

## اثر تنش شوری بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قره برون (*Acipenser persicus*) تغذیه شده با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره

فاطمه خانی<sup>۱\*</sup>، محمدرضا ایمانپور<sup>۱</sup>، حامد کلنگی میاندره<sup>۱</sup>، علیرضا قانندی<sup>۲</sup>، وحید تقی‌زاده<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه شیلات

<sup>۲</sup> تهران، سازمان تحقیقات شیلات ایران (I.F.R.O)

تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۴

### چکیده

اثر تنش شوری بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قره برون (*Acipenser persicus*) تغذیه شده با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان قره برون (۲/۱۲ ± ۰/۶۱ و ۲۳/۶۷ سانتی‌متر) به ۴ تیمار با سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره (۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد) با سه تکرار (۱۲ ماهی در هر تانک) تقسیم شدند. پس از ۱۰ هفته غذادهی و خون‌گیری پیش از تنش، مقدار شوری آب یکبار به ۱۲ گرم بر لیتر افزایش یافت و خون‌گیری در ساعات ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از آغاز تنش شوری انجام و فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. ۱۲ ساعت پس از تنش شوری گروه شاهد به طور معنی‌داری کمترین پروتئین کل، آلبومین و اتوزینوفیل و بیشترین مقادیر منیزیم را نشان داد. در حالیکه بیشترین میزان آلبومین متعلق به تیمار ۰/۵٪ بود. ۲۴ ساعت پس از تنش، تیمارهای ۰/۳۵ و ۰/۵ به طور معنی‌داری بیشترین مقادیر گلبولهای قرمز و هماتوکریت را به خود اختصاص دادند. همچنین کمترین میزان اتوزینوفیل نیز به تیمار ۰/۵ متعلق بود ( $P \leq 0/05$ ). ۴۸ ساعت پس از آغاز استرس شوری نیز میزان گلوکز و متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای در گروه شاهد به طور معناداری بالاتر از گروه‌های تغذیه شده با نوکلئوتید بود در حالیکه میزان کلسیم با افزایش شوری کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). میزان منیزیم سرم خون ۷۲ ساعت پس از تنش، تیمار ۰/۵٪ به طور معنی‌داری بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد. در ساعت ۱۲۰ خون‌گیری، کمترین مقادیر هتروفیل متعلق به تیمارهای ۰/۳۵ و ۰/۵ و بیشترین مقادیر متعلق به تیمارهای ۰/۲۵ و شاهد بود ( $P \leq 0/05$ ).

**واژه‌های کلیدی:** تنظیم اسمزی، نوکلئوتید جیره، فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون، قره‌برون (*Acipenser persicus*)

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۵۵۹۱۶۰۳۳، پست الکترونیکی: F.khani88@gmail.com

### مقدمه

دست می‌آیند. نوکلئوتیدها در شکل غیرآزاد یا همان اسیدهای نوکلئیک بسیار پایدار بوده و هضم آنها مشکل و مستلزم صرف انرژی است. بنابراین ترکیب مناسبی از نوکلئوتیدهای آزاد که به جیره اضافه می‌گردند خصوصاً برای غلبه بر شرایط استرس‌زا می‌تواند مفید باشد (۲۰، ۱۳). این مورد را در ماهیان پرورشی، جایی که تقاضا برای نوکلئوتیدهای خارجی در جیره غذایی برای حفظ سلامت

نوکلئوتیدها از جمله ترکیبات داخل سلولی با وزن مولکولی پایین هستند که از یک بنیان پورین یا پیریمیدین، یک قند ریبوز یا ۲-دی اکسی ریبوز و یک یا تعدادی گروه فسفات تشکیل و بصورت پیوسته در سلول سنتز، تجزیه و بازیافت می‌شوند. نوکلئوتیدها از دو طریق هضم اسیدهای نوکلئیک که در اجزاء جیره و نیز به وسیله نوکلئوتیدهای آزاد که به جیره غذایی اضافه می‌گردند به

است که در شرایط استرس‌زای مرتبط با شرایط آبی پروری مثل کیفیت بد آب، تراکم و دستکاری میزان تقاضای نوکلئوتید در سلول‌ها افزایش می‌یابد (۳۴). تحقیقی که بر روی ماهی آزاد در طی انتقال از آب شیرین به آب شور انجام شد، در زمان یک استرس قابل ملاحظه، نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره غنی شده با نوکلئوتید افزایش در ظرفیت تنظیم اسمزی و کاهش استرس طی انتقال را دارا بودند. اخیراً، فواید مکمل نوکلئوتید جیره در کاهش اثر استرس شوری بر میگو (*Penaeus monodon*) گزارش شده است. در یک تیمار ۹۰ روزه جایی که میگوها تحت تاثیر رژیمی از تغییرات شوری متوالی بودند، مرگ‌ومیر میگوهای تغذیه شده با جیره غنی شده با نوکلئوتید کمتر از ۱۵٪ گروه کنترل بود (۲۵). تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، همچون سایر تاسماهیان، در آب شیرین هایپراسموتیک و در آب دریا هایپواسموتیک می‌باشد. این گونه غضروفی - استخوانی از تاسماهیان حوضه‌ی جنوبی خزر می‌باشد (۳). منطقه اصلی پراکنش این ماهی حوضه دریای خزر است، اما برای تکثیر به رودخانه‌های سپیدرود، کورا، ولگا، اورال و به مقدار کم به سایر رودخانه‌ها مانند اترک و گرگان رود وارد می‌شود (۱۱). بولس و همکاران (۱۵) برای اولین بار این فرضیه را مطرح ساختند که نوکلئوتیدهای جیره می‌توانند تحمل استرس را افزایش دهند و شواهدی را از طریق مقایسه ظرفیت تنظیم اسمزی و عملکرد رشدی ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با جیره دارای نوکلئوتید و جیره شاهد بعد از استرس حاد ناشی از انتقال به آب دریا فراهم کردند از این رو این تحقیق بر آن است تا اثر سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره بر شاخص‌های خونی و پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهیان قره‌برون ناشی از تنظیم اسمزی حاصل از تنش شوری وارده را بررسی نماید.

#### مواد و روشها

و رشد مناسب وجود دارد می‌توان مشاهده نمود (۳۲). فرایند تولید، نیاز به سطح بالایی از انرژی دارد اما با فراهم کردن نوکلئوتید از منبع خارجی، ضمن افزایش سرعت تولید به ویژه در هنگام استرس، نیاز به انرژی کاهش می‌یابد. علاوه بر آن نیاز به نوکلئوتید در دوره رشد سریع و استرس‌های فیزیولوژیک و کاهش پروتئین جیره یا کاهش در جذب پروتئین، افزایش می‌یابد (۸). گونه‌های آبی-پروری اغلب در معرض حجم عظیمی از استرس‌های فیزیولوژیکی است که منجر به سرکوب ایمنی، کاهش نرخ رشد و افزایش حساسیت به بیماری می‌شود. منظور از پرورش بچه‌ماهیان به روش‌های مختلف نگهداری آنها در شرایط نزدیک به طبیعی است تا زمانی که این ماهیان بتوانند توانایی‌های لازم را برای زندگی در داخل رودخانه و دریا به دست آورند. یکی از عوامل فیزیولوژیک موثر در موفقیت رهاسازی ماهیان، توانایی تنظیم اسمزی توسط بچه ماهیان در زمان رهاسازی و نیز در هنگام انتقال از محل رهاسازی به دریا است. تنظیم اسمزی شامل تبادلات پمپ یونی در آبشش‌ها و سایر اندامهای تنظیم اسمزی نظیر روده و کلیه می‌باشد که تابع عواملی چند نظیر دماست. ماهیان استخوانی تحت تاثیر سازگاری با آب شور دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین‌کلیوی می‌گردند و به این ترتیب تغییراتی در غلظت یون‌ها، سلولهای کلراید و همتوکریت و برخی عوامل دیگر ایجاد می‌شود. علاوه بر روند تنظیم اسمزی در ماهیان پروسه‌ای استرس‌زا و انرژی‌خواه است که می‌تواند باعث ایجاد تلفات در ماهیان شود (۳۷). گاهی در زمان افزایش استرس، مکمل نوکلئوتید ممکن است فوایدی را به دنبال داشته باشند. مسائلی نظیر درگیر بودن نوکلئوتیدهای خارجی در سیگنال‌دهی مسیرهای مرتبط با واکنش‌های استرس و اثرات عوامل استرس‌زای مختلف بر روی متابولیسم نوکلئوتید در ماهیان هنوز ناشناخته باقی مانده است (۳۵). یکی از پذیرفته شده‌ترین فرضیه‌ها در مورد اثرات مفید مشاهده شده نوکلئوتیدهای جیره در ماهیان این

هوادهی دائم نگهداری شدند. در طول دوره تعویض آب روزانه ۷۰-۵۰ درصد با آب کلرزدایی شده انجام گرفت.

