنها از جمله این اقدامات است.

از آنجا که فاکتورهای از جمله دما به طور چشمگیری بر فیزیولوژی، متابولیسم و رشد (Johnston, 2003)، تکامل جنینی (Fernandes *et al*., 2006; 2007)، رفتار (Wilson *et al*., 2007) و عملکرد سیستم ایمنی ماهیان (Le Morvan *et al*., 1998) اثرگذار هستند، بنابراین شرایط محیطی می‌تواند اثرات قابل توجهی بر عملکرد ماهی اعمال کنند (Smith and Fernandes, 2009). یکی از نکات قابل توجه در توسعه آبزی‌پروری ارتباط میان شروع شیوع بیماری‌های عفونی و تغییرات دمایی آب و همچنین علت و رابطه میان دماهای پایین و ناتوانی سیستم ایمنی است (Bly and Clem, 1992). از آنجا که شرایط محیطی در تفریخگاه‌ها کنترل می‌شوند، بنابراین باید تمامی جوانب از جمله فاکتورهای شیمیایی آب، دما، اکسیژن، نور و مهمتر از همه فون میکروبی کنترل شوند. درک کامل نکات کنترلی ضروری و توسعه دستورالعمل‌های مدیریتی قوی می‌تواند محیطی مناسب را برای پرورش فراهم سازد و باعث تولید ماهیان سالم‌تر و رضایت پرورش‌دهنده و در نهایت فعالیت سودمند شود (Bowden and Bricknell, 2013).

در ماهیان افزایش دما درون محدوده دمایی هر گونه به شرط نامحدود بودن غذا، منجر به افزایش رشد خواهد شد. رشد ناشی از پروتئین زمانی رخ می‌دهد که ساخت پروتئین بیشتر از مصرف آن باشد. بنابراین، آگاهی از اثرات دما بر ساخت پروتئین و مصرف پروتئین، نقش اساسی در پیش بینی اثرات بالقوه تغییرات دمایی بر عملکرد رشد ماهیان دارد. در درون

Archive of SID
www.SID.ir

محدوده دمایی ترجیحی، مواجهه طولانی مدت موجودات خونسرد با دماهای پایین‌تر و بالاتر در مقایسه با تغییرات سریع دمایی منجر به ایجاد نوعی عدم وابستگی فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌شود که اصطلاحاً جبران دمایی گفته می‌شود. شواهد نشان می‌دهند که بیشترین نرخ ساخت پروتئین در دمای بهینه هر گونه اتفاق می‌افتد. ارتباط میان دما و ساخت پروتئین به صورت نمایی است (McCarthy and Houlihan, 1997). پروتئین طی فرایند رونویسی ساخته می‌شود و میزان ساخت پروتئین متناسب با غلظت RNA کل در آن بافت است که به صورت نسبت پروتئین به RNA یا ظرفیت ساخت پروتئین بیان می‌شود (Sugden and Fuller, 1991). کارایی RNA در ساخت پروتئین بستگی به شروع ساخت زنجیره پپتیدی، طویل‌سازی و خاتمه ساخت دارد که این مراحل دارای حساسیت دمایی هستند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند در ماهیان دما می‌تواند بر همه فرایندهای تنظیم ساخت پروتئین اثر گذار باشد. غلظت RNA ریبوزومی طی پاسخ تنظیم سازش دمایی به دماهای پایین افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد طی فرایند رونویسی، مرحله طویل‌سازی به عنوان فاکتور کنترل کننده سرعت ساخت پروتئین مطرح است. دمای جبرانی ممکن است بر مولکول‌های فاکتور طویل‌سازی یا فعالیت اختصاصی آنها تأثیرگذار باشد (McCarthy and Houlihan, 1997).

دمای بهینه جهت تخم‌گشایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۲-۷ °C گزارش شده است و در دماهای بالاتر از ۱۵ °C و حدود ۲ °C تلفات به طور زیادی افزایش می‌یابد (Kwain 1975; Raleigh *et al*. 1984; Velsen 1987, Myrick and Cech 2001; Carter 2005; Weber *et al*., 2016). از سوی دیگر گزارشاتی مبنی بر اختلاف در دمای بهینه و محدوده‌های تحمل دمایی در نژادهای گوناگون ارائه شده است (McIntyre and Blanc 1973; Danzmann and Ferguson 1988; Behnke 1992; Groot 1996; Weber *et al*., 2016). با توجه به مقدمه ارائه شده و بر اساس نظر پرورش‌دهندگان مبنی بر بهبود وضعیت بازماندگی بعد از انتقال تخم چشم زده به مزارع پرورشی دارای دمای آب نسبتاً بالاتر از حدود بهینه تخم‌گشایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در این تحقیق تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دماهای مختلف نگهداری شد تا اثرات آن برتکامل، رشد، بازماندگی و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک طی دوران تکامل جنینی و لاروی ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

پنج مولد ماده و همچنین پنج مولد نر از بین مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح‌نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج تخم‌گیری و اسپرم‌گیری شدند. بعد از لقاح به شیوه متداول لقاح تخم در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان، تخم‌ها تا زمان چشم‌زدگی در شرایط معمول تخم‌گشایی در تراف های مدل کالیفرنیایی در دمای ۰/۵ ºC ± ۱۱ و تاریکی دوران انکوباسیون را طی نمودند. از آنجا که بر اساس منابع بازماندگی تخم‌های تازه لقاح‌یافته در دمای ۱۵ ºC خیلی پایین بود لذا شروع کار از مرحله چشم‌زدگی بود (From and Rasmussen, 1991). دمای آب طی دوره آزمایشی به طور مرتب طی ساعات مختلف روز کنترل و ثبت شد. تخم‌ها و لاروهای مرده به صورت یک روز در میان جمع‌آوری و ثبت شد و درصد بازماندگی بر اساس تعداد اولیه تخم‌های موجود

Archive of SID

www.SID.ir

محاسبه شد. تخم‌ها در زمان چشم‌زدگی یعنی ۱۸ روز بعد از لقاح بعد از اعمال شوک فیزیکی و جداسازی تخم‌های لقاح‌نیافته، بعد از طی عملیات هم دماسازی، به واحدهای آزمایشگاهی با تیمارهای دمایی متفاوت تقسیم‌بندی شدند. نحوه اجرای تیمارهای دمایی به این صورت بود که سه دمای مختلف شامل دمای مرکز ^{o}C ۰/۵ ± ۱۱، دمای ^{o}C ۰/۵ ± ۷ و در نهایت دمای ^{o}C ۰/۵ ± ۱۵ با استفاده از سیستم‌های سرمایشی و گرمایشی ایجاد شد. برای هر دما دو عدد تراف کالیفرنیایی با ابعاد ۴۰، ۵۰ و ۲۲۰ سانتی‌متر و در هر تراف دو عدد سینی با ابعاد ۵۰، ۵۰ در ۲۰ سانتی‌متر یعنی برای هر دما چهار تکرار در نظر گرفته شد. در هر سینی حدود ۱۰۰۰ عدد تخم و در مجموع برای هر تیمار دمایی حدود ۴۰۰۰ عدد تخم بعد از سازگاری دمایی قرار داده شد. طی دوره انکوباسیون تا لاروی اکسیژن، pH (WTW مدل Multi 340i/SET) و میزان آمونیاک، نیتریت و نیترات (Insta-Test® ANALYTIC) به صورت هفتگی و در سه نوبت در روز اندازه‌گیری و ثبت شدند. اختلاف معنی‌داری میان این فاکتورها در دماهای مختلف مشاهده نشد. محدوده‌های فاکتورهای ثبت شده در جدول ۱ ارائه شده است. علاوه براین یک روز در میان تلفات جدا و ثبت شدند.

جدول۱: میانگین فاکتورهای کیفی آب طی دوره تفریخ و پرورش لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان

پارامترهای کیفی آب	دماهای آزمایشی		
	۱۵ ^{o}C	۱۱ ^{o}C	۷ ^{o}C
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۸/۶۶ ± ۰/۸۲	۸/۶۸ ± ۰/۵۳	۸/۷۳ ± ۰/۴۹
pH	۷/۸۲ ± ۰/۳۲	۷/۸۶ ± ۰/۶۷	۷/۸۵ ± ۰/۷۱
آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۰۱۲ ± ۰/۳۶	۰/۰۱۲ ± ۰/۵۴	۰/۰۱۲ ± ۰/۲۸
نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱
نیترات (میلی‌گرم در لیتر)	۲/۰۷ ± ۰/۸۵	۲/۵۴ ± ۰/۷۱	۲/۴۳ ± ۰/۳۱

نمونه‌گیری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌گیری از جنین‌ها و لاروها بر اساس تکامل اندام‌های لنفاوی در هفت مرحله شامل مرحله چشم-زدگی، سه روز قبل از تفریخ، تفریخ، سه و شش روز بعد از تفریخ، شروع تغذیه فعال و در نهایت ۱۴ روز بعد از شروع تغذیه صورت گرفت. از هر تکرار گروه‌های آزمایشی ۵ عدد جنین و لارو برداشته شد و سریعاً در نیتروژن مایع قرار داده شدند.

