

مقاله کوتاه

بررسی تأثیر تراکم ذخیره‌سازی بر پارامترهای رشد، فاکتورهای ایمنی و میزان استرس در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

معصومه بحر کاظمی

قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۲

چکیده

اثر تراکم ذخیره‌سازی (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ قطعه بچه‌ماهی در مترمکعب) بر پارامترهای رشد و ایمنی در ماهی آزاد دریای خزر بررسی شد. ۱۰۰۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی $7/25 \pm 0/44$ گرم در ۹ حوضچه بتونی ذخیره‌سازی شدند. با افزایش تراکم میزان افزایش وزن و طول بدن ماهی‌ها کاهش یافت. در ضریب رشد ویژه کاهش معنی‌دار و در میزان ضریب تبدیلی غذایی افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/05$). از لحاظ میزان تلفات، در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای خونی نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($P > 0/05$). پایین‌ترین میزان پروتئین تام خون در تیمار ۱ دیده شد. میزان کمپلمان C3 در هر سه تیمار یکسان بود. بالاترین میزان کمپلمان C4 و ایمونوگلوبولین در تیمار ۲ و بیشترین میزان هورمون کورتیزول در تیمار ۳ اندازه‌گیری شد. در نتیجه، افزایش تراکم ذخیره‌سازی می‌تواند سبب کاهش بازده پرورش در این ماهی شود، هرچند این افزایش تراکم از نظر استرس‌زایی و تأثیر بر فاکتورهای ایمنی معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: تراکم، ایمونوگلوبولین، کورتیزول، ماهی آزاد دریای خزر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۳۳۸۴۴۳۶۳، پست الکترونیکی: m.bahrekazemi@qaemiau.ac.ir

مقدمه

ماهیان، رقابت بر سر منابع غذایی و فضای موردنیاز زیستی، نوعی استرس مزمن ایجاد شده که می‌تواند اثرات منفی بر روی رشد داشته باشد (۱۵). کورتیزول به‌عنوان مهم‌ترین معرف استرس در جانداران شناخته شده است. استرس ممکن است به افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌ها، کاهش رشد و نواقص تولیدمثلی منجر شود که به نظر می‌رسد همگی آن‌ها به دلیل ترشح کورتیزول می‌باشد (۳). تغییر در پارامترهای خونی ماهیان در مواجهه با شرایط زیست‌محیطی نیز پاسخی است بر استرس‌های محیطی و می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم مدنظر

ماهی آزاد دریای خزر از ماهیان باارزش دریای خزر و بومی کشور ایران است. با توجه به آلودگی منابع آبی و از بین رفتن زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، بقای نسل این‌گونه به خطر افتاده است. به همین دلیل به‌منظور بازسازی ذخایر آن، از سال ۱۳۶۲ تکثیر و پرورش مصنوعی آن انجام می‌شود (۶). میزان رشد ماهی به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی مطرح می‌باشد که با تراکم مرتبط است (۴). در بسیاری از گونه‌های پرورشی، میزان رشد ماهی در صورت افزایش تراکم به‌شدت کاهش یافته که به دلایل مختلفی مانند روابط متقابل بین

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = افزایش وزن بدن (گرم)

طول اولیه (سانتی‌متر) - طول نهایی (سانتی‌متر) = افزایش طول بدن (سانتی‌متر)

$100 * \frac{\text{طول دوره آزمایش} - \text{Ln}}{\text{Ln}}$ وزن

نهایی] = نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

افزایش وزن ماهی به گرم/غذای خورده شده به گرم =

ضریب تبدیل غذایی (FCR)

$100 * \frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان}}$

تلف شده در طول دوره) = درصد تلفات

سنجش پارامترهای خون‌شناسی و هورمونی: در پایان

دوره آزمایش، به منظور خون‌گیری از بچه ماهیان از هر یک از تکرارهای آزمایشی تعداد ۱۰ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از ساقه دمی صورت گرفت. اندازه‌گیری میزان پروتئین تام خون (مجموع آلبومین و گلوبولین‌های خون) به روش Biuret و در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام گرفت (۱). اندازه‌گیری مقدار هورمون کورتیزول به روش Elisa و در طول موج ۴۰۵ تا ۶۰۳ نانومتر صورت پذیرفت (۵). آنالیز میزان کمپلمان‌ها (C4 و C3) و ایمونوگلوبولین به روش نفلومتری در محدوده ۴۰۰ تا ۸۴۰ نانومتر انجام شد (۱).