جدول ۱- مواد غذایی مورد استفاده جهت ساخت جیره پرورش بچه- ماهیان قره برون (۴)

درصد	ماده غذایی
۵۳	آرد ماهی
۲۳	آرد گندم
۷	ژلاتین
۹	روغن سویا
۳	روغن ماهی
۱/۷۵	مکمل معدنی و ویتامینه
۱/۵	لیزین
۱/۵	متیونین
۰/۲۵	ضد قارچ
<b>ترکیب شیمیایی جیره</b>	
۵/۳۳ کالری بر گرم	انرژی خام
٪ ۴۷/۲۳	پروتئین
٪ ۱۸/۲۷	چربی
٪ ۷/۹۴	خاکستر

**نمونه‌گیری:** پس از دوره پرورش ۷۰ روزه با جیره حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید، خون‌گیری در ساعت صفر (قبل از شروع تنش شوری) با سرنگ ۲ سی‌سی از ناحیه ساقه دمی صورت گرفت. در ساعات ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ نیز خون‌گیری به همین طریق صورت گرفت. در پایان هر خون‌گیری نمونه‌های خونی در لوله‌های موئینه هپارینه و غیرهپارینه قرار گرفت. با استفاده از خمیر هماتوکریت ته لوله بسته شد. در لوله‌های غیرهپارینه هم با همین روش خون‌گیری شد و پس از آنکه سریعاً سانتریفیوژ گردید. سرم خون که بخش رویی لوله موئینه بوده و شفاف است جداً و جهت بررسی میزان یون‌های منیزیم و کلسیم و سایر فاکتورهای بیوشیمیایی به سرعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

**سنجش فاکتورهای خونی:** جهت اندازه‌گیری هماتوکریت لوله‌های موئینه حاوی خون سریعاً توسط سانتریفیوژ با ۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از

**ماهیان تحت آزمایش:** این آزمایش در زمستان ۱۳۹۱ در آزمایشگاه آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بچه ماهیان قره برون دارای کیسه زرده ( $\approx 50$  mg) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از سازگاری و رسیدن ماهیان به وزن  $2/12 \pm 42/37$  گرم و میانگین طول  $0/61 \pm 23/67$  سانتی‌متر تیمار بندی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار سطوح متفاوت نوکلئوتید جیره (۰، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد جیره) سه تکراره با تراکم ۱۲ ماهی در هر تانک صورت گرفت.

**جیره آزمایشی:** بچه ماهیان در طی دوره با جیره استاندارد (جدول ۱) ذکر شده توسط تقی‌زاده و همکاران (۴) تغذیه شدند. مکمل وانازن (شرکت کموفورم اوگست سوئیس (Chemofarma, August, Switzerland) با ترکیب شیمیایی ۴۸٪ پروتئین، ۳٪ فیبر، ۱/۵٪ چربی و ۷٪ خاکستر تهیه گردید. ساخت غذای مورد نظر پس از افزودن مقادیر محاسبه شده نوکلئوتید با توجه به مقادیر ذکر شده در منابع قبلی (۴۶) به اقلام غذایی الک شده، با افزودن روغن ماهی و در نهایت مقداری آب به صورت خمیر و سپس از دستگاه ساخت غذای مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه گرگان عبور داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد خشک شدند. سپس به مدت ۱۰ هفته تحت تیمارهای غذایی با سطوح متفاوت نوکلئوتید (صفر، ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵۰ درصد وزن غذا به کیلوگرم) قرار گرفتند. غذاهای در دو نوبت صبح و عصر (۸:۰۰ و ۱۶:۰۰) به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام شد.

**شرایط پرورشی:** ماهیان در طی دوره در آب شهری با شرایط فیزیکوشیمیایی ثابت (دما:  $18 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، پی‌اچ: ۷/۴، سختی: ۱۸۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم، قلیائیت: ۱۶۸ میلی-گرم بر لیتر کربنات کلسیم و شوری: ۰/۵ گرم بر لیتر) و

**سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی سرم:** پروتئین کل، کلاسترول، گلوکز، منیزیم، کلسیم، تری‌گلیسیرید و آلبومین به وسیله‌ی کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون انجام شد. پروتئین کل و آلبومین به ترتیب طبق روش‌های ذکر شده توسط تیتز (۴۵) و دوماس و همکاران (۲۳) اندازه‌گیری شدند. گلوکز سرم نیز از طریق اسپکتروفتومتری به روش گلوکز اکسیداز سنجیده شد (۲۹). مقدار کلسیم نیز طبق روش براون و همکاران (۱۴) محاسبه شد.

**آنالیزهای آماری:** پس از اندازه‌گیری فاکتورهای مطرح شده و ثبت آن‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و در صورت نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA در سطح احتمال (P≤۰/۰۵) استفاده شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۸) (۴۴) در محیط ویندوز ۸ انجام شد.

### نتایج

روند تغییرات فاکتورهای خونی بچه‌ماهیان قره‌برون (*A. persicus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید پس از تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر در ساعات ۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ در جدول ۲ نشان داده شده است.

سانتریفوژ میزان هماتوکریت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری هماتوکریت قسمت رویی سرم خون روی عدد ۱۰۰ تنظیم شد و با چرخش صفحه گردان عددی که روی قسمت رویی کریت (سلولهای خونی فشرده شده) بود و معرف میزان هماتوکریت است خوانده شد (۶). سنجش میزان غلظت هموگلوبین طبق روش درافشان و همکاران (۲۲) و شمارش گلبول‌های سفید و قرمز خون با رقیق‌سازی کل خون (یک پنجاهم) و به وسیله یک هماتوسیتومتر انجام شد (۴۳). تخمین میزان لوکوسیت‌های افتراقی (لنفوسیت و ائوزینوفیل) نیز به روش بلکس هال و دیزلی (۱۲) صورت گرفت. متوسط حجم گلبول قرمز (Mean Corpuscular Volume: MCV)، متوسط هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular Hemoglobin: MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration: MCHC) نیز طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

فرمول ۱- محاسبه متوسط حجم گلبول قرمز

$$MCV(\mu m^3) = \frac{Hb(\%)}{RBC(\text{cells } mm^{-3})} \times 10$$

فرمول ۲- محاسبه متوسط هموگلوبین ذره‌ای

$$MCH(pg \text{ cell}^{-1}) = \frac{Hb(g \text{ } 100 \text{ ml}^{-1})}{RBC(\text{cells } mm^{-3})} \times 10$$

فرمول ۳- محاسبه متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای

$$MCHC(g \text{ } 100 \text{ ml}^{-1}) = \frac{Hb(g \text{ } 100 \text{ ml}^{-1})}{Hc(\%) } \times 100$$

جدول ۲- فاکتورهای خونی پس از تنش شوری بچه‌ماهیان قره‌برون (*A. persicus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید

فاکتور	تیمار	ساعت	شاهد	٪ ۰/۲۵	٪ ۰/۳۵	٪ ۰/۵۰
هماتوکریت (%)	۰	۳۲/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>	۳۰/۰۰ ± ۴/۲۴ <sup>a</sup>	۳۴/۵۰ ± ۵/۵۳ <sup>a</sup>	۳۷/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>	۳۷/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>
	۱۲	۳۵/۰۰ ± ۷/۰۷ <sup>a</sup>	۳۸/۰۰ ± ۱/۴ <sup>a</sup>	۳۶/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	۳۳/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>	۳۳/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>
	۲۴	۲۸/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>b</sup>	۲۴/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>c</sup>	۲۴/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲۶/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۶/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>
	۴۸	۲۳/۳۰ ± ۰/۹۸ <sup>a</sup>	۲۳/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴/۵۰ ± ۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲۴/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>
	۷۲	۲۶/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۵/۹۶ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲۴/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴/۰۰ ± ۱/۴۱ <sup>a</sup>
	۱۲۰	۲۱/۵۵ ± ۱/۴۸ <sup>a</sup>	۲۱/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲۶/۵۰ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲۶/۵۰ ± ۳/۵۳ <sup>a</sup>	۲۲/۵۰ ± ۳/۵۳ <sup>a</sup>