نمونه‌ها سه بار با PBS (pH = ۷/۲) شسته شدند و سپس با استفاده از همگن‌ساز دستی مدل (Micro Motor Handpiece. Saeshin. Korea) با حجم یکسان PBS، همگن شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ^{o}C ۴ سانتریفیوژ شدند و بخش شفاف فوقانی به تیوب‌های جدید انتقال داده شدند و تا زمان آنالیز شاخص‌های ایمنی در دمای ^{o}C ۸۰- نگهداری شدند (Hanif *et al*., 2004 با تغییر دور سانتریفیوژ).

پارامترهای فیزیولوژیک در تخم و لارو

اندازه‌گیری پروتئین کل و آلبومین

غلظت‌های پروتئین کل و آلبومین توسط کیت سنجش زیست‌شیمی و بر اساس روش Nayak و

Archive of SID
www.SID.ir

همکاران (۲۰۰۸) و Sahoo و همکاران (۲۰۰۸) اندازه-گیری شدند. میزان آلبومین با استفاده از کیت استاندارد (Glaxo, India) و به روش طیف‌سنجی اندازه‌گیری شد. میزان گلوبولین با کم کردن مقدار آلبومین از پروتئین کل بدست آمده است (Busher, 1990; Alishahi *et al*., 2010; Nya and Austin, 2011). نسبت آلبومین به گلوبولین با تقسیم مقادیر آلبومین بر مقادیر گلوبولین بدست آمد (Jha *et al*., 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

سطح معنی‌داری داده‌ها در حد ۹۵ درصد و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (means ± S.D) ارائه شده است. تاثیر مراحل تکاملی و دما بر پارامترهای ایمنی طی دوره آزمایشی با استفاده از آزمون آنوای دو طرفه (two-way ANOVA) بررسی شد. در مواردی که اثر متقابل دما و مرحله تکاملی مشاهده شد، هر دو متغیر با آزمون آنوای یک‌طرفه (one-way ANOVA) بررسی شدند. ($p<۰/۰۵$). در مواردی که تنها یکی از متغیرها دارای اثر عمده بود، اختلافات میان تیمارها و مراحل تکاملی بر اساس آن متغیر از آنوای یک‌طرفه بررسی و آنالیز شد. اگر اختلاف معنی‌دار مشاهده شد از پس‌آزمون دانکن (Duncan post-hoc) جهت سایر مقایسات استفاده شد. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و ۲۴ صورت گرفت. جهت تعیین ارتباط و رسم نمودارهای ارتباط دما با تکامل نیز از همبستگی در نرم-افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

مدت زمان تکامل

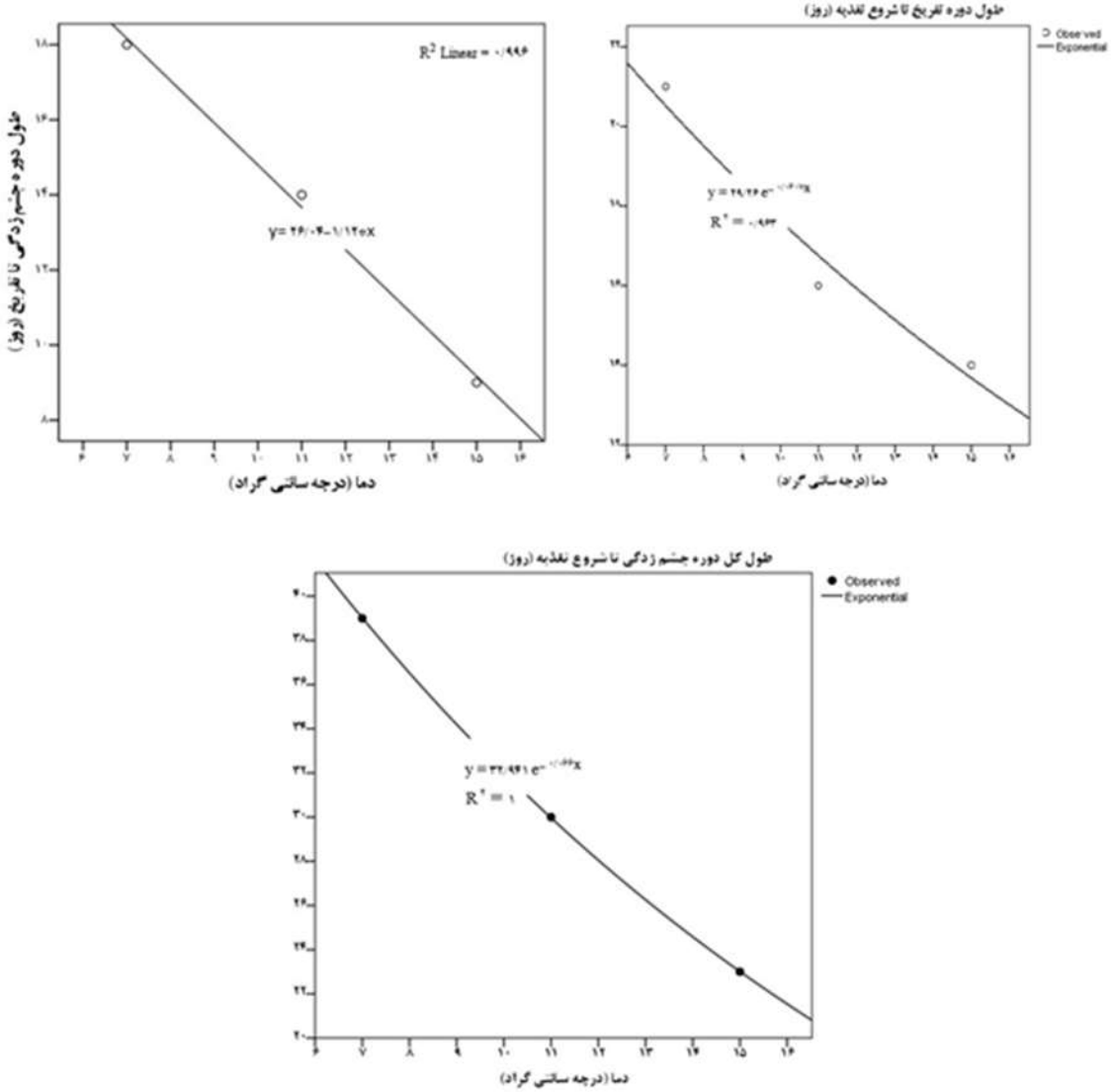
طول مدت زمان از چشم‌زدگی تا تفریخ، تفریخ تا شروع تغذیه و کل زمان چشم‌زدگی تا شروع تغذیه در بین تیمارهای دمایی اختلاف معنی‌داری را نشان داد. طول دوره چشم‌زدگی تا تفریخ به صورت خطی و طول دوره تفریخ تا شروع تغذیه و همچنین کل طول چشم‌زدگی تا شروع تغذیه به صورت نمایی، همراه با افزایش دما کاهش یافت (شکل ۱).