آنالیز آماری: طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق، طرح کاملاً تصادفی بود. تفاوت میانگین داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج، با افزایش تراکم، میزان افزایش وزن بدن ماهی آزاد دریای خزر کاهش یافت، به نحوی که از

قرار گیرد. کمپلمان‌ها از مهم‌ترین عوامل دفاعی بدن می‌باشند و نقش کلیدی در ایمنی دارند. استرس می‌تواند باعث افزایش فعالیت کمپلمان‌ها (C3 و C4) در سرم خون ماهیان می‌شوند (۱۱). تاکنون هیچ تحقیقی در ارتباط با تأثیر تراکم ذخیره‌سازی در ماهی آزاد دریای خزر انجام نشده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر پارامترهای رشد و ایمنی در این گونه می‌باشد.

مواد و روشها

این مطالعه به مدت ۶۰ روز، در سال ۱۳۹۳ در کارگاه پرورش ماهی مداربسته کوهستان طلایی شهرستان فیروزکوه انجام شد.

تهیه نمونه ماهی: تعداد ۱۰۰۰ قطعه بچه ماهی پرورشی با میانگین وزنی $7/25 \pm 0/44$ گرم و طول $8/25 \pm 0/44$ سانتی‌متر از مرکز تکثیر و پرورش ماهی آزاد واقع در منطقه لفور تهیه و به محل انجام آزمایش منتقل شدند.

طرح آزمایش و سنجش پارامترهای میدانی: ماهی‌ها پس از سازگاری اولیه به مدت ۱۴ روز با شرایط کارگاه، به طور کاملاً تصادفی در ۹ حوضچه بتونی با حجم آبیگیری یک مترمکعب در ۳ تیمار (تراکم‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ قطعه بچه ماهی در هر مترمکعب) و هر یک در ۳ تکرار ذخیره‌سازی شدند. تمامی شرایط فیزیکی و شیمیایی آب مخازن در طول دوره آزمایش کنترل و در سطح بهینه نگهداری شد (درجه حرارت: 12 ± 1 درجه سانتی‌گراد، شوری: $5 \text{ ppt} < \text{pH}$ ، $8 \pm 0/4$ ، اکسیژن محلول: $6/5 \pm 0/5 \text{ mg/l}$ ، دی‌اکسید کربن: $10 \text{ mg/l} <$ ، نیتريت: $0/1 \text{ mg/l} <$ ، نیترات: $20 \text{ mg/l} <$). غذادهی به بچه ماهیان به صورت روزانه و بر اساس درصد وزن بدن (۳ درصد)، در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۳ و ۱۸) انجام گرفت (۶). پارامترهای رشد به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (۲).

دسی‌لیتر) در تیمار ۱ مشاهده شد، اگرچه بین تیمارهای مختلف از این حیث اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). میزان کمپلمان C3 در هر سه تیمار یکسان و $0/29 \pm 0/01$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. بین تیمارها از نظر میزان C4 نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). میزان ایمونوگلوبولین اندازه‌گیری شده در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان نداد اگرچه بالاترین میزان آن $0/38 \pm 0/02$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در تیمار ۲ مشاهده شد. بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ میزان هورمون کورتیزول خون نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$), اگرچه بیشترین میزان این هورمون $27/83 \pm 1/08$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در تیمار ۳ اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