۱۱/۹۵±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱۰/۶۵±۱/۷۶ <sup>a</sup>	۹/۷۰±۱/۲۷ <sup>a</sup>	۹/۳۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰	هموگلوبین (g/dl)
۱۱/۹۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۱۱/۹۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۱۲/۱۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱۱/۰۰±۱/۶۹ <sup>a</sup>	۱۲	
۱۰/۰۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۹/۲۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۸/۰۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۸/۱۵±۱/۷۶ <sup>a</sup>	۲۴	
۸/۳۵±۰/۴۹ <sup>a</sup>	۷/۷۰±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۷/۴۰±۰/۵۶ <sup>a</sup>	۷/۷۰±۰/۲۸ <sup>a</sup>	۴۸	
۸/۲۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۷/۹۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۸/۰۰±۰/۴۲ <sup>a</sup>	۸/۲۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۷۲	
۷/۴۰±۰/۹۸ <sup>a</sup>	۸/۳۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۶/۹۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۷/۱۵±۰/۴۹ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۱/۴۵±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۴۱±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۱۳±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۴۲±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰	گلبول قرمز (Mil/ml)
۱/۴۴±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۴۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۴۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۴۶±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱۲	
۱/۴۸±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۴۴±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۱۰±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۱/۳۵±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۲۴	
۱/۳۲±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۳۲±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۲۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۲۹±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۴۸	
۱/۲۹±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۲۳±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۱/۲۵±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱/۳۱±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۷۲	
۱/۲۹±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲۸±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۳۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱/۳۲±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۳۴۵۰/۰۰±۷۰/۷۱ <sup>a</sup>	۳۷۵۰/۰۰±۷۰/۷۱ <sup>a</sup>	۳۳۵۰/۰۰±۳۵۳/۵۵ <sup>a</sup>	۳۸۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۰	گلبول سفید (m/l)
۳۶۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۵۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۳۵۰/۰۰±۲۱۲/۱۳ <sup>a</sup>	۳۴۰۰/۰۰±۴۲۴/۲۶ <sup>a</sup>	۱۲	
۳۴۵۰/۰۰±۷۰/۷۱ <sup>a</sup>	۳۷۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۹۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۴۵۰/۰۰±۳۵۳/۵۵ <sup>a</sup>	۲۴	
۳۷۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۴۵۰/۰۰±۷۰/۷۱ <sup>a</sup>	۳۵۵۰/۰۰±۴۹۴/۹۷ <sup>a</sup>	۳۶۰۰/۰۰±۲۸۲/۸۴ <sup>a</sup>	۴۸	
۳۵۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۸۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۹۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۵۰۰/۰۰±۴۲۴/۲۶ <sup>a</sup>	۷۲	
۳۶۰۰/۰۰±۱۴۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳۵۰۰/۰۰±۴۲۴/۲۶ <sup>a</sup>	۳۴۵۰/۰۰±۲۱۲/۱۳ <sup>a</sup>	۳۹۰۰/۰۰±۲۸۲/۸۴ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷/۰۰±۲/۸۲ <sup>a</sup>	۴/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۰	اُتوزینوفیل (%)
۲/۵۰±۰/۷۰ <sup>ab</sup>	۲/۰۰±۰/۰۰ <sup>ab</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>b</sup>	۱۲	
۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>b</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲/۰۰±۰/۰۰ <sup>ab</sup>	۲/۵۰±۰/۷۰ <sup>ab</sup>	۲۴	
۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>b</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>b</sup>	۷/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۴۸	
۶/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۳/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷۲	
۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۳/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۲/۸۲ <sup>a</sup>	۰	مونوسیت (%)
۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۲	
۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴	
۳/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۶/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۴/۰۰±۲/۸۲ <sup>a</sup>	۱/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴۸	
۲/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۳/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۴/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۷۲	
۲/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۲۰/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۸/۵۰±۰/۷۰ <sup>ab</sup>	۱۹/۰۰±۱/۴۱ <sup>ab</sup>	۱۶/۵۰±۰/۷۰ <sup>b</sup>	۰	هتروفیل (%)
۲۰/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۲۳/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲۰/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۵/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۱۲	
۱۸/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱۹/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۰/۰۰±۸/۴۸ <sup>a</sup>	۱۶/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۲۴	
۱۸/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۵/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱۶/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱۹/۰۰±۴/۲۴ <sup>a</sup>	۴۸	
۲۰/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۲۱/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۲۴/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۰/۵۰±۷/۷۷ <sup>a</sup>	۷۲	
۱۶/۰۰±۱/۴۱ <sup>b</sup>	۱۶/۰۰±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۱۸/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۲۳/۰۰±۲/۸۲ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۷۲/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۷۰/۹۶±۵/۶۵ <sup>a</sup>	۷۳/۵۰±۴/۹۴ <sup>a</sup>	۷۸/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰	لنفوسیت
۷۵/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۷۱/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷۵/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷۰/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۲	

۷۷/۰۰±۲/۸۲ <sup>a</sup>	۷۶/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۷۵/۰۰±۷/۰۷ <sup>a</sup>	۷۹/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴	MCHC (g/dl)
۷۵/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۷۵/۵۰±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۷۲/۵۰±۶/۳۶ <sup>a</sup>	۷۲/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۴۸	
۷۱/۰۰±۴/۲۴ <sup>a</sup>	۷۱/۵۰±۳/۵۳ <sup>a</sup>	۶۸/۵۰±۲/۱۲ <sup>a</sup>	۷۳/۰۰±۸/۴۸ <sup>a</sup>	۷۲	
۷۷/۵۰±۲/۱۲ <sup>ab</sup>	۷۹/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷۵/۰۰±۲/۸۲ <sup>ab</sup>	۷۱/۵۰±۲/۱۲ <sup>b</sup>	۱۲۰	
۲۵۷/۵۰±۱۰/۶۰ <sup>a</sup>	۲۴۴/۵۰±۲۲/۶۲ <sup>a</sup>	۲۶۳/۵۰±۱۹/۰۹ <sup>a</sup>	۲۲۸/۸۰±۱۲/۷۲ <sup>a</sup>	۰	
۲۶۰/۰۰±۷/۰۷ <sup>a</sup>	۲۴۸/۲۵±۲/۴۷ <sup>a</sup>	۲۵۸/۶۰±۱۴/۵۶ <sup>a</sup>	۲۳۷/۹۰±۳۹/۷۳ <sup>a</sup>	۱۲	
۲۲۲/۵۰±۱۸/۶۶ <sup>a</sup>	۲۳۳/۶۵±۴/۱۷ <sup>a</sup>	۲۲۱/۶۵±۱۰/۳۹ <sup>a</sup>	۲۱۱/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲۴	MCV (fl)
۱۸۹/۷۰±۶/۳۶ <sup>a</sup>	۱۸۵/۴۵±۱۲/۰۹ <sup>a</sup>	۱۸۰/۸۵±۹/۴۰ <sup>a</sup>	۱۸۰/۶۰±۳/۶۷ <sup>a</sup>	۴۸	
۲۰۱/۰۰±۱۸/۳۸ <sup>a</sup>	۱۹۸/۵۰±۱۳/۴۲ <sup>a</sup>	۱۹۹/۰۰±۹/۸۹ <sup>a</sup>	۱۹۸/۷۰±۱۷/۲۵ <sup>a</sup>	۷۲	
۱۷۳/۲۰±۱۴/۹۹ <sup>a</sup>	۲۰۶/۸۵±۳/۰۴ <sup>a</sup>	۱۶۳/۴۵±۴/۴۵ <sup>b</sup>	۱۶۳/۸۰±۲۰/۰۸ <sup>b</sup>	۱۲۰	
۸۲/۰۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۷۵/۴۰±۱۱/۸۷ <sup>a</sup>	۸۳/۷۵±۳/۱۸ <sup>a</sup>	۶۵/۸۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰	
۸۲/۹۵±۰/۹۱ <sup>a</sup>	۸۰/۹۰±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۸۲/۶۵±۲/۰۵ <sup>a</sup>	۷۴/۹۰±۹/۰۵ <sup>a</sup>	۱۲	
۶۷/۵۵±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۶۳/۸۵±۰/۶۳ <sup>a</sup>	۷۲/۸۵±۲/۰۵ <sup>a</sup>	۶۰/۱۵±۱۱/۱۱ <sup>a</sup>	۲۴	MCH (pg)
۶۰/۹۵±۲/۳۳ <sup>a</sup>	۵۸/۲۵±۴/۱۷ <sup>a</sup>	۵۸/۲۰±۳/۸۱ <sup>a</sup>	۵۹/۷۰±۰/۸۴ <sup>a</sup>	۴۸	
۶۳/۷۵±۴/۰۳ <sup>a</sup>	۶۴/۲۰±۵/۰۹ <sup>a</sup>	۶۳/۷۵±۳/۰۴ <sup>a</sup>	۶۲/۹۰±۲/۶۸ <sup>a</sup>	۷۲	
۵۷/۰۵±۳/۶۰ <sup>a</sup>	۶۵/۱۵±۰/۹۱ <sup>a</sup>	۵۶/۴۵±۳/۷۴ <sup>a</sup>	۵۴/۳۵±۶/۷۱ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۳۱/۹۰±۰/۸۴ <sup>a</sup>	۳۰/۷۰±۱/۹۷ <sup>a</sup>	۳۲/۳۵±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۲۸/۸۰±۱/۶۹ <sup>a</sup>	۰	
۳۱/۸۵±۱/۲۰ <sup>a</sup>	۳۲/۵۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۳۲/۰۰±۰/۹۸ <sup>a</sup>	۳۱/۶۰±۱/۵۵ <sup>a</sup>	۱۲	
۲۹/۹۰±۲/۴۰ <sup>a</sup>	۲۷/۳۵±۰/۷۷ <sup>a</sup>	۳۲/۸۵±۰/۶۳ <sup>a</sup>	۲۸/۵۰±۵/۵۱ <sup>a</sup>	۲۴	MCHC (g/dl)
۳۲/۱۰±۰/۱۴ <sup>b</sup>	۳۱/۴۰±۰/۱۴ <sup>b</sup>	۳۲/۱۵±۰/۴۹ <sup>b</sup>	۳۳/۰۵±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۴۸	
۳۱/۷۰±۰/۹۸ <sup>a</sup>	۳۲/۲۵±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۳۱/۹۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۳۱/۷۵±۱/۴۸ <sup>a</sup>	۷۲	
۳۲/۹۵±۰/۷۷ <sup>a</sup>	۳۱/۵۰±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۳۲/۲۵±۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۳۳/۲۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲۰	

وجود حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم معنی‌داری اختلافات در پارامترهای مذکور می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

هموگلوبین نیز همانند هماتوکریت پس از قرارگیری ماهیان در معرض شوری ۱۲ گرم در لیتر روند افزایشی-کاهش‌ی را نشان داد که تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ). روند تغییرات گلبول‌های سفید خون هرچند دارای نوسانات زیادی بین تیمارها بود ولی با این حال تفاوت معنی‌داری قبل و در حین تنش شوری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). مقدار گلبول‌های قرمز خون در آغاز دوره در تیمار یک با میزان  $0.07 \pm 1/13$  کمترین مقدار را با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). در ساعت ۲۴ پس از شروع تنش کمترین مقادیر با تفاوت معنی‌داری به ترتیب به تیمار یک، سپس تیمار شاهد و بیشترین مقادیر نیز با تفاوت معنی‌داری