اثر دماهای آزمایشی بر بازماندگی

جدول شماره میزان بازماندگی را طی سه دوره یعنی از چشم‌زدگی تا تفریخ، از تفریخ تا شروع تغذیه بیرونی و در نهایت از شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه نشان می‌دهد. در هر سه دوره اختلاف معنی‌داری بین گروه های آزمایشی از لحاظ میزان بازماندگی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بازماندگی طی دوره چشم‌زدگی تا تفریخ در دو دمای ^{o}C ۱۱ و ۷ به طور معنی‌داری بیشتر از دمای ^{o}C ۱۵ بود ($p<۰/۰۵$). در دوره بعدی یعنی از تفریخ تا شروع تغذیه در دمای ^{o}C ۷ به طور معنی‌داری بیشتر از دو دمای دیگر یعنی ^{o}C ۷ و ^{o}C ۱۱ بود ($p<۰/۰۵$). با این وجود در آخرین مرحله یعنی بعد از شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه میزان بازماندگی در دمای ^{o}C ۱۵ به طور معنی‌داری بیشتر از دو دمای دیگر بود ($p<۰/۰۵$). لازم به ذکر است که بازماندگی تجمعی دمای ^{o}C ۷ به طور معنی-داری بیشتر از دماهای ^{o}C ۱۱ و ^{o}C ۱۵ بود (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: تأثیر دما بر مدت زمان تکامل از تخم چشم زده تا تفریخ، تفریخ تا شروع تغذیه و کل دوره چشم زدگی تا شروع تغذیه (روز) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

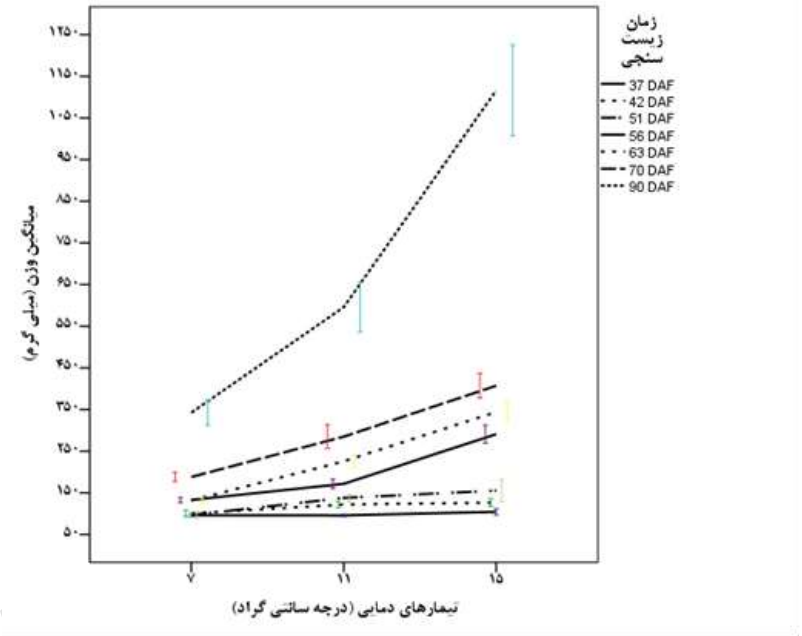
جدول ۲: میانگین بازماندگی (درصد ± انحراف معیار) در جنین و لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در دماهای مختلف

شاخص	دماهای آزمایشی		
	۷ °C	۱۱ °C	۱۵ °C
طول دوره چشم‌زدگی تا ۵۰ درصد تفریخ (روز)	۱۸	۱۴	۹
بازماندگی مرحله چشم‌زدگی تا تفریخ (درصد)	۹۵/۷۵ ± ۱/۴۸^{b}	۹۴/۹۰ ± ۰/۷۵^{b}	۹۳/۰۰ ± ۰/۶۷^{a}
طول دوره تفریخ تا شروع تغذیه	۲۱	۱۶	۱۴
بازماندگی بین تفریخ تا شروع تغذیه (درصد)	۹۸/۲۱ ± ۱/۱۳^{b}	۹۵/۸۱ ± ۱/۰۶^{a}	۹۴/۴۱ ± ۱/۷۳^{a}
بازماندگی از شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه	۹۳/۷۸ ± ۰/۵۴^{a}	۹۲/۷۳ ± ۱/۷۱^{a}	۹۷/۶۱ ± ۰/۹۶^{b}
بازماندگی تجمعی	۹۳/۰۰ ± ۰/۸۰^{b}	۸۷/۵۸ ± ۱/۹۲^{a}	۸۶/۵۵ ± ۱/۴۴^{a}

www.SID.ir

تاثیر دما بر رشد

همانطور که انتظار می‌رفت نتایج نشان می‌دهند که سرعت رشد در ماهیان پرورش یافته در دمای ۱۵ بیشتر از بقیه بود و در انتهای دوره اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که میانگین وزن لاروها ۹۰ روز بعد از لقاح در دمای ۷ °C حدود ۳۴۲/۵۷ میلی‌گرم، دمای ۱۱ °C، ۵۹۶/۰۰ و دمای ۱۵ °C، ۱۱۱۶/۲۹ میلی‌گرم بود. در اولین زیست‌سنجی اختلافی میان تیمارها مشاهده نشد. در ۴۲ و ۵۱ روز بعد از لقاح میانگین وزنی ماهیان دماهای ۱۱ °C و ۱۵ °C به طور معنی‌داری بیشتر از دمای ۷ °C بود. لازم به ذکر است که در چهار زیست‌سنجی آخر یعنی از ۵۶ روز بعد از لقاح اختلاف معنی‌داری میان تیمار ۱۱ °C و ۱۵ °C نیز مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲: میانگین وزن جنین و لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در دماهای مختلف. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n =۶) ارائه شده‌اند.

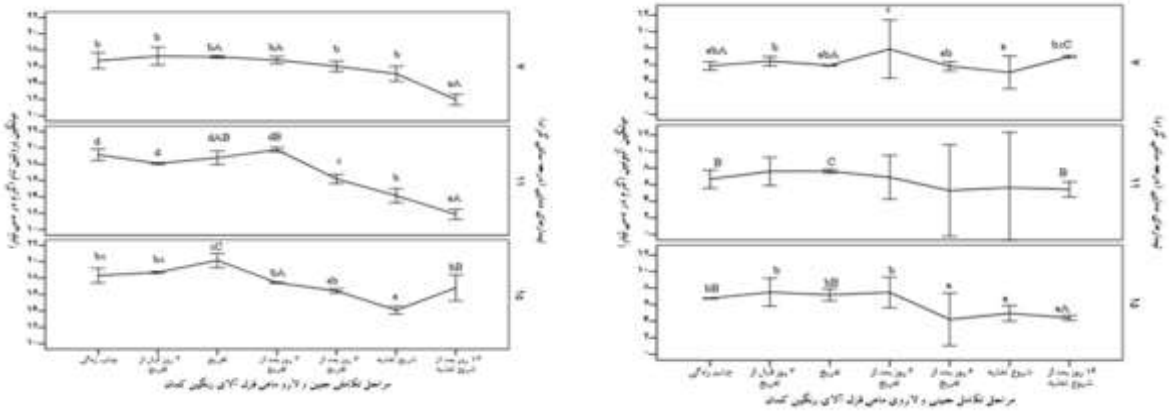
پروتئین کل و آلبومین

نتایج آنوای دوطرفه نشان می‌دهند که هم دما و هم مرحله تکاملی بر میزان پروتئین کل تأثیر عمده داشتند (دمای آزمایشی ($F_{(۲،۴۲)} = ۸/۰۸$، $P = ۰/۰۰۱$)، مرحله تکاملی ($F_{(۶،۴۲)} = ۲۳/۲۴$، $P = ۰/۰۰۰۰$) و اثر متقابل بین دما و مرحله تکاملی نیز معنی‌دار بود ($F_{(۱۲،۴۲)} = ۳/۳۷۵$، $P = ۰/۰۰۲$). علاوه‌براین تاثیر دماهای مختلف طی مراحل مختلف با استفاده از آنوای یک‌طرفه و پس‌آزمون دانکن جهت تعیین اختلافات بررسی شد. نتایج نشان دادند که تنها در سه مرحله تفریخ، سه روز بعد از تفریخ و ۱۴ روز بعد از شروع تغذیه اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (شکل ۳).