۱۰/۰۸±۰/۷۵ گرم در تراکم ۵۰ قطعه در مترمکعب به ۶/۱۵±۰/۰۸ گرم در تراکم ۱۰۰ قطعه در مترمکعب رسید. همین نتایج در میزان افزایش طول ماهیان در تراکم‌های مختلف مشاهده شد (جدول ۱). از لحاظ میزان تلفات، در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$), اگرچه بالاترین میزان تلفات در تیمار ۳ مشاهده شد. در تیمار ۲ (تراکم ۷۵ قطعه ماهی در مترمکعب) از این حیث هیچ‌گونه تلفاتی مشاهده نشد. با افزایش تراکم در میزان ضریب رشد ویژه کاهش معنی‌دار و در میزان ضریب تبدیل غذایی افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$) (جدول ۱).

نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای خونی نشان داد که بیشترین میزان پروتئین تام خون ($2/70 \pm 0/53$ گرم بر

جدول ۱- مقایسه پارامترهای رشد، بقا و تغذیه ای در تراکم‌های ذخیره سازی مختلف در ماهی آزاد دریای خزر

پارامتر	تراکم (تعداد/م ³)		
	۱۰۰	۷۵	۵۰
افزایش وزن (گرم)	$6/15 \pm 0/08^c$	$8/24 \pm 0/74^b$	$10/08 \pm 0/75^a$
افزایش طول (سانتی‌متر)	$3/96 \pm 0/44^c$	$5/55 \pm 0/36^b$	$7/16 \pm 0/52^a$
تلفات (درصد)	$1/00 \pm 0/05^a$	0^a	$0/67 \pm 0/25^a$
ضریب رشد ویژه (درصد/روز)	$1/00 \pm 0/01^c$	$1/11 \pm 0/09^b$	$1/39 \pm 0/04^a$
ضریب تبدیل غذایی	$1/35 \pm 0/08^c$	$0/70 \pm 0/01^b$	$0/63 \pm 0/05^a$

* اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند تفاوت معنی دار ندارند ($P>0/05$).

جدول ۲- مقایسه پارامترهای خونی در تراکم‌های ذخیره سازی مختلف در ماهی آزاد دریای خزر

پارامتر	تراکم (تعداد/م ³)		
	۱۰۰	۷۵	۵۰
پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر)	$2/57 \pm 0/35^a$	$2/64 \pm 0/21^a$	$2/70 \pm 0/53^a$
C3 (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	$0/29 \pm 0^a$	$0/29 \pm 0^a$	$0/29 \pm 0^a$
C4 (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	$0/75 \pm 0^a$	$0/84 \pm 0/02^a$	$0/75 \pm 0^a$
ایمونوگلوبولین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	$0/25 \pm 0^a$	$0/38 \pm 0/02^a$	$0/25 \pm 0/01^a$
کورتیزول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	$27/83 \pm 1/08^a$	$25/93 \pm 5/06^a$	$27/00 \pm 4/48^a$

* اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند تفاوت معنی دار ندارند ($P>0/05$).

در این تحقیق با افزایش تراکم میزان رشد کاهش معنی‌داری پیدا کرد. بهترین نتیجه به تراکم ذخیره‌سازی ۵۰ قطعه