درصد هماتوکریت خون ماهیان تحت تیمار طی تنش شوری یک روند افزایشی-کاهش‌ی را طی کرد. مقادیر هماتوکریت خون ماهیان قبل از شروع تنش شوری هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). پس از قرارگیری ماهیان در شوری ۱۲ گرم در لیتر هماتوکریت روند افزایشی را نشان داد که ۱۲ ساعت اول هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) ولی در پایان روز اول، بیشترین افزایش با تفاوت معنی‌داری متعلق به تیمار یک بود و کمترین افزایش (کمترین مقادیر) به تیمارهای دو و سه تعلق داشت. گروه شاهد نیز بین این دو سطح قرارداشت. پس از آن هیچ تفاوت معنی‌داری در ساعات بعدی بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

شوری روند کاهشی تا ساعت ۴۸ پس از شروع تنش ادامه یافت و سپس روند افزایشی را نشان داد. در هیچ یک از ساعات تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). متوسط هموگلوبین ذره‌ای قبل از تنش شوری در بین گروه‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ). مقادیر میانگین تا ساعت ۴۸ پس از تنش شوری روند کاهشی و سپس افزایشی را نشان دادند. متوسط غلظت هموگلوبین ذره‌ای روند کاهشی تا ساعت ۴۸ پس از تنش شوری و سپس افزایشی را تا رسیدن به مقدار طبیعی خود دنبال کرد. غلظت هموگلوبین ذره‌ای در ساعات آغاز، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نداشت ( $P > 0/05$ ). در ساعت ۴۸ پس از شروع تنش با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بالاترین میانگین را با مقدار  $0/21 \pm 0/05$  در خود اختصاص داد ( $P \leq 0/05$ ). در آخرین روز نیز با تفاوت معنی‌داری کمترین میانگین به تیمار دو و بیشترین میانگین‌ها متعلق به تیمار سه و شاهد بود ( $P \leq 0/05$ ). تیمار یک نیز با تفاوت معنی‌داری نسبت به این دو سطح معنی‌داری بین آن‌ها قرار داشت.

روند تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه‌ماهیان قره‌برون (*A. persicus*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید پس از تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر در ساعات ۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ نیز در جدول ۳ نشان داده شده است.

نسبت به تیمار یک و همچنین گروه شاهد متعلق بود ( $P \leq 0/05$ ). درصد هتروفیل خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید پس از افزایش یکباره ناشی از تنش شوری یک روند تقریباً ثابت کاهشی را تا رسیدن به حدود طبیعی ادامه داد. قبل از تنش شوری بیشترین مقدار هتروفیل با تفاوت معنی‌داری متعلق به تیمار سه بود و کمترین مقدار نیز متعلق به گروه شاهد بود ( $P \leq 0/05$ ). درصد لنفوسیت خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید قبل از تنش شوری نسبت به گروه شاهد کمتر بود ولی این کاهش معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). در حین تنش شوری هم هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). درصد مونوسیت خون حین تنش شوری هرچند دارای نوسان بود ولی این تفاوت‌ها معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). درصد ائوزینوفیل خون پس از ۱۰ هفته تغذیه با نوکلئوتید روند کاهش-افزایشی را نشان داد که مقادیر میانگین تیمارها هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. ۱۲ ساعت اول ائوزینوفیل تفاوت معنی‌داری را نشان داد که بیشترین مقدار متعلق به تیمار دو و کمترین مقدار متعلق به تیمار سه بود ( $P \leq 0/05$ ). روند تغییرات کلی دارای نوسان بود و در ساعت ۱۲۰ پس از شروع تنش مقادیر نهایی به مقادیر اولیه نزدیک شد ( $P \leq 0/05$ ). متوسط حجم گلبول قرمز در آغاز دوره گرچه در گروه‌های تحت تیمار بالاتر از گروه شاهد بود ولی این تفاوت معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). در حین تنش

جدول ۳- فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون پس تنش شوری در بچه‌ماهیان قره‌برون تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت نوکلئوتید

فاکتور	تیمار	ساعت	شاهد	۰/۲۵٪	۰/۳۵٪	۰/۵۰٪
پروتئین کل (g/dl)	۰	۳/۹۲ ± ۱/۲۷ <sup>a</sup>	۴/۳۵ ± ۱/۳۶ <sup>a</sup>	۳/۶۲ ± ۰/۴۷ <sup>a</sup>	۳/۸۳ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	
	۱۲	۰/۱۷ ± ۰/۰۰ <sup>c</sup>	۲/۲۸ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۵۰ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۲۵ ± ۰/۱۲ <sup>ab</sup>	
	۲۴	۰/۶۸ ± ۰/۸۲ <sup>a</sup>	۱/۸۹ ± ۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۶۹ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۴۰ ± ۰/۶۶ <sup>a</sup>	
	۴۸	۰/۳۱ ± ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۹۵ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۷۳ ± ۰/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۱۸ ± ۱/۰۶ <sup>a</sup>	
	۷۲	۰/۸۱ ± ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۹۹ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۸۱ ± ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۱/۴۳ ± ۰/۲۹ <sup>a</sup>	
	۱۲۰	۵/۱۰ ± ۴/۱۸ <sup>a</sup>	۶/۰۷ ± ۶/۷۰ <sup>a</sup>	۵/۲۰ ± ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۶/۱۲ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	
آلبومین	۰	۲۵۱/۵۴ ± ۶۳/۵۷ <sup>a</sup>	۲۴۵/۸۰ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۲۳۴/۳۲ ± ۱۵۸/۲۵ <sup>a</sup>	۲۳۰/۵۰ ± ۱۴/۸۷ <sup>a</sup>	
	۱۲	۶۳/۶۰ ± ۰/۰۰ <sup>b</sup>	۱۱۵/۹۲ ± ۲۳/۲۱ <sup>ab</sup>	۸۶/۶۸ ± ۱۹/۵۸ <sup>ab</sup>	۱۳۳/۸۷ ± ۲۱/۰۳ <sup>a</sup>	

۱۰۰/۴۹±۳۸/۰ <sup>a</sup>	۹۴/۶۵±۴/۹۵ <sup>a</sup>	۱۰۴/۵۸±۱۷/۳۵ <sup>a</sup>	۷۴/۷۸±۲۴/۷۸ <sup>a</sup>	۲۴	(μmol/l)
۱۰۱/۷۶±۳۵/۲۶ <sup>a</sup>	۶۴/۰۲±۱۲/۳۹ <sup>a</sup>	۱۰۵/۱۳±۱/۹۰ <sup>a</sup>	۸۱/۵۴±۱۶/۲۰ <sup>a</sup>	۴۸	
۱۴۲/۳۴±۸/۸۲ <sup>a</sup>	۱۴۵/۷۵±۲۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱۲۳/۶۳±۱۷/۶۴ <sup>a</sup>	۱۳۰/۴۹±۱۵/۹۶ <sup>a</sup>	۷۲	
۱۷۹/۰۵±۴۲/۸۵ <sup>a</sup>	۱۲۰/۶۵±۵/۴۵ <sup>a</sup>	۱۵۴/۲۶±۴۳/۶۳ <sup>a</sup>	۱۴۰/۹۶±۱۴/۱۴ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۱/۳۴±۰/۱۷ <sup>b</sup>	۱/۲۵±۰/۲۰ <sup>b</sup>	۲/۲۱±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۶۸±۰/۲۶ <sup>ab</sup>	۰	
۲/۸۱±۰/۵۴ <sup>a</sup>	۳/۰۰±۰/۳۹ <sup>a</sup>	۳/۳۲±۰/۵۴ <sup>a</sup>	۲/۱۶±۰/۲۲ <sup>a</sup>	۱۲	
۱/۷۷±۰/۷۹ <sup>a</sup>	۱/۹۵±۰/۵۱ <sup>a</sup>	۲/۷۰±۱/۴۴ <sup>a</sup>	۲/۱۲±۰/۳۶ <sup>a</sup>	۲۴	کلسترول
۱/۶۷±۰/۶۲ <sup>a</sup>	۱/۵۱±۰/۵۸ <sup>a</sup>	۲/۰۷±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۳۹±۰/۷۵ <sup>a</sup>	۴۸	(mmol/l)
۲/۵۶±۰/۶۲ <sup>a</sup>	۱/۸۰±۰/۸۷ <sup>a</sup>	۲/۰۹±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۹۲±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۷۲	
۲/۰۰±۰/۶۷ <sup>a</sup>	۲/۳۱±۰/۲۴ <sup>a</sup>	۲/۵۰±۰/۶۹ <sup>a</sup>	۱/۵۲±۰/۷۳ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۴/۶۲±۱/۵۸ <sup>ab</sup>	۲/۴۵±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۶/۳۰±۰/۹۶ <sup>a</sup>	۳/۶۹±۱/۱۹ <sup>ab</sup>	۰	
۵/۷۶±۰/۶۱ <sup>a</sup>	۷/۶۶±۵/۴۰ <sup>a</sup>	۸/۵۹±۱/۱۸ <sup>a</sup>	۶/۵۰±۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱۲	
۴/۹۳±۰/۷۸ <sup>a</sup>	۴/۶۵±۳/۵۶ <sup>a</sup>	۷/۶۳±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۵/۳۸±۱/۹۸ <sup>a</sup>	۲۴	تری‌گلیسرید
۴/۵۴±۳/۲۸ <sup>a</sup>	۴/۳۳±۳/۷۶ <sup>a</sup>	۷/۰۲±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۶۵±۰/۹۹ <sup>a</sup>	۴۸	(mmol/l)
۹/۸۷±۳/۷۴ <sup>a</sup>	۲/۵۱±۲/۰۲ <sup>a</sup>	۷/۲۲±۳/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۵۴±۱/۲۲ <sup>a</sup>	۷۲	
۹/۸۷±۳/۷۶ <sup>a</sup>	۴/۵۱±۰/۸۰ <sup>a</sup>	۷/۲۲±۳/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۵۴±۱/۲۲ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۳/۲۵±۱/۵۳ <sup>b</sup>	۴/۹۶±۰/۲۷ <sup>ab</sup>	۵/۱۱±۰/۱۸ <sup>ab</sup>	۶/۰۰±۰/۶۱ <sup>a</sup>	۰	
۴/۹۸±۰/۹۱ <sup>a</sup>	۶/۷۲±۱/۸۰ <sup>a</sup>	۶/۹۳±۰/۶۱ <sup>a</sup>	۸/۰۲±۲/۱۴ <sup>a</sup>	۱۲	
۳/۳۷±۰/۱۳ <sup>a</sup>	۴/۰۴±۰/۲۷ <sup>a</sup>	۳/۴۳±۰/۵۹ <sup>a</sup>	۵/۱۶±۱/۶۳ <sup>a</sup>	۲۴	گلوکز
۲/۲۸±۰/۱۳ <sup>b</sup>	۲/۴۹±۰/۲۳ <sup>b</sup>	۲/۴۰±۰/۲۳ <sup>b</sup>	۴/۱۵±۰/۳۹ <sup>a</sup>	۴۸	(mmol/l)
۴/۲۰±۰/۲۹ <sup>a</sup>	۲/۹۴±۰/۵۹ <sup>a</sup>	۲/۹۴±۰/۸۹ <sup>a</sup>	۴/۲۰±۰/۵۹ <sup>a</sup>	۷۲	
۴/۸۸±۰/۴۳ <sup>a</sup>	۴/۹۶±۰/۴۳ <sup>a</sup>	۵/۱۹±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۶/۲۱±۱/۴۴ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۱/۹۶±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۲/۰۴±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۰۳±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۲/۰۵±۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰	
۱/۴۳±۰/۳۰ <sup>bc</sup>	۱/۲۳±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۱/۶۸±۰/۲۰ <sup>ab</sup>	۱/۹۶±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲	
۱/۹۶±۰/۶۲ <sup>a</sup>	۱/۴۸±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۲/۲۵±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱/۴۳±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۲۴	
۱/۱۰±۰/۲۰ <sup>a</sup>	۱/۱۶±۰/۱۶ <sup>a</sup>	۱/۲۶±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۳۱±۰/۳۸ <sup>a</sup>	۴۸	منیزیم
۱/۸۸±۰/۳۹ <sup>a</sup>	۱/۲۲±۰/۱۶ <sup>b</sup>	۱/۸۲±۰/۱۱ <sup>ab</sup>	۱/۲۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۷۲	
۲/۱۲±۰/۹۸ <sup>a</sup>	۱/۴۶±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۲/۳۲±۱/۱۵ <sup>a</sup>	۱/۲۸±۰/۸۵ <sup>a</sup>	۱۲۰	
۰/۲۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲۸±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰	
۰/۲۲±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲۴±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۲۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲	کلسیم
۰/۱۹±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۹±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۲۲±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۲۳±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۴۸	(mmol/l)
۰/۲۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۲۲±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۲۴±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۳۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۲۰	