در مورد آلبومین دما تاثیری بر میزان آلبومین ایجاد نکرد ($F_{(۲،۴۲)} = ۰/۸۰۴$، $P = ۰/۴۵۴$)، ولی مراحل

www.SID.ir

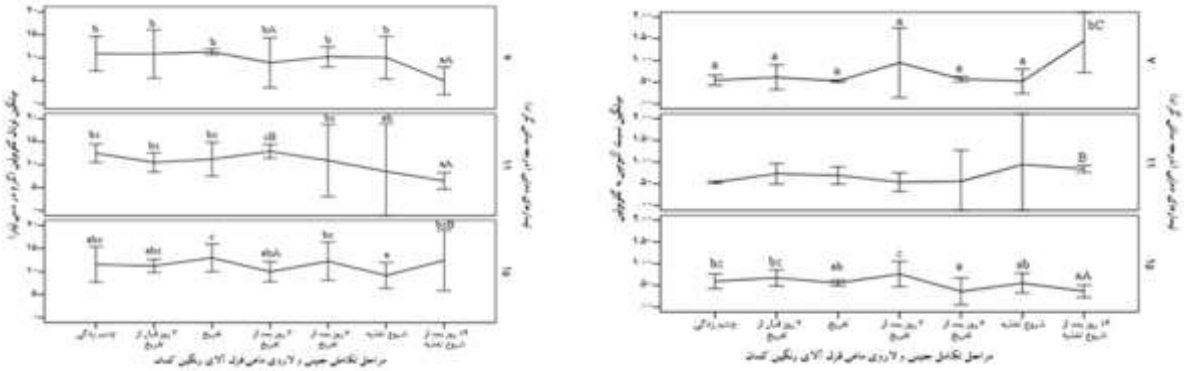
تکاملی بر میـزان آلبـومین تـاثیر داشـت ((P = ۰/۰۰۰۰، F (۶،۴۲) = ۸/۶۶۲)). علاوه بر این اثر متقابل میـان دمـا و مرحلـه تکـاملی معنـی‌دار بـود (P = ۰/۰۴، F (۱۲،۴۲) = ۲/۰۷۷)).



شکل ۳: میانگین پروتئین کل و آلبومین (گرم در دسی‌لیتر) جنین و لارو ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته در دماهای مختلف. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n =۶) ارائه شده‌اند. حروف انگلیسی بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار طی هر مرحله در دماهای مختلف و حروف انگلیسی کوچک نشان دهنده‌اختلاف معنی‌دار میان مراحل مختلف در هر دما است (P <۰/۰۵).

گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین

نتایج آنوای دوطرفه نشان می‌دهنـد کـه هـم دمـا و هـم مرحله تکاملی بر میزان گلوبولین کل تأثیر عمده داشتند (دمـای آزمایشـی (P = ۰/۰۱۰، F (۲،۴۲) = ۵/۱۷۵)، مرحلـه تکـاملی (P = ۰/۰۰۰۰، F (۶،۴۲) = ۵/۵۶۸)) و تأثیرات متقابل بین دما و مرحله تکاملی نیز معنی‌دار بـود (P = ۰/۰۰۶، F (۱۲،۴۲) = ۲/۸۳۷)). علاوه‌براین تـاثیر دماهای مختلف طی مراحل مختلف با استفاده از آنـوای یک‌طرفه و پس‌آزمون دانکـن جهـت تعیـین اختلافـات بررسی شد. نتایج نشان دادند که تنها در سـه روز بعـد از تفریخ و ۱۴ روز بعد از شروع تغذیـه اخـتلاف معنـی‌دار مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴: میانگین گلوبولین کل (گرم در دسی‌لیتر) و نسبت آلبومین به گلوبولین جنین و لارو ماهیـان قـزل‌آلای رنگـین‌کمـان پـرورش یافتـه در دماهای مختلف. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (n =۶) ارائه شده‌اند. حروف انگلیسی بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار طی هـر مرحله در دماهای مختلف و حروف انگلیسی کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان مراحل مختلف در هر دما است (P <۰/۰۵).

Archive of SID

www.SID.ir

نسبت آلبومین به گلوبولین تحت تاثیر دما قرار نگرفت (F (۲،۴۲) = ۳/۰۷۸ ،P = ۰/۰۵۷))، ولی مراحل تکاملی با درجه اطمینان پایینی بر این نسبت تاثیر داشت (F (۶،۴۲) = ۲/۳۴۷ ،P = ۰/۰۴۸)). علاوه‌براین تأثیرات متقابل میان دما و مرحله تکاملی معنی‌دار بود (F (۱۲،۴۲) = ۲/۷۱۷ ،P = ۰/۰۰۸)) (شکل ۴).

بحث

در این پژوهش تأثیر دماهای مختلف بر تکامل، رشد، بازماندگی و پاره‌ای از شاخص‌های فیزیولوژیک طی دوران جنینی و لاروی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. تخم‌های چشم‌زده در دماهای ۷ °C، ۱۱°C و ۱۵ °C تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه پرورش داده شدند. دما بر بازماندگی تأثیر داشت ولی این تأثیر در دوره‌های مختلف متفاوت بود. علاوه‌بر این، شاخص‌های فیزیولوژیک از جمله گلوبولین کل و پروتئین کل تحت تأثیر دما قرار گرفتند ولی دما اثر عمده‌ای بر آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین ایجاد نکرد. از سوی دیگر، مرحله تکاملی جنینی و لاروی بر همه شاخص‌ها تأثیر گذار بود.

اثر دما بر تکامل

مدت زمان تکامل

یکی از معیارهای متداول ارزیابی روند تکامل تأثیر دما بر طول دوره لقاح تا تفریخ است (Blaxter, 1969). از سوی دیگر، یکی از اساسی‌ترین تأثیرات دما را می‌توان در مدت زمان تکامل تخم لقاح‌یافته ماهیان تا تفریخ مشاهده نمود. زمان تکامل به عنوان یک ویژگی اختصاصی واضح مطرح است. طول دوره تکاملی وابستگی مطلق به دما دارد (Blaxter, 1992; Kamler, 1992; Hochachka and Somero, 2002). در پژوهش حاضر، طول دوره چشم‌زدگی تا تفریخ به صورت خطی و طول دوره تفریخ تا شروع تغذیه و همچنین کل طول چشم‌زدگی تا شروع تغذیه به صورت نمایی، همراه با افزایش دما کاهش یافت (شکل ۱). در تشابه با پژوهش حاضر مطالعات مختلف (Blaxter, 1969; Blaxter, 1992; Kamler, 1992; Réalis-Doyelle *et al*., 2016) نشان داده‌اند که رابطه میان طول دوره انکوباسیون و دما در برخی گونه‌ها از جمله قزل‌آلای قهوه‌ای (Réalis-Doyelle *et al*., 2016) (*Salmo trutta* L) از طریق فرمول‌های نمایی قابل توصیف است. Garside (۱۹۶۶) در مطالعه‌ای جامع تاثیر دما را بر نرخ تکامل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و جویباری بررسی کرده و به طور کل، رابطه خطی میان دما و طول دوره تکامل تایید نشده است. در مورد خطی بودن ارتباط در مرحله چشم‌زدگی تا تفریخ شاید بتوان به این مورد اشاره کرد که با توجه به اینکه تخم‌ها در مرحله چشم‌زدگی توزیع شدند، بنابراین احتمالاً تأثیر دما مستلزم صرف زمان و آداپتاسیون بیشتر بوده است. با این وجود، در مطالعه Garside (۱۹۶۶) نیز در برخی مراحل ۲۰ گانه تکاملی ارتباط خطی مشاهده شده است. در مطالعه مروری Kinne و Kinne (۱۹۶۲) پیشنهاد شده است که در مجموع ارتباط دما بر نرخ تکاملی بر اساس ارتباط خطی قابل توصیف نیست که در مطالعه Garside (۱۹۶۶) نیز این مسأله را تایید کرده است. لازم به ذکر است که اخیراً در برخی ماهیان دریایی از جمله *Lutjanus johnii* (Sugiarto *et al*., 2015)، *Lutjanus peru* (Peña *et al*., 2014) و

Archive of SID

www.SID.ir

Epinephelus striatus (Watanabe *et al*., 1995) ارتباط خطی مشاهده شده است.