بحث

است (۹). Fevloten و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که تراکم ذخیره‌سازی در قزل‌آلای رنگین‌کمان اثر افزایشی بر ایمونوگلوبولین‌ها دارد که برخلاف نتایج حاصل از این مطالعه می‌باشد (۱۱). Di Marco و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که اگرچه تراکم ذخیره‌سازی بر میزان پروتئین‌های خون ماهیان باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) تأثیر معنی‌دار نداشت، اما با افزایش تراکم میزان کمپلمان‌ها افزایش یافت (۹). افزایش فعالیت کمپلمان‌ها در سرم خون ماهیان می‌تواند نشان‌دهنده افزایش میزان استرس در آن‌ها باشد (۱۴). بنابراین، با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار در نتایج این مطالعه، تراکم‌های ذخیره‌سازی مورد آزمایش در این مطالعه نتوانست منجر به افزایش میزان استرس در ماهیان شود. کورتیزول با القای تأثیرات منفی بر روی هورمون‌های آنابولیک و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و کاتابولیسم آن‌ها موجب کاهش رشد در ماهیان می‌شود (۳). نتایج این مطالعه نشان داد که بین تیمارهای مختلف از لحاظ میزان کورتیزول اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حسنعلی پور و همکاران نیز در سال ۱۳۹۲ نشان دادند که تراکم بر سطوح کورتیزول خون در ماهی خاویاری سیبری (*Acipenser baerii*) اثر معنی‌دار نداشت که مشابه نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد (۳). افزایش این هورمون به‌ویژه در صورت قرارگرفتن ماهیان در معرض استرس‌های حاد رخ می‌دهد، ولی در مواجهه ماهیان با استرس‌های مزمن (نظیر این پژوهش)، پس از افزایش اولیه کورتیزول، در طولانی‌مدت میزان آن با کاهش روبه‌رو می‌شود (۱۵).

در نتیجه، افزایش تراکم ذخیره‌سازی در ماهی آزاد دریای خزر به دلیل وجود اثر معنی‌دار بر پارامترهای رشد و تغذیه، می‌تواند سبب کاهش بازده پرورش در این ماهی شود، هرچند این افزایش تراکم از نظر استرس‌زایی و تأثیر بر فاکتورهای ایمنی معنی‌دار نبود.

ماهی در هر مترمکعب مربوط بود که بدان معناست که کاهش تراکم اثر مثبتی بر روی افزایش وزن و طول داشت. Bojuard و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان کردند که تراکم عامل اصلی استرس در ماهی نیست بلکه رقابت بر سر غذا و مکان در تراکم‌های بالا عامل استرس است که تأثیر منفی بر روی رشد دارد (۸). با افزایش رشد ماهی تقاضای غذا در آن افزایش می‌یابد و تأثیر کمبود غذا در دوره پرورش معنی‌دارتر می‌شود (۷). مطالعات قلی‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۵ (۴) نیز نتایج این تحقیق را تأیید نمود.

اگرچه از نظر میزان تلفات اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، ولی افزایش تراکم باعث افزایش تلفات شد. نتایج بدست آمده با نتایج Boujard و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۸) و قلی‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۵ (۴) هم‌خوانی داشت.

در این تحقیق با افزایش تراکم ضریب رشد ویژه کاهش معنی‌داری پیدا کرد. تحقیقات صورت گرفته توسط Holm و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که ضریب رشد ویژه رابطه منفی با تراکم ذخیره‌سازی داشته و با افزایش تراکم بطور معنی‌داری کاهش یافت (۱۲). McKenzie و همکاران در سال ۲۰۱۲، با مطالعه بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان به این نتیجه رسیدند که با افزایش تراکم گرفتن غذا دچار نقصان می‌شود (۱۳).

با افزایش تراکم، ضریب تبدیل غذایی افزایش پیدا کرد که این نتیجه با نتایج مطالعه قلی‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۵ (۴) در مورد قزل‌آلای رنگین‌کمان مطابقت داشت. دفع مواد زائد و همچنین میزان دفع آمونیاک در تراکم‌های بالا به‌شدت افزایش می‌یابد که سرانجام این عوامل بر میزان جذب غذا و رشد ماهیان اثر منفی دارد (۱۰).

در این تحقیق افزایش تراکم تفاوت معنی‌داری را در میزان پارامترهای خونی ایجاد نکرد. دامنه میزان پروتئین تام در خون ماهیان استخوانی بین ۸-۲ گرم در دسی‌لیتر متغیر