وجود حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم معنی‌داری اختلافات در پارامترهای مذکور می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

به شوری ۱۲ گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد و بالاترین مقدار متعلق به گروه شاهد با مقدار ۱/۹۶ بود و پایین‌ترین مقدار متعلق به تیمار دو با میانگین

میزان منیزیم خون ماهیان تحت تیمار و شاهد قبل از آغاز تنش شوری هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). روند تغییرات منیزیم ۱۲ ساعت اولیه پس از ورود ماهیان



این بررسی کمترین مقدار و بیشترین مقدار را به ترتیب تیمار دو و یک دارا بودند. تیمار شاهد و سه نیز با سطح معنی‌داری متفاوتی در بین این دو گروه قرار گرفتند ( $P \leq 0/05$ ). گلوکز خون طی تنش شوری پس از افزایش یکباره بعد از قرارگیری در معرض تنش شوری، روند کاهشی را تا پایان روز سوم از خود نشان داد و سپس روند افزایشی را تا حد نرمال خود ادامه داد. مقادیر ثبت شده قبل از تنش شوری تفاوت معنی‌داری را بین گروهها نشان داد که بیشترین مقدار متعلق به تیمار شاهد و کمترین مقدار به تیمار ۳ متعلق بود ( $P \leq 0/05$ ). کلاسترول خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید جیره پس از پایان دوره پرورش تفاوت معنی‌داری را از خود نشان دادند. تیمارهای دو و سه کمترین مقادیر و تیمار یک بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند ( $P \leq 0/05$ ).

### بحث

مهاجرت ماهیان بین دو محیط متفاوت از نظر شوری نیازمند مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌باشد (۷، ۲۴). هنگام انتقال ماهیان از آب شیرین به آب شور به دلیل بالا رفتن سطوح یونی پلاسمای خون در ماهیان و ایجاد استرس در آنها، کورتیزول که محصول نهایی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین‌کلیوی است، افزایش می‌یابد و باعث تحریک فعالیت پمپ سدیم در بسیاری از ماهیان استخوانی آب شیرین از جمله ماهیان سیکلیده (۲۱) می‌گردد. واکنش به استرس حاد و مزمن توسط یک سیستم پیچیده‌ی نورواندوکرینی کنترل می‌شود که کورتیزول و کاتاکولامین را آزاد می‌کند (۴۶) که هر دو با کنترل تنظیم یونی در ارتباط است (۳۹). استرس فشار خون درون لاملاهی و نفوذپذیری آبشش را افزایش می‌دهد که منجر به اتلاف یونی می‌شود (۱۷). کاهش استرس یکی از اهداف پرورش دهندگان ماهی در جهت تولید بیشتر می‌باشد و از آنجاییکه خون مستقیماً در بسیاری از فرآیندهای سوخت و سازی نقش داشته و منعکس‌کننده تغییرات بدن جانور

بود. در ساعت هفتاد و دوم پس از تنش شوری، بالاترین مقدار با تفاوت معنی‌داری متعلق به تیمار سه و کمترین مقادیر متعلق به تیمارهای شاهد و تیمار دو بود ( $P \leq 0/05$ ). در مقادیر کلسیم قبل از تنش شوری و در ساعات ۱۲ و ۱۲۰ هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. ۲۴ ساعت پس از تنش شوری گروه شاهد با تفاوت معنی‌داری مقادیر کلسیم بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت. تیمار دو و سه نیز با تفاوت معنی‌داری کمترین مقدار را نشان دادند ( $P \leq 0/05$ ). پروتئین کل خون پس از کاهش یکباره بعد از قرارگیری در شوری ۱۲ گرم در لیتر در پایان روز سوم روند افزایشی خود را تا رسیدن به مقدار طبیعی خود آغاز کرد. مقادیر پروتئین تیمارها پس از ۱۰ هفته غذادهی با جیره حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ولی ۱۲ ساعت پس از تنش شوری با وجود کاهشی بودن روند تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد که بالاترین و پایین‌ترین مقادیر به ترتیب متعلق به تیمار یک و تیمار شاهد بود. بیشترین کاهش در تیمار شاهد رخ داد. در سایر ساعات نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری بین گروهها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). آلبومین خون نیز طی ۱۲۰ ساعت، همچون پروتئین کل خون، روند کاهش، سکون و افزایش تا رسیدن به میزان طبیعی را نشان داد. مقادیر آلبومین نیز قبل از تنش شوری تفاوت معنی‌داری را بین گروهها نشان نداد ولی در  $T_{12}$  تیمار سه و گروه شاهد به ترتیب با تفاوت معنی‌داری بالاترین (کمترین) میزان کاهش پس از تنش) و پایین‌ترین (بیشترین) میزان کاهش) مقادیر را نشان دادند ( $P \leq 0/05$ ) و پس از آن هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در ساعات بعدی نمونه‌برداری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). روند تغییرات تری‌گلیسیرید خون در حین تنش شوری، پس از یک افزایش در ۱۲ ساعت اولیه، یک روند کاهشی را تا ۴۸ ساعت پس از تنش ادامه داد و سپس روند افزایشی را پیش گرفت. در حالیکه مقادیر میانگین تری‌گلیسیرید قبل از تنش شوری تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ( $P \leq 0/05$ ). در

است، ارزیابی‌های خونی و هورمونی در امر تشخیص وضعیت فیزیولوژیک ماهیان از اهمیت بالایی برخوردار است به طور مثال، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند بازتابی از رقیق شدن خون در اثر اتلاف یونی و کاهش اسمولالیتی باشد (۹ به نقل از ۴۱) از اینرو به نظر می‌رسد یکی از راهکارهای نوین تعدیل اثرات استرس از طریق ایجاد تغییر در شاخصهای فیزیولوژیک وابسته به خون و بافت‌های بدن ماهیان پرورشی باشد (۵).

تاسماهی ایرانی همچون سایر تاسماهیان، در آب شیرین هایپراسموتیک و در آب دریا هیپواسموتیک می‌باشد. بنابراین در آغاز قرارگیری در معرض یک محیط هایپراسموتیک یا ایزواسموتیک ماهی به صورت غیرفعال آب را از دست می‌دهد و به موجب آن افزایش در غلظت یون-های پلازما را متحمل می‌شود. پس از آن، افزایش جبرانی بلعیدن آب، رقیق‌سازی پارامترهای خونی را تامین می‌کند. در نهایت این شرایط به مقادیر جدید ثابتی در نتیجه‌ی باقیمانده‌ی مکانیسم تنظیم اسمزی برمی‌گردد. ایمانپور (۲) با بررسی روی بچه ماهیان قره برون رهاسازی شده به گرگانود میزان تلفات قره‌برون در شوری ۵ گرم در لیتر را پس از گذشت ۳۰ ساعت ۳ تا ۵ درصد اعلام کرد.