تأثیر بر بازماندگی

در پژوهش حاضر دما بر بازماندگی دوران تکامل جنینی و لاروی ماهی قزل‌آلا تأثیرگذار بود. نتایج نشان می‌دهند که طی دوره آزمایشی از تخم چشم‌زدگی تا بچه ماهی، دماهای مناسب پرورشی متفاوت است. با توجه به این نتایج بازماندگی طی سه دوره شامل بازماندگی چشم‌زدگی تا تفریخ، بازماندگی تفریخ تا شروع تغذیه فعال و در نهایت بازماندگی شروع تغذیه تا بچه ماهی بررسی شد. بازماندگی تجمعی نیز محاسبه و بررسی شد. بازماندگی در تمامی این دوره‌ها نسبتاً بالا بود (بالای ۹۲ درصد)، با این وجود در دوره‌های ذکر-شده اختلافات معنی‌داری مشاهده شد. طی دوره اولی یعنی از چشم‌زدگی تا تفریخ بازماندگی در دو دمای ۷ °C و ۱۱°C به طور معنی‌داری بیشتر از گروه ۱۵ °C بود. در دوره بعدی از تفریخ تا شروع تغذیه، بازماندگی در دمای ۷ °C به طور معنی‌داری بیشتر از دو دمای دیگر یعنی ۷ °C و ۱۱ °C بود. مطالعات مختلفی دمای بهینه طی این دوره را برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۷ °C تا ۱۲ °C عنوان کرده‌اند و گزارش شده است که بالاتر از ۱۵ °C و کمتر از ۲ °C تلفات افزایش می‌یابد (Kwain 1975; Raleigh *et al*. 1984; Velsen 1987; Myrick and ech 2001; Carter 2005; Weber *et al*., 2016). در این پژوهش میزان بالای بازماندگی در دمای ۱۵ °C خارج از دامنه متصور بود. از جمله دلایل این میزان بالای بازماندگی می‌توان به اختلافات در دماهای بهینه در نژادهای مختلف اشاره نمود که برخی محققین نیز به این موضوع اشاره نموده‌اند (McIntyre and Blanc 1973; Danzmann and Ferguson 1988; Behnke 1992; Groot 1996; Weber *et al*., 2016). Purtscher (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای به بررسی دامنه دمایی که در آن حداقل ۵۰ درصد لاروها زنده می‌مانند پرداخت. این محقق به نتایج غیرمنتظره‌ای رسید به طوری‌که دمای بهینه ۱۱ °C و محدوده صفر تا ۲۲ °C با بازماندگی حداقل ۵۰ درصد بازماندگی گزارش شد. Kamler و Kato (۱۹۸۳) بازماندگی طی دوره انکوباسیون را در دماهای ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بیشترین بازماندگی در دماهای ۱۰ °C و ۱۲ °C بود در ۱۴°C بازماندگی به صورت جزئی کمتر بود و در دو دمای ۹ °C و ۱۶ °C بازماندگی به طور ناگهانی کاهش یافت. Kwain (۱۹۷۵)، کمترین تلفات را در دماهای ۷ °C و ۱۰ °C مشاهده نمود. Humpesh (۱۹۸۵) گزارش داد که بهترین تفریخ در دمای بین ۷ °C تا ۱۱ °C رخ می‌دهد و همچنین Alekseeva (۱۹۸۷) دمای بهینه انکوباسیون را ۱۰/۵ °C – ۵/۳ عنوان کرده است(به نقل از Zotin, 1990). McCullough و همکاران (۲۰۰۱) بر اساس بررسی منابع علمی موجود به این نتیجه رسیده است که دمای بهینه انکوباسیون و مرحله تکامل جنینی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دمای ۱۰– ۷ °C است. در دوره بعدی یعنی از تفریخ تا شروع تغذیه در دمای ۷ °C به طور معنی‌داری بیشتر از دو دمای دیگر یعنی ۷ °C و ۱۱ °C بود ($p < ۰/۰۵$). در پژوهش حاضر در آخرین مرحله یعنی بعد از شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه میزان بازماندگی در دمای ۱۵ °C به طور معنی-داری بیشتر از دو دمای دیگر بود و همچنین بازماندگی تجمعی دمای ۷ °C به طور معنی‌داری بیشتر از دماهای

Archive of SID

www.SID.ir

°C ۱۱ و °C ۱۵ بود. Purtscher (۲۰۱۰)، نشان داد که در مقایسه با دمای بهینه تفریخ، دمای بهینه بازماندگی لاروی در آزاد ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین کمان نسبتاً بالاتر است و عنوان نموده که نیازهای دمایی طی دوره‌های مختلف زندگی قابل تغییر هستند. در تطابق با نتایج این پژوهش مطالعات مختلفی عنوان کرده‌اند که ظاهراً دما در طول دوران تکاملی اثرات کشنده متفاوتی دارد و مراحل قبل از تفریخ دامنه تحمل دمایی کمتری دارند (Peterson *et al*., 1977; Rombough, 1988; Blaxter, 1992; Ojanguren *et al*. 1999).

تأثیر دما بر رشد

در بین تمامی فاکتورهای موثر بر رشد، دما بیشترین اثر را اعمال می‌کند. دما به عنوان یک فاکتور کنترل‌کننده (Fry, 1971)، بر نرخ واکنش‌های شیمیایی انرژی زیستی در موجودات خونسرد اثرگذار است. در مواردی که اثرات سایر فاکتورهای محیطی از جمله جیره، دوره نوری و شوری همزمان با دما بررسی شده است، دما نه تنها بیشترین اثر نسبی را بر رشد داشته است، بلکه حتی میزان تأثیرگذاری سایر فاکتورها بر رشد را نیز تحت تأثیر قرار داده است (Iwama, 1996).

سرعت رشد در ماهیان پرورش یافته در دمای ۱۵ بیشتر از بقیه بود و در انتهای دوره اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. رشد در دمای °C ۱۵ حدود دو برابر دمای °C ۱۱ و ۳ برابر دمای °C ۷ بود. اثر دما در دوره بعد از شروع تغذیه به صورت تأثیر بر رشد نمایان است (Blaxter, 1992;). مطالعات در ماهیان مختلف نیز افزایش رشد را نشان داده‌اند. لارو ماهی کاد و هاداک[1] (Laurence, 1978)، نیز رشد ۲ تا ۳ برابری در دامنه °C ۵ مشاهده شده است. لارو ماهی آزاد ساک‌آی (Shelbourn *et al*., 1973)، نیز افزایش رشد بین °C ۱۵-۵ مشاهده شده ولی در °C ۲۰ افت کرده است. اگرچه ممکن است لاروهای کوچک‌تری در دماهای بالاتر ایجاد شوند، با این وجود افزایش رشد بعد از شروع تغذیه می‌تواند قابل توجه و کاربردی‌تر باشد. نکته قابل توجه نتایج این بخش آن است که نشان می‌دهد رشد لاروی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند در دامنه گسترده دمایی صورت گیرد.

پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین کل و نسبت آلبومین به گلوبولین

پروتئین‌ها مهمترین ترکیبات سرم هستند و آلبومین و گلوبولین نیز مهمترین پروتئین‌های سرم می‌باشند (Kumar *et al*., 2005). آلبومین در کبد ساخته می‌شود از جمله فاکتورهای تاثیرگذار بر ساخت آلبومین می‌توان به منابع غذایی پروتئینی و اسیدهای آمینه، فشار اسمزی کلوئیدی، فعالیت برخی هورمون‌ها و وضعیت بیماری اشاره نمود (Busher, 1990). بخش گلوبولین شامل صدها پروتئین موجود در سرم از جمله پروتئین‌های حامل[2]، آنزیم‌ها، کمپلمان و ایمونوگلوبولین‌ها می‌باشد. اغلب گلوبولین‌ها نیز در کبد ساخته می‌شوند، با این وجود ایمونوگلوبولین‌های بوسیله سلول‌های پلاسمایی ساخته می‌شوند. معمولاً افزایش گلوبولین حاصل افزایش ایمونوگلوبولین‌ها است، ولی در شرایط بیماری می‌تواند حاصل افزایش سایر پروتئین‌ها نیز باشد (Busher, 1990). معمولاً پروتئین تام از ۲ تا ۸ گرم در دسی‌لیتر در سرم ماهیان متغیر است (Fletcher, 1975; Fellows *et al*., 1980; Miller *et al*., 1983; Sandnes *et al*., 1988; Hunn and Greer, 1990;