منابع

۱. امیر رسولی، ه.، ۱۳۷۰. بیوشیمی بالینی، انتشارات دانشگاه تهران، ۸۰ صفحه.
۲. حسنعلی پور، ع.، بهمنی، م.، یاور، و.، محسنی، م.، کاظمی، ر.، پاشا زانوسی، ح.، و مرشدی، و.، ۱۳۹۲. بررسی اثرات تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر سطوح کورتیزول تاس ماهی سبیری (*Acipenser baerii*)، مجله پژوهشهای جانوری، دوره ۲۶، شماره ۲، صفحات ۱۵۴ - ۱۶۲.
۳. رستگار، س.، موحدی نیا، ع.، و یاراحمدی، ز.، ۱۳۹۴. بررسی اثر استرس بنزوالفا پیرن بر بافت آبشش و سطوح کورتیزول
۴. قلی پور، ف.، علامه، ک.، محمدی آرائی، م.، و نصر اصفهانی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر تراکم بر رشد و ضریب تبدیل خوراک قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۰، صفحات ۲۳ - ۲۷.
۵. هدایتی، م.، ۱۳۷۹. آشنایی با مبانی تئوری و اصول عملی الیاز، انتشارات کتاب میر، جلد اول، ۷۴ صفحه.
6. Bahre Kazemi, M., Soltani, M., Matinfar, A., Abtahi, B., Pusti, I., Mohagheghi Samarin, A., and Mojazi Amiri, B., 2010. Biochemical and histological studies of overripened oocyte in the Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) to determine biomarkers for egg quality. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(1), PP: 33-48.
7. Bohlin, T., Sundström, L.F., Johnsson, J.I., Hojesjo, J., and Pettersson, J., 2002. Density-dependent growth in brown trout: effects of introducing wild and hatchery fish. Journal of Animal Ecology, 71(4), PP: 683-692.
8. Boujard, T., Labbé, L., and Aupérin, B., 2002. Feeding behaviour, energy expenditure and growth of rainbow trout in relation to stocking density and food accessibility. Aquaculture Research, 33(15), PP: 1233-1242.
9. Di Marco, P., Priori, A., Fioia, M.G., Massari, A., Mandich, A., and Marino, G., 2008. Physiological responses of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to different stocking densities and acute stress challenge. Aquaculture, 275, PP: 319-328.
10. Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., and Gadd, D., 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Journal of Fish Biology, 61, PP: 493-531.
11. Fevolden, S.E., Røed, K.H., and Fjalestad, K.T., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. Aquaculture, 205(1-2), PP: 61-75.
12. Holm, J.C., Refstie, T., and Bø, S. 1990. The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 89 (3-4), PP: 225-232.
13. McKenzie, D.J., Höglund, E., Dupont-Prinet, A., Larsen, B.K., Skov, P.V., Pedersen, P.B., and Jokumsen, A., 2012. Effects of stocking density and sustained aerobic exercise on growth, energetics and welfare of rainbow trout. Aquaculture, 338-341, PP: 216-222.
14. Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.V., Tort, L. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. Aquaculture, 171, PP: 269-278.
15. North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., and Bromage, N.R., 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 255(1-4), PP: 466-479.

*Short paper***The effect of stocking density on growth performance, immune factors and stress in Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*)****Bahrekazemi M.**

Fisheries Dept., Qaemshahr branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, I.R. of Iran

Abstract

The effect of three levels of stocking density (50, 75 and 100 fingerlings per m³) on growth and immune factors of *Salmo trutta caspius* was studied. 1000 fingerlings (7.25 ± 0.44 g) were stocked in 9 concrete ponds. body weight and length gain of fishes were decreased with increasing density. Specific growth rate was significantly decreased and feed conversion ratio was significantly increased. There was no significant difference between treatments in survival rate (P >0.05). Analysis of hematological parameters showed no significant difference between treatments (P>0.05), the highest amount of blood total protein was observed in treatment 1. The amount of complement C3 was the same in all treatments. The highest amount of complement C4 and Immunoglobulin were measured in treatment 2 and the highest cortisol level was observed in treatment 3. According to the results, an increase in stocking density of *S. trutta caspius* can reduce the efficiency of fish farming. However, this increasing density had no significant effect on immune factors and stress.

Key words: density, immunoglobulin, cortisol, *Salmo trutta caspius*.