بورلس و همکاران (۱۶) برای اولین بار این فرضیه را مطرح ساختند که نوکلئوتیدهای جیره می‌توانند تحمل استرس را افزایش دهند و شواهدی را از طریق مقایسه ظرفیت تنظیم اسمزی و عملکرد رشدی ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با جیره دارای نوکلئوتید و جیره شاهد بعد از استرس حاد ناشی از انتقال به آب دریا فراهم کردند. میشرا و هرترامپف (۴۰) تاثیر نوکلئوتید جیره روی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) را تحت استرس شوری بررسی کرده و گزارش کردند که میگوهای تغذیه شده با نوکلئوتید وضعیت بهتری نسبت به میگوهای تغذیه شده با جیره کنترل داشتند. با وجود این مشاهدات، لی و گاتلین (۳۵) با بررسی اثر نوکلئوتید بر پاسخ به استرس حاد

بچه ماهی شوریده قرمز (*Sciaenops ocellatus*) موفق به تأیید این پدیده نشدند. تحقیق اولاد و همکاران (۱) روی تاثیر نوکلئوتید جیره بر فعالیت زوائد باب‌المعدی در تنظیم اسمزی بچه‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) نشان داد که آنزیم سدیم-پتاسیم آدنوزین تری فسفات در زوائد باب‌المعدی حضور داشته و این آنزیم نقش بسزایی در تبادلات یونی ایفا می‌کند. همچنین مشخص گردید که نوکلئوتید جیره تاثیر مثبت معنی‌داری ( $P \leq 0/05$ ) بر میزان حضور این آنزیم و افزایش توان تنظیم اسمزی بچه ماهیان دریای خزر داشته و می‌تواند به عنوان یک ماده افزودنی تقویت کننده رشد و توان اسمزی مورد استفاده قرار گیرد. در این تحقیق در طی تنش شوری یکباره و قرارگیری ماهیان به مدت ۷ روز در شوری ۱۲ گرم در لیتر هیچ تلفاتی ناشی از تغییرات شوری مشاهده نشد.

در این تحقیق افزایش نفوذپذیری آبشش ناشی از استرس شوری باعث کاهش میزان منیزیم خون در ۱۲ ساعت اولیه شده که با توجه به معنی‌داری این مقادیر در ۱۲ ساعت اولیه نتایج حاکی از این است که نوکلئوتید جیره توانسته این نفوذپذیری را کاهش داده و کمترین اتلاف منیزیم را به تیمار دو اختصاص دهد. افزایش نفوذپذیری آبشش ناشی از استرس شوری باعث کاهش میزان کلسیم خون پس از تنش شوری شده است. ۲۴ ساعت پس از تنش شوری گروه شاهد با تفاوت معنی‌داری مقادیر کلسیم بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت ( $P \leq 0/05$ ). اسیدهای چرب غیراشباع (n-3) سبب افزایش مقاومت در شرایط استرس‌زا از جمله شوک‌های اسمزی می‌شود و هرچه نرخ (دی اچ آ / ای پی آ) (DHA/EPA) بیش‌تر شود، مقاومت موجود به شوک‌های اسمزی بیش‌تر می‌شود. از آنجایی که نوکلئوتید جیره می‌تواند بر متابولیسم اسیدهای چرب، فسفولیپیدها و پروتئین‌ها تاثیر داشته باشد احتمالاً بر خاصیت فیزیکی و شیمیایی غشای سلول‌ها نظیر انتقال و نفوذپذیری غشاء و گیرنده‌ها و آنزیم‌های غشا اثر می‌گذارد

آید (۴۷) به این دلیل که افزایش سطوح کورتیزول می‌تواند موجب کاتابولیسم قند کبد و تقویت تجزیه گلیکوژن کبد به دلیل تامین انرژی طی فرآیند استرس شود (۱۰). در این تحقیق گلوکز خون طی تنش شوری پس از افزایش یکباره بعد از قرارگیری در معرض تنش شوری، روند کاهشی را تا پایان روز سوم از خود نشان داد و سپس روند افزایشی را تا حد نرمال خود ادامه داد ( $P \leq 0.05$ ). افزایش گلوکز ناشی از استرس می‌تواند ناشی از افزایش کورتیزول خون بر اثر استرس شوری و در نتیجه تجزیه گلیکوژن کبد و در نهایت افزایش گلوکز خون باشد که پایین‌تر بودن مقادیر گلوکز ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد را میتوان به اثر کاهشی نوکلئوتیدها در استرس مرتبط دانست. یوسفی و همکاران (۴۷) نیز با تحقیق روی فیل ماهی نتایج مشابهی با بورلس و همکارانش (۱۵) روی سالمون اطلس نشان دادند. کاهش گلوکز در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی نوکلئوتید بیانگر استفاده بیشتر از این ماده در تامین انرژی و رشد یا درگیر بودن سیستم پاسخ ثانویه استرس (افزایش قند خفیف) در ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد نوکلئوتید می‌باشد. یکی از فرضیه‌هایی که در این خصوص وجود دارد این است که میزان نیاز نوکلئوتید جیره با بروز یا افزایش استرس در محیط پرورشی افزایش می‌یابد (۳۴). همچنین دستکاری‌ها و عوامل استرس‌زایی که در آبی پروری وجود دارند همیشه باعث بروز پاسخ‌های فیزیولوژیک و بعضاً کاهش رشد خواهند شد. یکی از مکانیسم‌های ممکن در ارتباط با اثرات سودمند نوکلئوتید جیره بر پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی و کارایی رشد، احتمالاً به اثرات مهارکنندگی نوکلئوتیدها در خصوص رهاسازی کورتیکوستروئیدهایی نظیر کورتیزول می‌باشد (۱۵، ۳۴). پارامترهای هماتولوژیکی (۳۰) نیز همانند وضعیت فیزیولوژیکی یک موجود زنده، شاخص‌های سلامت ماهی به شمار می‌آیند و می‌توانند تحت تاثیر تغذیه باشند (۳۳). حافظ امینی و عریان در سال ۱۳۸۱ با مطالعه روی تغییرات شاخص هماتوکریت در ماهیان جوان کپور

و در نهایت مقاومت ماهی را در مقابل شوری آب محیط بیشتر می‌کند. پروتئین‌ها مهمترین ترکیبات سرم خون هستند (۳۳). همچنین جها و همکاران (۳۴) افزایش معنی‌داری را در *Catla catla* گزارش دادند. کبد مهمترین اندام ذخیره‌کننده نوکلئوتیدها می‌باشد بطوریکه همزمان با افزایش نوکلئوتید در جیره، مقدار RNA در کبد افزایش می‌یابد (۳۶). این مواد در کبد موجب افزایش رشد سلولهای کبدی نیز شده و نقش مهمی را در سنتز گلیکوژن، پروتئین و کاهش تجمع چربی در موش‌ها ایفا کرده است (۱۸). مطالعات مختلف نشان داده است افزودن نوکلئوتید به جیره سبب ابقای مقدار RNA در سلول‌های کبدی شده و از آنجا که بیشتر RNA موجود در کبد (حدود ۸۵ درصد) از نوع tRNA می‌باشد، احتمالاً با اضافه نمودن نوکلئوتید جیره، سنتز پروتئین به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۸). فونتانا و همکاران (۲۶) با بررسی اثر نوکلئوتید جیره بر موش‌ها نشان دادند که این ماده با تغییر در ذخیره سلولی نوکلئوتیدها می‌تواند در بیان برخی ژن‌ها نقش داشته باشد. همچنین پرز و همکاران (۴۲) گزارش نمودند نوکلئوتید جیره با بهبود فسفوریلاسیون اکسایشی، انتقال الکترون و تغییر شکل کاهشی - اکسایشی NAD، باعث تحریک سنتز و ذخیره‌سازی انرژی در سلول‌ها شده که بیشتر انرژی تولید شده توسط سلول برای تحریک و راه‌اندازی سنتز پروتئین، مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلبومین و گلوبولین عمده‌ترین پروتئین‌های سرم خون می‌باشند (۳۳) که پس از ۱۲ ساعت از شروع تنش، افزایش معنی‌داری در میان تیمارها مشاهده شد. برخلاف نتایج حاکی از این تحقیق، فونتانا و همکاران (۲۶) و یوسفی و همکاران (۴۸) هیچ تفاوت معنی‌داری را در میزان تری‌گلیسیرید ماهیان تغذیه شده با نوکلئوتید جیره گزارش نکردند. در این تحقیق مقادیر به‌دست آمده از سنجش تری‌گلیسیرید قبل از تنش شوری معنی‌دار بود ( $P \leq 0.05$ ). گلوکز پلاسما پس از کورتیزول می‌تواند یک شاخص مفید استرس به عنوان دومین واکنش استرس در ماهی به شمار

گروه شاهد بود که میتواند اثر مثبت نوکلئوتید جیره را در اریتروپوئیز نشان دهد با اینحال در این تحقیق این اثر معنی‌دار نبود. در صورتیکه با در نظر گرفتن نقش نوکلئوتیدها در رابطه با ساخت پروتئین، به طور جزئی‌تر ترنسفرین و فریتین، در کبد، فرض بر این است که نوکلئوتیدها می‌توانند جذب آهن را افزایش دهند (۲۰)، نتایج این تحقیق و با توجه به افزایش نسبی مقادیر هموگلوبین در گروه‌های تحت تیمار نسبت به گروه شاهد میتوان عدم معنی‌داری این افزایش را به دلیل تفاوت در گونه و شاید کوتاه بودن دوره پرورش (۱۰ هفته) دانست. البته چودهاریا و همکاران (۱۹) نیز هیچ تغییری را در میزان هموگلوبین خون پس از تیمار با نوکلئوتید مشاهده نکردند که این نتایج با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد.