[1] - cod and haddock

[2] - carrier proteins

Archive of SID
www.SID.ir

McDonald and Milligan, 1992; Manera and Britti, 2006; Kopp *et al*., 2011) و به نظر می‌رسد در گونه‌های مختلف و در افراد یک گونه ثابت باشد. در پژوهش حاضر میزان پروتئین کل از ۱۱/۸۸ تا ۲۰/۱۶ متغیر بود. یکی از عوامل اصلی تغییر در میزان پروتئین کل تغییر در حجم پلاسما است. جابجایی و انتقال مایع از پلاسما به اجزاء درون سلولی باعث افزایش و از بین رفتن آب پلاسما منجر به کاهش پروتئین کل می‌شود. جابجایی مایع به خارج از پلاسما حاصل عدم تعادل اسمزی میان اجزاء درون‌سلولی و خارج‌سلولی است و هر گونه تنشی که باعث برهم زدن این تعادل شود می‌تواند منجر به افزایش پروتئین پلاسما شود. نتایج مطالعات تأثیر تغییرات فصلی بر پروتئین کل پلاسما معمولاً متناقض است. Haider (۱۹۷۱) بیشینه سطوح پروتئین کل را در اواسط زمستان گزارش کرده است، در حالی که Schlotfeldt (۱۹۷۵) بیشینه پروتئین کل را در انتهای تابستان عنوان کرده است. Denton و Yousef (۱۹۷۵) بیشترین میزان پروتئین سرم را در ماه جولای (تیر) و کمترین آن را در ماه مارس (اسفند) گزارش کرده‌اند. این مغایرات ظاهری تأثیر تغییرات فصلی بر پروتئین کل احتمالاً ناشی از اختلافات نژادی، نوع مدیریت و جیره غذایی است (Denton and Yousef, 1975). در این پژوهش در مجموع میزان پروتئین کل در دو دمای ۱۱ و ۱۵ ^{o}C بیشتر از دمای ۷ ^{o}C بود. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش جزئی دما ($۲^{o}C$) به صورت مزمن، بر تعادل سوخت‌وساز پروتئین که یکی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی ماهیان آب شیرین است، تأثیر می‌گذارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ساخت پروتئین با افزایش دما، در هر دو شرایط سازگاری با دمای ثابت و افزایش دمای جزئی آب در محیط طبیعی بیشتر می‌شود (Fauconneau and Arnal, 1985; Morgan *et al*., 1998; Reid *et al*., 1995, 1997, 1998). اگرچه در مواردی از جمله مطالعه Reid و همکاران (۱۹۹۵)، وقتی دمای آب در اواخر تابستان به ۲۴ ^{o}C نزدیک حد بالایی قابل تحمل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ($۲۶^{o}C$) رسید، افزایش دو درجه‌ای دما منجر به جلوگیری از ساخت پروتئین و رشد بدن شد. در مطالعه Morgan و همکاران (۱۹۹۹)، نیز با شبیه‌سازی افزای دمای کره زمین به صورت آزمایشی اثرات بازدارندگی ساخت پروتئین مشاهده شد. البته این محققین به نقش غذا در این نتایج اشاره کرده اند و عنوان شده است که غذادهی محدود باعث می‌شود که حدود بالایی دماهای بازدارنده ساخت پروتئین کاهش یابد. با این وجود شواهد قوی تایید‌کننده این موضوع وجود ندارد و مطالعات کمی در این خصوص اجرا شده است. بر خلاف نظر Morgan و همکاران (۱۹۹۹) تفاوتی در میزان ساخت پروتئین در دماهای مختلف تحت شرایط غذایی یکسان مشاهده نکردند.

در پژوهش حاضر هم دما و هم مراحل تکاملی بر میزان پروتئین کل و گلوبولین کل اثر عمده داشته است و اثرات متقابل دما و مرحله تکاملی نیز معنی‌دار بود. Jokinen و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که غلظت ایمونوگلوبولین پلاسما ماهیان نگهداری شده در دمای ۱۹ ^{o}C سه برابر دمای ۱۴ ^{o}C بود. Sanchez و همکاران (۱۹۹۳) نیز مشاهده کرد که غلظت ایمونوگلوبولین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن بزرگ‌تر از ۱۰۰۰ گرم همراه با کاهش دما در زمستان کاهش یافت. علاوه‌براین گزارشاتی مبنی بر افزایش غلظت ایمونوگلوبولین در دماهای بالاتر در ماهی کاد اطلس

Archive of SID

www.SID.ir

(*Gadus morhua*)(Magnadóttir *et al*., 1999)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Suzuki *et al*., 1997) و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Dominguez *et al*., 2004) وجود دارد. Suzuki و همکاران (۱۹۹۶) عنوان کرده که تغییرات فصلی مشاهده شده در سطوح غلظت ایمونوگلوبولین ماهی طلایی علاوه بر دما به رسیدگی جنسی نیز مرتبط است. در نقطه مقابل Olsen و Jørgensen (۱۹۸۶) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و همچنین Klesius (۱۹۹۰) در گربه ماهی کانالی رابطه‌ای میان دما و سطوح غلظت ایمونوگلوبولین مشاهده نکردند. در ماهی کپور اروپایی نیز تعداد سلول‌های ترشح کننده ایمونوگلوبولین در اندام‌های لنفاوی نیز در دماهای مختلف ثابت مانده است (Rijkers *et al*., 1980). دلایل این اختلافات مشاهده شده و همچنین نتایج مشاهده شده در این پژوهش را می‌توان در ارتباط با عواملی از جمله گونه ماهی، چرخه زندگی، فصل تولیدمثلی، سلامت و سن ماهی عنوان کرد (Suzuki *et al*., 1996; Dominguez *et al*., 2004; Jokinen *et al*., 2011).

در خصوص آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین نیز دما تأثیری نداشت ولی مراحل تکاملی تاثیر داشت و برهم‌کنش میان این دو نیز معنی‌دار بود. با توجه به اینکه در هر دو مورد ذکر شده آلبومبن نقش تعیین‌کننده دارد می‌توان دلیل عدم تاثیر دما را به انتقال مادری در مراحل ابتدایی و در ادامه نیز ابتدایی بودن کبد که محل تولید آلبومین است نسبت داد. در پژوهش حاضر تنها در ۱۴ روز بعد از شروع تغذیه اختلاف معنی‌داری از لحاظ نسبت آلبومین به گلوبولین در بین تیمارهای دمایی مشاهده شد که این نسبت در دمای ۷ °C به طور معنی‌داری بیشتر از دمای ۱۱ °C و ۱۵ °C بود و در دمای °C ۱۱ نیز به طور معنی‌داری کمتر از ۱۵ °C بود. Meisner و Hickman (۱۹۶۲) نیز مشاهده کردند که نسبت آلبومین به گلوبولین در دمای ۸ °C بیشتر از دمای °C ۱۶ است. این محققین دلیل این افزایش را افزایش آلبومین و کاهش گلوبولین عنوان کرده‌اند.

دمای آب یکی از مهمترین فاکتورهای محیطی تأثیرگذار بر تکامل جنین و بازماندگی و رشد در دوران لاروی ماهیان است. در پژوهش حاضر، مدت زمان تکامل، میزان بازماندگی و وزن نهایی تحت تأثیر دما قرار گرفت. علاوه‌براین، هم دما و هم مرحله تکاملی بر میزان پروتئین کل و گلوبولین کل تأثیر عمده داشتند ولی اثر عمده بر آلبومین و نسبت آلبومین به گلوبولین مشاهده نشد.، به طور کلی اگرچه بازماندگی در دمای ۱۵ °C در مراحل ابتدایی کمتر بود ولی بازماندگی بیشتر بعد از شنای فعال و رشد سریع‌تر می‌تواند ابزاری مفید برای کاهش تلفات لاروی و در نتیجه مدیریت بهتر پرورش لاروی باشد. از سوی دیگر، اگرچه در این پژوهش اثر عمده دما بر پروتئین کل و گلوبولین کل مشاهده شد، با این حال نمی‌توان یک الگوی مشخص در تیمارهای دمایی ارائه داد، که تفسیر داده‌ها را تحت-الشعاع قرار می‌دهد. به نظر می‌رسد در صورتی که این پژوهش در مدت زمان بیشتری ادامه می‌یافت و بچه ماهیان به وزن‌های بالاتر حدود گرم می‌رسیدند نتایج فوق العاده‌ای بدست می‌آمد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi jalali, M., 2010. Effects of dietary Aloe Vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Researches 4; 3, 85-91.
2. Behnke, R.J., 1992. Native trout of western North America. American Fisheries Society Monograph 6.
3. Blaxter, J.H.S., 1969. Development: Eggs and Larvae. In: W. S. HOAR & D. J. RANDALL (Eds): Fish Physiology: Vol. III: 177-252. Academic Press, New York.
4. Blaxter, J.H.S., 1992. The effect of temperature on larval fishes. Netherlands Journal of Zoology 42, 336–357.
5. Bly, J.E., Clem, L.W., 1992. Temperature and teleost immune functions. Fish and Shellfish Immunology. 2: 159–171.
6. Bowden, T.J., Bricknell, I.R., 2013. Management of finfish and shellfish larval health in aquaculture hatcheries. In: Advances in Aquaculture Hatchery Technology. Eds Allen & Burnell, Woodhead Publishing, Cambridge, UK. Pages 223-245.
7. Bricknell, I., Dalmo, R.A., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish and Shellfish Immunology 19: 457–472.
8. Busher, J.T., 1990. Serum Albumin and Globulin. In: Walker, H.K., Hall, W.D., Hurst, J.W., editors. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 101. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK204/
9. Carter, K., 2005. The effects of temperature on steelhead trout, coho salmon, and Chinook salmon biology and function by life stage. Implications for the Klamath River total maximum daily loads. California Regional Water Quality Control Board. North Coast Region, Santa Rosa, California. (August 2005).
10. Danzmann, R.G., Ferguson M.M., 1988. Temperature-dependent genotypic selection and embryonic survival of rainbow trout. Biochemical Genetics 26:69–81.
11. Denton, J.E., Yousef, M.K., 1975. Seasonal changes in hematology of rainbow trout, Salmo gairdneri. Comparative Biochemistry and Physiology A 51:151–153
12. Dominguez, M., Takemura, A., Tsuchiya, M., Nakamura, S., 2004. Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture; 241:491-500.
13. Fauconneau, B., Arnal, M., 1985. In vivo protein synthesis in different tissues and the whole body of rainbow trout (*Salmo gairdneri R.*): influence of environmental temperature. Comparative Biochemistry and Physiology. 82A:179–87.
14. Fellows, F.C.I., Hird, F.J.R., McLean, R.M., Walker, T.J., 1980. A survey of the nonesterified fatty acids and binding proteins in the plasmas of selected animals. Comparative Biochemistry and Physiology. 67B, 593-597.
15. Fernandes, J.M.O., MacKenzie, M.G., Wright, P.A., Steele, S.L., Suzuki, Y., Kinghorn J.R., Johnston I.A., 2006. Myogenin in model puffer fish species: comparative genomic analysis and thermal plasticity of expression during early development. Comparative Biochemistry and Physiology D1: 35-45.
16. Fernandes, J.M.O., MacKenzie, M.G., Kinghorn J.R., Johnston I.A., 2007. FoxK1 splice variants show developmental stage-specific plasticity of expression with temperature. Journal of Experimental Biology 210: 3461-3472.
17. Fletcher, G.L. 1975. The effects of capture, "stress," and storage of whole blood on the red blood cells, plasma proteins, glucose, and electrolytes of the winter flounder (*Pseudopleuronectes amrricanus*). Canadian journal of zoology. 53, 197-206.
18. From, J., Rasmussen, G.. 1991. Growth of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Archive of SID

