اثرات تراکم پرورش بر گلبول‌های سفید و سطوح کورتیزول پلاسمای خون تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

رسول زارع[۱]، محمود بهمنی[۲]، وحید یاوری[۳]، رضوان‌ا.. کاظمی[۴]، ندا فاضلی[۵]، محمد پوردهقانی[۴] و تکاور محمدیان[۶]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۷

خلاصه

این مطالعه به منظور بررسی اثرات تراکم پرورش بر تعداد کل و افتراقی گلبول‌های سفید وکورتیزول سرم خون تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) صورت گرفت. تاس ماهیان سیبری ۳ ساله (با وزن ۹۰±۴۶۰ گرم) به مدت ۸ هفته در ۵ تراکم مختلف (۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ قطعه ماهی در هر مخزن ۵۰۰ لیتری) نگهداری شدند. به منظور ارزیابی تغییرات تعداد کل گلبول‌های سفید و درصد هر یک از آنها، در ابتدا و انتهای آزمایش نمونه خون یک سوم جمعیت هر مخزن با تهیه ۳ اسمیر خونی از هر نمونه مطالعه گردید. در تراکم‌های بالا (۱۵ و ۱۸ ماهی) کاهش قابل ملاحظه‌ای در تعداد کل لکوسیت‌ها مشاهده گردید که ناشی از افت قابل توجه تعداد لنفوسیت‌ها بود در حالی که درصد نوتروفیل‌های خون به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($P<۰/۰۵$). تغییرات آماری معنی‌داری در درصد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$). همچنین تغییرات آماری معنی‌داری در غلظت کورتیزول سرم خون این گونه در تراکم‌های مختلف وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). در کل، نتایج نشان داد که: ۱) استرس مزمن ناشی از شرایط پرورش متراکم توان سیستم ایمنی تاس ماهی سیبری را کاهش داد. ۲) در تاس ماهی سیبری تغییرات ترکیب سلول‌های خونی نسبت به سطوح کورتیزول سرم شاخص بهتری برای بروز استرس تراکم می‌باشد.

کلمات کلیدی: تاس ماهی سیبری، استرس، تراکم، کورتیزول و لکوسیت

مقدمه

امروزه بسیاری از گونه‌های تاس‌ماهیان به دلیل صید بیش از حد، صید غیر مجاز، آلودگی آب، تقاضای بازار و تخریب زیستگاه‌های طبیعی در معرض خطر انقراض قرار دارند (۲۰) به منظور حفاظت از جمعیت‌های طبیعی و تامین تقاضای بالای خاویار، پرورش تاس‌ماهیان به یکی از شاخه‌های در حال توسعه آبزی‌پروری تبدیل شده است (۷) و در این بین، تاس‌ماهی سیبری[۱] از جمله گونه‌هایی می‌باشد که آینده خوبی برای پرورش در کشورهای اروپایی از خود نشان داده است (۳۸ و ۴۰). این گونه در اغلب کشورها از قبیل روسیه، فرانسه و ایتالیا پرورش داده می‌شود. از این رو گونه مناسبی برای استفاده در صنعت آبزی‌پروری محسوب می‌گردد به طوری که، در سال ۲۰۰۳ میزان تولید آن تنها در روسیه ۷۵۰ تن بوده است (۴۵). با توجه به سرعت رشد بالای این گونه در شرایط پرورشی، قدرت تحمل نوسانات دمایی و کوتاه بودن دوره رسیدن به بلوغ جنسی، این گونه در کشور ما نیز داوطلب

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر E-mail: Zare_rasool@yahoo.com (نویسنده مسئول)

[۲] استادیار انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، رشت

[۳] دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

[۴] مربی گروه فیزیولوژی، انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، رشت