گیل (۲۷) نقش نوکلئوتیدها را در تکثیر سلولهای خونی گزارش کرد. علاوه بر این ذکر کرد نوکلئوتید جیره میتواند بر بلوغ، فعالیت و تکثیر گلبولهای سفید اثرگذار باشد. جها و همکاران (۳۲) در تحقیقی روی *C. catla* نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید مقادیر بالاتری از گلبولهای سفید را در مقایسه با گروه کنترل دارا بودند در صورتیکه چودهاریا و همکاران (۱۹) هیچ تغییری را مشاهده نکردند که این نتایج با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. گلبولهای سفید خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید قبل از تنش شوری هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ( $P \leq 0/05$ ). همچون یافته‌های این تحقیق، در تحقیقی روی *C. catla* ماهیان تغذیه شده با مکمل نوکلئوتید مقادیر مشابهی از گلبولهای قرمز در بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده شد (۳۲). ولی تحقیقی مشابه روی *Labeo rohita* افزایش در میزان گلبولهای قرمز را گزارش داد. گیل (۲۷) نقش نوکلئوتیدها را در تکثیر سلولهای خونی گزارش داده است. علاوه بر این، نوکلئوتید جیره میتواند بر بلوغ، فعالیت و تکثیر گلبولهای خونی از جمله گلبولهای قرمز اثرگذار باشد (۲۷).

معمولی تحت استرس کلرید سدیم گزارش کردند که میزان هماتوکریت خون پس از ایجاد تنش شوری افزایش می‌یابد و با گذشت زمان به تدریج از میزان آن کاسته می‌شود. جنسن و همکاران در سال ۲۰۰۲ با مطالعه روی کفشک ماهی اروپایی *Platichthys flesus* تحت تنش شوری گزارش کردند که استرس شوری موجب افزایش شاخص هماتوکریت در این ماهی می‌شود (۳۱). بورلس و همکاران (۱۵) مشاهده کردند که ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با نوکلئوتید جیره دارای میزان هماتوکریت بیشتری نسبت به گروه کنترل بود هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P \leq 0/05$ ). نتایج این تحقیق نیز روند افزایشی (ساعت ۱۲) - کاهش در صد هماتوکریت خون ماهیان تحت تیمار طی تنش شوری را نشان داد. پس از قرارگیری ماهیان در شوری ۱۲ گرم بر لیتر هماتوکریت روند افزایشی را نشان داد که ۱۲ ساعت اول هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P \leq 0/05$ ). ولی در پایان روز اول، بیشترین مقادیر با تفاوت معنی‌داری متعلق به تیمار دو و سه بود و کمترین مقدار به تیمارهای شاهد تعلق داشت. پس از آن هیچ تفاوت معنی‌داری در ساعات بعدی بین تیمارها مشاهده نشد ( $P \leq 0/05$ ). تغییر در شوری می‌تواند منجر به افزایش متابولیسم پایه و در نهایت افزایش نیاز اکسیژن ماهی شود (۳۸). افزایش سطح هماتوکریت میتواند عکس-العملی بر پاسخ به استرس باشد. همچنین می‌تواند بیانگر افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن در خون باشد.

برخلاف گزارش یوسفی و همکاران (۴۸) هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان هموگلوبین ماهیان قره‌برون پس از پایان دوره پرورش و حین تنش شوری مشاهده نشد ( $P \leq 0/05$ ). این نتایج حاکی از آن است که در این مطالعه نوکلئوتید جیره مخصوصاً اینوزین و هیپوکسانتین (Hypoxanthine) که نقش مهمی را در میزان دسترسی و جذب آهن ایفا می‌کنند (۲۸)، جذب آهن را در ماهیان قره‌برون به طور معنی‌داری افزایش ندادند هرچند مقادیر هموگلوبین تیمارهای تغذیه شده با نوکلئوتید بالاتر از

مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در گذشته به دلیل عدم مشاهده علائم نقص یا کمبود نوکلئوتیدها، آنها به عنوان ماده مغذی غیرضروری در نظر گرفته می‌شدند. اما اکنون مشخص شده که بعضی از سلولها ظرفیت بسیار محدودی برای سنتز نوکلئوتیدها دارند. در این سلولها تهیه نوکلئوتید از منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آنها بسیار مهم است و میتوان مکمل‌های نوکلئوتید را جهت بهبود رشد و تقویت سیستم ایمنی در جهت کنترل و مدیریت استرس آبزیان به عنوان جزئی از جیره به کار برد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز تاییدی بر فرضیه اثر مثبت نوکلئوتید جیره در بهبود وضعیت سلامت و مواجهه با استرس ماهیان پرورشی تجاری مهم از قبیل تاسماهیان، بهبود شاخص‌های خونی و شیمیایی سرم خون ماهی می‌باشد. البته بسته به گونه، سن و نوع و میزان نوکلئوتید مصرفی و زیست‌فراهمی آن، میزان اثرات این مکمل میتواند متفاوت باشد. با اینحال استفاده از مکمل نوکلئوتید جیره در شرایط پرورشی که همواره تحت استرس‌های دستکاری قرار دارند میتواند جبران‌کننده نقاط ضعف محیط‌های پرورشی باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات و همکاری‌های ارزشمند جناب آقای دکتر علی جعفر و مهندس اصغر نعیمی کارشناسان آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

درصد هتروفیل خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید پس از افزایش یکباره ناشی از تنش شوری یک روند تقریباً ثابت و سپس کاهشی را تا رسیدن به حدود طبیعی ادامه داد. در بررسی مقادیر هتروفیل میتوان نتیجه‌گیری کرد نه تنها نوکلئوتید جیره موجب افزایش هتروفیل خون گردیده بلکه با افزایش شوری نیز این افزایش بیشتر شده است. ۱۲ ساعت پس از تنش شوری میزان هتروفیل تیمارها افزایش یافت هرچند این افزایش در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ولی میزان این افزایش در گروه‌های تحت تیمار با نوکلئوتید کمتر از گروه شاهد بود. شاید بتوان این کاهش در میزان افزایش را به نوکلئوتید مصرفی نسبت داد ( $P \leq 0.05$ ).

لی و گاتلین (۳۵) به نقل از لئوناردی و همکاران (۳۲) افزایش تحریک لنفوسیت‌ها را در قزل‌آلای تغذیه شده با نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد گزارش کردند ( $P \leq 0.05$ ) که این افزایش لنفوسیت می‌تواند نشانه‌ای از بهبود وضعیت ایمنی ماهی باشد (۴۶) با اینحال در این تحقیق درصد لنفوسیت خون ماهیان تحت تیمار با نوکلئوتید بعد از تنش شوری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ولی این افزایش معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ) که این افزایش اندک نیز می‌تواند دلیلی بر نقش محرک ایمنی بودن نوکلئوتید جیره در گونه‌های ماهیان باشد؛ هرچند این عدم معنی‌داری نیز می‌تواند به دلیل دوره‌ی تیمار کوتاه مدت (۱۰ هفته) باشد. در حین تنش شوری هم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها

### منابع

- اولاد، ص.، خداپنده، ص.، و عابدیان، ع.، ۱۳۸۹. تاثیر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره بر فعالیت تنظیم اسمزی زواید باب-المعدی بچه ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspicus*). مجله تحقیقات دامپزشکی، سال چهارم، شماره ۶۵، ۲۷۳-۲۸۰.
- ایمانپور، م. ر.، ۱۳۷۸. بررسی عادات غذایی و مرگ و میر بچه ماهیان قره‌برون رهاسازی شده به گرگان‌رود، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده شیلات و محیط زیست علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۷۲ ص.
- بهنی، م.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، محسنی، م.، پوردهقانی، م.، جمالزاده، ف.، یوسفی، ا.، و دژندیان، س.، ۱۳۸۷. گزارش نهایی پروژه بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون پرورشی، مولدسازی، تکثیر مصنوعی و تولید بچه ماهی از مولدین تاسماهیان پرورشی، انتشارات موسسه تحقیقات، ۸۶ ص ۱۳۰ / شیلات ایران، شماره ثبت ۱۵.
- تقی‌زاده، و.، ایمانپور، م. ر.، اسعدی، ر.، چمن‌آرا، و.، و شربتی، س.، ۱۳۸۹. تاثیر جایگزینی پروتئین گیاهی به جای آرد ماهی