www.SID.ir

(Walbaum, 1792) related to egg size and temperature. Dana 9: 31-38.

19. Garside, E.T., 1966. Effects of oxygen in relation to temperature on the development of embryos of brook trout and rainbow trout. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 23, 1121-34.
20. Groot, C., 1996. Salmonid life histories. In Developments in Aquaculture and Fisheries Science V. 29: Principles of Salmonid Culture, ed. W. Pennell and B. A. Barton, 97-230. Elsevier, Amsterdam.
21. Haider, G. 1971. Changes related to age and season in the serum protein of rainbow trout (Salmo gairdneri Rich.). 2. Fisch Hirfswiss. l,107-124.
22. Hanif, A., Bakopoulos, V., Dimitriadis, G.J., 2004. Maternal transfer of humoral specific and non-specific immune parameters to sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Fish and Shellfish Immunology, 17:411–435.
23. Hardy, R. S., Litvak, M.K., 2004. Effects of temperature on the early development, growth and survival of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrhynchus*, yolk-sac larvae. Environmental Biology of Fishes, 70,145-154.
24. Heinecke, R.D., Chettri, J.K., Buchmann, K., 2014. Adaptive and Innate Immune Molecules in Developing Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* Eggs and Larvae: Expression of Genes and Occurrence of Effector Molecules. Fish and Shellfish Immunology, 38, 25-33.
25. Hochachka, P.W., Somero, G.N., 2002. Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution. Toronto: Oxford University Press.
26. Humpesch, U., 1985. Inter- and intra-specific variation in hatching success and embryonic development of five species of salmonids and *Thymallus thymallus*. Archiv fur Hydrobiologie. 104. 129-44.
27. Hunn, J.B., Greer, I.E., 1990. Colorimetric and refractometric estimates of total plasma protein in striped bass, *Morone suxatilis* (Walbaum). Journal of Fish Biology. 36, 617–618.
28. Iwama, G.K., 1996. Growth of salmonids. In: Pennell, W., Barton, B.A. (Eds.), Principles of Salmonid Culture. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands
29. Jha, A.K., Pal, A.K., Sahu, N.P., Kumar, S., Mukherjee, S. C. Haemato immunological responses to dietary yeast RNA, w-3fatty acid and β-carotene *in Catla catla* juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 2007; 23, 917– 927.
30. Johnston, I. A., 2003 Muscle metabolism and growth in Antarctic fishes (suborder Notothenioidei): evolution in a cold environment. Comparative Biochemistry and Physiology B136: 701-713.
31. Jokinen, I.E., Salo, H.M., Markkula. E., Rikalainen, K., Arts, M.T., Browman, H.I., 2011. Additive effects of enhanced ambient ultraviolet B radiation and increased temperature on immune function, growth and physiological condition of juvenile (parr) Atlantic salmon, *Salmo salar*. Fish and Shellfish Immunology, 30:102-8.
32. Kamler, E., 1992. Early life history of fish: An energetics approach. Fish and Fisheries. Series 4, ed. Pitcher, T J. 267p.
33. Kamler, E., Kato, T., 1983. Efficiency of yolk utilization by Salmo gairdneri in relation to incubation temperature and egg size. Polskie Archiwum Hydrobiologii 30, 271–306.
34. Kinne, O., Kinne, E.M., 1962. Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature-salinity oxygen combinations. Canadian journal of zoology. 40: 231-253.
35. Klesius, P.H., 1990. Effect of size and temperature on the quantity of immunoglobulin in channel catfish, Ictalurus punctatus. Veterinary Immunology and Immunopathology. 24: 187–195.
36. Kopp, R., Mareš, J., Lang, S., Brabec, T., Ziková, A., 2011. Assessment of ranges plasma indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under