[۵] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

[۶] دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

1- *Acipenser baerii* Brandt

مناسبی برای پرورش به منظور تولید خاویار یا تولید گوشت می‌باشد. از این رو، این گونه در اسفند سال ۱۳۸۴ وارد ایران شد. اهدافی که از این کار دنبال می‌شد در درجه اول تولید خاویار و گوشت و در درجه دوم، فراهم نمودن بانک ژنی تمام گونه‌های خاویاری در کنار ۵ گونه خاویاری دریای خزر در ایران بود. بدیهی است جهت بررسی امکان پرورش این گونه در شرایط کشور دستیابی به بهترین شرایط محیطی جهت پرورش این گونه ضروری است. تحقیقات گذشته روی سایر آبزیان نشان داده است که تراکم ذخیره‌سازی مهمترین عاملی است که در شرایط پرورشی روی آبزی اثر می‌گذارد (۲۱ و ۵۰). بنابراین به منظور بررسی امکان معرفی تاس‌ماهی سیبری به حیطه آبزی‌پروری کشور و با توجه اهمیت تراکم پرورش در گونه‌های مختلف آبزیان، این بحث به عنوان اولین تحقیق مدون روی تاس‌ماهی سیبری در شرایط کشور انتخاب گردید. بررسی‌ها نشان می‌دهد که ازدحام جمعیت یکی از عوامل تنش (استرس) زای رایج در آبزی‌پروری می‌باشد که بر ماهی اثر می‌گذارد (۲۳ و ۳۵) و ماهی در تلاش برای جبران آن دستخوش یک سری تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک از قبیل تغییر ترکیب خون و مکانیسم‌های ایمنی (۴۲ و ۴۴) می‌گردد و از این طریق با تنش مقابله می‌کند (۲۳). روش کنترل عصبی و هومورال مورد استفاده در ماهی برای مقابله با واکنش‌های تنش شامل فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک و نواحی ترشحی بخش فوقانی کلیه می‌باشد که هورمون‌های تنش (اپی‌نفرین و کورتیزول) را ترشح می‌کنند (۴۲ و ۴۴). از آنجائی که بافت خون می‌تواند تغییرات فیزیکی و شیمیایی که در موجود زنده رخ می‌دهد را منعکس سازد و همچنین به کمک آن می‌توان اطلاعات زیادی در مورد وضعیت فیزیولوژیکی و متابولیسم کلی ماهیان در گروه‌های سنی و زیستگاه‌های مختلف به دست آورد (۴ و ۱۷)، در این بررسی نیز برخی فاکتورهای خونی به عنوان شاخص‌های بروز تنش مورد استفاده قرار گرفتند. مطالعات گذشته روی سایر گونه‌ها نشان داده که یکی از شاخص‌های خونی مناسب در تشخیص تنش‌های محیطی بررسی خصوصیات سلول‌های خونی (تعداد، شکل، ترکیب و غیره) است (۲۵). در رابطه با گلبول‌های سفید، در ماهیانی که تحت تاثیر تنش قرار گرفته‌اند، معمولاً کاهش تعداد (به ویژه کاهش لنفوسیت‌ها) (۷، ۱۶ و ۴۶) و برخی مواقع افزایش سلول‌های فاگوسیت کننده رخ می‌دهد (۷ و ۴۶) که این امر معمولاً هم کاهش فعالیت لنفوسیت‌ها و هم کاهش فعالیت فاگوسیت‌ها را به همراه دارد (۴۶). از این رو هدف از این مطالعه، بررسی اثرات تنش تراکم بر تعداد کل گلبول‌های سفید و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید و سطوح کورتیزول سرم خون تاس‌ماهیان سیبری ۳ ساله می‌باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۸۰ قطعه تاس‌ماهی سیبری ۳ ساله با متوسط وزن ۹۰±۴۶۰ گرم و طول ۳/۶±۵۰ سانتی‌متر در ۵ تراکم مختلف ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ماهی در هر مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری (۹-۳ کیلوگرم در مترمربع) رهاسازی و به مدت ۸ هفته نگهداری شدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان در جمعیت همگن و در شرایط توزیع نرمال در وان‌ها توزیع گردیدند. پس از یک دوره سازگاری ۲ روزه، عملیات زیست‌سنجی صورت گرفت و به کمک دستگاه شماره‌زن دستی پلاک‌های شماره‌دار پلاستیکی به قسمت باله پشتی هر یک از ماهی‌ها متصل گردید و اطلاعات حاصل از بیومتری بر اساس شماره هر ماهی ثبت گردید. بیومتری هر ۲۰ روز تکرار گردید و اطلاعات هر یک از ماهی‌ها بر اساس شماره باله پشتی ثبت گردید. غذادهی با استفاده از پلت‌های مخصوص تهیه شده در خود مرکز صورت گرفت. میزان غذادهی پس از هر بیومتری و بر اساس نتایج حاصل محاسبه می‌شد و مقدار آن بسته به دمای آب (که بین ۲۲-۱۸ درجه سانتی‌گراد متغییر بود) بین ۱ تا ۲ درصد وزن بیومس هر وان بود و غذادهی روزانه در ۴

نوبت صورت می‌گرفت. میزان غذا در ۴ نوبت مساوی بود.