۷. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱)، تشریح و فیزیولوژی ماهی، انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، ص ۶۵۸.
۸. ظریف فرد، ا.، بهمنی، م.، خدادادی، م.، و محمودی، ن.ا.، ۱۳۸۸. تاثیر نوکلئوتید جیره بر برخی شاخص‌های رشد و بقای ماهی هامور معمولی، مجله بیولوژی دریا، سال اول، شماره اول، ۱۰۲-۱۱۴ ص.
۹. فلاحتکار، ب.، و پورحسین سارمه، س.، ۱۳۹۲. تغییرات بیوشیمیایی، استروئیدهای جنسی و پارامترهای هماتولوژیک در قبل و پس از تخم‌ریزی ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۶، ۳۳۳-۳۴۳ ص.
۱۰. Barton, B.A. and Iwama, G.K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases 1:3-26.
۱۱. Billard, R. and Lecointre, G. (2001). Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10: 355-392.
۱۲. Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. (1973) Routine haematological methods for use with fish blood. J Fish Biol 5:771-781. Boza, J. (1998). Nucleotide in infant nutrition. Monatschr Kinderheilkd 146: 39-48.
۱۳. Borda, E. Martinez-Puig, D. and Cordoba, X. (2003). A balanced nucleotide supply makes sense. Feed Mix 11: 24-26.
۱۴. Braun, N. Lima, R.L.D. Baldisserotto, B. Dafre, A.L. and Nuner, A.P.D.O. (2010). Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. Aquaculture 301:22-30.
۱۵. Burrells, C. William, P. D. and Forno, P. F. (2001a). Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. Effects on resistance to diseases in salmonids. Aquaculture 199: 159-169.
۱۶. Burrells, C. William, P. D. and Forno, P. F. (2001b). Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. Effects on resistance to diseases in salmonids. Aquaculture 199: 159-169.
۱۷. Carey, J.B. and McCormick, S.D. (1998). Atlantic salmon smolts are more responsive to an acute handling and confinement stress than parr. Aquaculture 168:237-253.
۱۸. Carver, J.D. (1994). Dietary nucleotides: Cellular immune, intestinal and hepatic system effects. Journal of Nutrition 124:144-148.
۱۹. Choudhury, D. Pal, A.K. Saha, N.P. Kumar, S. Das, S.S. and Mukherjee, S.C. (2005). Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology 19:281-291.
۲۰. Cosgrove, M. (1998). Nucleotides. Nutrition 14: 748-751.
۲۱. Dang, z. Balm, P.H. Flik, G. Wendelaar Bonga, S.E. and Lock, R.A. (2000). Cortisol increases Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase density in Plasma Membranes of Gill Chloride Cells in The Fresh Water Tilapia Osmoregulation. Journal of Experimental Biology 203: 2349-2355.
۲۲. Dorafshan, S. Kalbassi, M.R. Pourkazemi, M. Mojazi Amiri, B. Soltan Karimi, S. (2008). Effects of triploidy on the Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) haematology. Fish Physiology and Biochemistry 34:195-200.
۲۳. Dumas, B.T. Watson, W.A. Biggs, H.G. (1977). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clinica Chimica Acta 258:21-30.
۲۴. Evans, D.H. (1980). Kinetic studies of ion transport by fish gill epithelium. American Journal of Physiology 238, R224-R230.
۲۵. Fegan, D. (2004). Nucleotides. Aqua Feeds: Formulation and Beyond. 1:4.
۲۶. Fontana, L. Moreira, E. Torres, M.I. Fernández, I. Sánchez de Medina, F. and Gil, A. (1998) Dietary nucleotides correct plasma and liver microsomal fatty acid alterations in rats with liver cirrhosis induced by oral intake of

- thioacetamide. *Journal of Hepatology* 28(4):662–669.
27. Gil, A. (2002) Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *European Journal of Clinical Nutrition* 56(3):1–4.
  28. Grimble, G. K. (1996). Why are dietary nucleotides essential nutrients? *Journal of nutrition*. 76: 475-478.
  29. Hoseinifar, S.H. Mirvaghefi, A. Mojazi Amiri, B. Merrifield, D. Darvish Bastami, K. (2010). The study of some haematologic and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed dietary prebiotic oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry*. doi:10.1007/s10695-010-9420-9.
  30. Houston, H. (1997). Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? *Transactions of the American Fisheries Society* 126:879–894.
  31. Jensen F. B., Lecklin, T., Busk, M., Bury, N. R., Wilson, R., Wood, C. M., and Grosell, M. (2002). Physiology impact of salinity increase at organism and red blood cell levels in European flounder (*Platichthys flesus*). *Journal of experimental marine biology and ecology* 274: 159-174.
  32. Jha, A. K. Pal A. K. Sahu, N. P. Kumar, S. and Mukherjee, S. C. (2007). Haemato immunological responses to dietary yeast RNA,  $\omega$ -3 fatty acid and b-carotene in (*Catla catla*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology* 23: 917- 927.
  33. Kumar, S. Sahu, N.P. Pal, A.K. Choudhury, D. Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C. (2005). Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in (*Labeo rohita*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology* 19:331–344.
  34. Leonardi, M. Sandino, A. M. and Klempau, A. (2003). Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathology* 23: 52–59.
  35. Li, P. and Gatlin III, D.M. (2006). Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future applications. *Aquaculture* 251: 141–152.
  36. López-Navarro, A.T. Gil, A. and Sánchez-Pozo, A. (1995). Deprivation of dietary nucleotides results in a transient decrease in acid soluble nucleotides and RNA concentration in rat liver. *Journal of Nutrition* 125:2090–2095.
  37. Marshall, W.S. and Singer, T.D. (2002). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in teleost fish. *Biochimica et Biophysica Acta* 1566, 16– 27.
  38. Maxime, V. Peyraud-Waitzenegger, M. Claireaux, G. and Peyraud, C. (1990). Effects of rapid transfer from sea water to fresh water on respiratory variables, blood acid– base status and O<sub>2</sub> affinity of haemoglobin in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Comparative Physiology B* 160, 31– 39.
  39. McCormick, S. D. Shrimpton, J. M. Carey, J. B. Odea, M. F. Sloan, K. E. Moriyama, S. and Bjornsson, B. T. H. ( 1998). Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. *Aquaculture* 168: 2, 221-235.
  40. Mishra, S. K. and Hertrampf, J. W. (2006). Nucleotide: The performance promoter. *Aquaculture Asia-Pacific Magazine*: 32-33.
  41. Morgan, J.D., Iwama, G.K. (1997). Measurements of stressed states in the field. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 247-268.
  42. Pérez, J.M. Sánchez-Medina, F. Torres, M. Gil, A. and Suárez, A. (2004). Dietary nucleotides enhance the liver redox state and protein synthesis in cirrhotic rats. *Journal of Nutrition* 134:2504–2508.
  43. Rawling, M.D. Merrifield, D.L. and Davies, S.J. (2009). Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture*, 294, 118–122.
  44. SPSS. 1998. SPSS for Windows. SPSS Inc, Headquarters, Chicago.
  45. Tietz, N.W. (1986). *Textbook of clinical chemistry*. WB Saunders, London.
  46. Urbinati, E.C. and Carneiro, P.C.F. (2001). Metabolic and hormonal responses of matrinxã (*Brycon cephalus*), (Teleost: Characidae) to transport stress under influence of benzocaine. *Journal of Aquaculture in the Tropics* 16:75–85.
  47. Wedemeyer, G.A. Barton, B.A. and McLeay, D.J. (1990). Stress and acclimation. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) *Methods for fish biology*.

American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA. 451-489.

48. Yousefi, M. Abtahi, B. and Abedian-Kenari, A. (2011). A Hematological, serum biochemical

parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles fed dietary nucleotide. Comparative Clinical Pathology doi: 10.1007/s00580-011-1225-4.

## The Effect of Salinity stress on the Haematological and Serum Biochemical parameters of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) Juveniles fed with different levels of Nucleotide-supplemented diet

Khani F.<sup>1</sup>, Imanpoor M.R.<sup>1</sup>, Kolangi Miandare H.<sup>1</sup>, Ghaedi A.R.<sup>2</sup> and Taghizadeh V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fisheries Dept., University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Iranian Fisheries Research Organization (I.F.R.O), Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

The effect of salinity stress on the haematological and serum biochemical parameters of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) juveniles fed with different levels of Nucleotide-supplemented diet was examined in this study. Fish ( $42.37 \pm 2.12$  g and  $23.67 \pm 0.61$  cm) randomly were divided to four treatments with different levels of dietary nucleotides (0, 0.25, 0.35 and 0.5 % diet) and three replications with a density of 12 fish per tank. After 10 weeks feeding, salinity abruptly increased to 12 ppt. Serum biochemical and blood parameters were measured at 0, 12, 24, 48, 72 and 120 hours after salinity stress. One-way ANOVA using the results significantly in the Spss 18 software was used for analysis. Duncan test was used for mean comparing. Among the factors measured before salinity challenge, blood glucose, triglycerides, cholesterol, erythrocyte and heterophil showed significant differences between the groups fed with nucleotides and the control group ( $P \leq 0.05$ ). After 12 hours after salinity stress, control group significantly showed the lowest values of total protein, albumin and eosinophil, and highest value of magnesium while the highest value of albumin found in group fed 0.50 % NT ( $P \leq 0.05$ ). 24 hours after salinity stress, treatments fed 0.35 and 0.50 % NT, significantly showed the highest values of Hct and RBC. Also the lowest eosinophil was seen in treatment 0.50% ( $P \leq 0.05$ ). 48 hours after salinity challenge onset, glucose and MCHC in control group significantly showed the highest values compared to NT-treated groups while there was a significant decrease in calcium as NT level increased ( $P \leq 0.05$ ). The Mg value, 72 hours later, was significantly higher in treatment 0.50%. Finally, in the last blood sampling ( $T_{120}$ ), the lowest value of heterophil was found in treatments 0.35 and 0.50 ( $P \leq 0.05$ ).

**Key words:** Osmoregulation, Dietary Nucleotide, Hematological and Serum Biochemical Parameters, Persian sturgeon (*Acipenser persicus*)