Archive of SID

www.SID.ir

conditions of intensive aquaculture. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 6, 181–188.
37. Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on hematology, respiratory burst activity and histological changes in L. rohita juveniles. Fish and Shellfish Immunology. 19 (4), 331–344.
38. Kwain, W., 1975. Effects of temperature on development and survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), in acid waters. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 32:493-497.
39. Laurence, G.C., 1978. Comparative growth, respiration and delayed feeding abilities of larval cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) as influenced by temperature during laboratory studies. Marine Biology. 50: 1-7.
40. Le Morvan, C., Troutaud, D., Deschaux, P., 1998. Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish. Journal of Experimental Biology 201, 165–168.
41. Magnadóttir, B., Jónsdóttir, H., Helgason, S., Björnsson, B., Jørgensen, T.Ø., Pilström, L., 1999. Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I. The effects of environmental temperature. Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology. 122: 173-180.
42. Manera, M., Britti, D., 2006. Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. Journal of Fish Biology 69: 1427–1434.
43. McCarthy, I.D., Houlihan, D.F., 1997. The effect of temperature of protein metabolism in fish: the possible consequences for wild Atlantic salmon, *Salmo salar* (L.) stocks in Europe as a result of global warming. In Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish (Wood, C. M. & McDonald, D. G., eds), pp. 51–77. Cambridge: Cambridge University Press.
44. McCullough, D., Spalding, S., Sturdevant, D., Hicks, M., 2001. Issue Paper 5. Summary of technical literature examining the physiological effects of temperature on salmonids. Prepared as part of U.S. EPA Region 10 Temperature Water Quality Criteria Guidance Development Project. EPA-910-D-01-005.
45. McDonald, D.G., Milligan, C.L., 1992. Chemical properties of the blood. Pages 55–133 in Hoar, W.S., Randall, D.J., Farrell, A.P., editors. Fish physiology, volume XXI, part B. The cardiovascular system. Academic Press, San Diego, California.
46. McIntyre, J.D., Blanc J.M., 1973. A genetic analysis of hatching time in steelhead trout (Salmo gairdneri). Journal of the Fisheries Research Board of Canada 30: 137–139.
47. Meisner, H.M., Hickman, C.P., 1962. Effect of temperature and photoperiod on the serum proteins of the rainbow trout, Salmo gairdneri. Canadian Journal of Zoology, 40(2):127 – 130.
48. Miller, T.J., Crowder, L.B., Rice, J.A., Marschall, E.A., 1988. Larval size and recruitment mechanisms in fishes: Toward a conceptual framework. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 45: 1657–1670.
49. Miller, W.R., Hendricks, A.C., Cairns, J., 1983. Normal ranges for diagnostically important hematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 40,420-425.
50. Morgan, I.J., D′Cruz, L.M., Dockray, J.J., Linton, T.K., McDonald, D.G., Wood, C.M., 1998. The effects of elevated winter temperature and sub-lethal pollutant (low pH, elevated ammonia) on protein turnover in the gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry. 19, 377–389.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34: 31–43.
59. Purtscher, U., 2010. Effects of body weight at hatching and water temperature on development of the yolk-sac larvae of six species of salmonids, including grayling. River Systems, Vol. 19 No 1: 43 - 58
60. Raleigh, R.F., Hickman, T., Solomon, R.C., Nelson, P.C. 1984. Habitat suitability information: rainbow trout. US Fish and Wildlife Service Report No. FWS/OBS-82/10.60.
61. Réalis-Doyelle, E., Pasquet, A., De Charleroy, D., Fontaine, P., Teletchea, F., 2016. Strong Effects of Temperature on the Early Life Stages of a Cold Stenothermal Fish Species, Brown Trout (*Salmo trutta* L.). PLoS ONE 11(5): e0155487.
62. Reid, S.D., Dockray, J.J., Linton, T.K., McDonald, D.G., Wood, C.M., 1995. Effects of a summer temperature regime representative of a global warming scenario on growth and protein synthesis in hardwater- and softwater-acclimated juvenile rainbow (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Thermal Biology. 20:231–44.
63. Reid, S.D., Dockray, J.J., Linton, T.K., McDonald, D.G., Wood, C.M. 1997. Effects of chronic environmental acidification and a summer global warming scenario: protein synthesis in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.54: 2014–24.
64. Reid, S.D., Linton, T.K., Dockray, J.J., McDonald, D.G., Wood, C.M. 1998. Protein synthesis in juvenile rainbow trout: the impact of a simulated global warming regime in the presence and absence of sublethal ammonia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 55:1534–44.
65. Rice, J.A., Crowder, L.B., Binkowski, F.P., 1987. Evaluating potential sources of mortality for larval bloater (*Coregonus hoyi*): Starvation and vulnerability to predation. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 44: 467–472.
51. Morgan, I., D′Cruz, L., Dockray, J., Linton, T., Wood, C., 1999. The effects of elevated summer temperature and sublethal pollutants (ammonia, low pH) on protein turnover in the gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on a limited food ration. Comparative Biochemistry and Physiology. A 123:43–53.
52. Myrick, C. A., J. J. Cech., 2001. Temperature Effects on Chinook Salmon and Steelhead: a Review Focusing on California's Central Valley Populations. Bay-Delta Modeling Forum.Technical Publication 01-1. 57pp.
53. Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P..K, Maiti, N.K., 2008. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology, 24(4):394–399.
54. Nya, E.J., Austin, B., 2011. Dietary modulations of digestive enzymes by administration of feed additives to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Walbaum Aquaculture Nutrition 17: 459–466.
55. Ojanguren, A.F., Reyes-Gavilan, F.G., Munoz, R.R., 1999. Effects of temperature on growth and efficiency of yolk utilisation in eggs and pre-feeding larval stages of Atlantic salmon. Aquaculture International, 7: 81–87.
56. Olsen, N.J., Jørgensen, P.E., 1986. Quantification of serum immunoglobulin in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, under various environmental conditions. Diseases of Aquatic Organisms 1, 183-192.
57. Peña R, Dumas S, Zavala-Leal I and Contreras-Olguín M. 2014. Effect of incubation temperature on the embryonic development and yolk-sac larvae of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922), Aquac. Res., 45(3): 519–527.
58. Peterson, R.H., Spinney, H.C.E. Sreedharan, A., 1977. Development of Atlantic salmon (Salmo salar) eggs and alevins under varied temperature regimes.

Archive of SID

www.SID.ir

Immunology, pp. 241–275. Science Publishers, Basingstoke, NH.
74. Sugden, P.H., Fuller, S.J., 1991. Regulation of protein turnover in skeletal and cardiac muscle. Biochemical Journal, 273, 21-37.
75. Sugiarto H, Sri Widodo M and Soeprijanto A. 2015. The Effect of Temperature to Incubation Period, Hatching Rate, Normality and Larvae Size of *Lutjanus Johnii* Bloch, 1792. J. Life Sci. Biomed. 5(5): 110-115.
76. Suzuki, Y., Orito, M., Iigo, M., Kenzuka, M., Aida, K., 1996. Seasonal changes in blood IgM levels in goldfish, with special reference to water temperature and gonadal maturation. Fish Sci 62:754–759.
77. Suzuki, Y., Otaka, T., Sato, S., Hou, Y.Y., Aida, K., 1997. Reproduction related immunoglobulin changes in rainbow trout. Fish Physiology and Biochemistry, 17: 415-421.
78. Velsen, F.J., 1987. Temperature and incubation in Pacific salmon and rainbow trout: compilation of data on median hatching time, mortality, and embryonic staging. Canadian Data Report of Fisheries and Aquatic Sciences 626:1–58.
79. Verner-Jeffreys, D., Shields, R., Bricknell, I., Birkbeck, T., 2003. Changes in the gut-associated microflora during the development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae in three British hatcheries. Aquaculture 219: 21–42.
80. Verner-Jeffreys, D.W., Shields, R.J., Bricknell, I.R., Birkbeck, T.H., 2004. Effects of different water treatment methods and antibiotic addition on larval survival rate and gut microflora development in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) yolk sac larvae. Aquaculture 232, 129–143.
81. Watanabe WO, Lee CS, Ellis SC and Ellis EP. 1995. Hatchery study of the effects of temperature on eggs and yolksac larvae of the Nassau grouper Epinephelus striatus. Aquaculture, 136(1–2): 141–147.
66. Rijkers, GT., Frederix-Wolters, E.M., van Muiswinkel, W.B., 1980. The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). Immunology 1980; 41:91-7.
67. Rombough, P.J. 1988. Respiratory gas exchange, aerobic metabolism, and effects of hypoxia during early life. In Fish Physiology (eds S. Hoar and D.J. Randall) Vol. XIA, pp. 59–61. Academic Press, San Diego.
68. Sahoo, P.K., Das Mahapatra, K., Saha, J.N., Bara,t A., Sahoo, M., Mohanty, B.R., Gjerde, B., Ødegård, J., Rye, M., Salte, R., 2008. Family association between immune parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the Indian major carp, *Labeo rohita*. Fish and Shellfish Immunology, 25(1):163–169.
69. Sanchez, C., Babin, M., Tomillo,, J. Ubeira, F.M., Dominguez, J. 1993. Quantification of low levels of rainbow trout immunoglobulins by enzyme immunoassay using two monoclonal antibodies. Veterinary Immunology and Immunopathology. 36: 65–74.
70. Sandnes, K., Lie, Ø., Waagbø, R. 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology. 32,129-136.
71. Schlotfeldt, H.J., 1975. Hematological studies of cultured rainbow trout: Seasonal variations of the blood constituents. Journal of Fish Biology. 9,605-611.
72. Shelbourn, J.E., Brett, G.R., Shirahata, S., 1973. Effect of temperature and feeding regime on the specific growth rate of sockeye salmon fry (*Oncorhynchus nerka*) with a consideration of size effect. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 30: 1191-1194.
73. Smith, J.V., Fernandes, M.O., 2009. Antimicrobial peptides of the innate immune system. In: Zaccone, G., Meseguer, J., Garcia–Ayala, A., Kapoor, B.G., (eds) Fish Defenses. Vol. 1:

Archive of SID

www.SID.ir

82. Weber, G.M., Martin, K., Joshua Kretzer, J., Ma, H., Dixon II, D., 2016. Effects of incubation temperatures on embryonic and larval survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Journal of Applied Aquaculture, 28, 285-297.
83. Wilson, R.S., Condon C.H., Johnston I.A., 2007. Consequences of thermal acclimation for the mating behaviour and swimming performance of female mosquito fish. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B 362: 2132–2139.
84. Zotin, A.L., 1990. Thermodynamic Bases of Biological Processes: Physiological Reactions and Adaptations. Walter Gruyter, Berlin, 324 pp.

Archive of SID

www.SID.ir