اندازه‌گیری و ثبت فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب (دما، اکسیژن و pH) به طور روزانه انجام شد و وان‌های مخصوص نگهداری ماهیان به طور مرتب سیفون و تمیز می‌گردیدند. این کار هر روز و در دو نوبت صورت می‌گرفت. به منظور بررسی تغییرات فاکتورهای خونی مورد آزمایش تحت تاثیر تراکم‌های مختلف، عملیات خونگیری در دو مرحله صورت گرفت: یکی در ابتدا (هفته اول) و دیگری در انتهای آزمایش (هفته هشتم). در خونگیری اول، یک سوم جمعیت هر مخزن به طور کاملاً تصادفی انتخاب و خونگیری از سیاهرگ ساقه دمی صورت گرفت (۲۶ و ۴۷). برای جلوگیری از تلفات احتمالی در زمان خونگیری، غذادهی ماهی‌ها ۲۴ ساعت پیش از انجام عملیات قطع گردید. لازم به ذکر است به منظور اطمینان از اینکه تغییرات مشاهده شده در شاخص‌های خونی ناشی از اثر تراکم بوده‌اند و اختلافات بین گونه‌ای نقشی نداشته است، خونگیری در ابتدا و انتهای آزمایش از ماهیان مشابه صورت گرفت. برای این کار از شماره‌های نصب شده روی باله پشتی استفاده گردید. پیش از خونگیری از هیچ نوع ماده بیهوش کننده‌ای استفاده نگردید زیرا برخی محققین عقیده دارند مواد بیهوش کننده خود یک عامل تنش‌زا بوده و ممکن است بر پارامترهای خون تاثیر بگذارند (۳۷). برای مقید نمودن ماهی‌ها با استفاده پارچه مرطوب سر و چشم‌ها پوشانده شده و ساقه دمی را به کمک دست مهار گردید. عملیات خونگیری در هر دو مرحله با استفاده از سرنگ‌های هپارینه با حجم ۲cc انجام گردید.

برای شمارش تام گلبول‌های سفید باید از محلولی استفاده شود که گلبول‌های سفید و قرمز با آن رنگ‌های متفاوتی گرفته و شمارش آنها به سهولت انجام می‌گیرد. این محلول روزانه و قبل از شمارش به میزان زیر تهیه و استفاده شد (۱ و ۳):

ـ سیترات سدیم دو درصد به میزان ۱ میلی‌لیتر

ـ محلول ویوله‌دوژانسین یک درصد در محلول رینگر به میزان ۲ میلی‌لیتر

ـ برلیانت کرزیل بلو ۰/۱ درصد در محلول رینگر به میزان ۱ میلی‌لیتر

ـ فرمالین خنثی به میزان سه قطره

محلول فوق با هم مخلوط و صاف گردید. سپس میزان ۴۰۰ میکرولیتر از محلول فوق را برداشته و ۱۰ میکرولیتر خون به آنها اضافه گردید. پس از شمارش گلبول‌های سفید که دایره‌ای شکل و به رنگ آبی پر رنگ به نظر می‌رسند، مجموع اعداد ۴ خانه دو طرف لام هموسیتومتر را با هم جمع کرده، میانگین گرفته و در عدد ۱۰۰ ضرب و تعداد گلبول‌های سفید محاسبه گردید (۱ و ۳). به دلیل تراکم بیش از حد گلبول‌های سفید در غلظت ۱۰ به ۲۰۰، از غلظت ۱۰ به ۴۰۰ استفاده گردید. به منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید بلافاصله پس از خونگیری، اسمیر (گسترش خونی) تهیه شد و گسترش‌های تهیه شده با استفاده از متانول فیکس و با رنگ‌های کلینیکی آماده گیمسا (مرک، آلمان) به میزان ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی گردیدند (۱ و ۳۱). مطالعه و شمارش سلولی اسلایدهای تهیه شده (۳ اسلاید از هر نمونه) به منظور تعیین درصد لکوسیت‌های شاخص (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و منوسیت) به کمک دستگاه شمارنده دستی و زیر میکروسکوپ نوری مجهز به سیستم رایانه‌ای انجام شد. از روش زیگزاگ جهت شمارش و تعیین درصد هر یک از گلبول‌های سفید استفاده گردید (۱ و ۴۱). برای شمارش تعداد کل لکوسیت‌ها از لام هموسیتومتر و طبق روش استاندارد استفاده شد (۴۱).

سرم خون پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کردن با ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. اندازه‌گیری کورتیزول خون با روش رادیوایمونواسی با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاماکانتر مدل L.K.B ساخت فنلاند و با بکارگیری کیت‌های هورمونی ایمیونوتک[1] انجام شد.

1- Immunotech

آنالیزهای آماری

داده‌های حاصل از تیمارهای مختلف به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)[1] با استفاده از نرم‌افزار SPSS 12 با هم مقایسه و در صورت مشاهده اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵)، اختلاف میانگین‌ها با کنترل و به صورت دو به دو توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند.

نتایج

جدول ۱ نتایج حاصل در مورد تاثیر تنش مزمن (تراکم) و پاسخ‌های تنش در تیمارهای مختلف بر شاخص‌های رشد و تغذیه تاس‌ماهی سیبری را نشان می‌دهد. ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر تنش تراکم افزایش یافت. تراکم بالا همچنین باعث کاهش رشد طولی و وزنی، رشد روزانه (GR)[2] و رشد ویژه (SGR)[3] شد (جدول ۱). اثر تراکم بر فاکتور وضعیت بدن (CF)[4] در تراکم‌های مختلف محسوس نبود. با وجود این فاکتورهای رشد و تغذیه تاس‌ماهی سیبری در تراکم‌های مختلف از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P<۰/۰۵).

جدول ۱: اثر تراکم بر ضریب تبدیل غذایی و شاخص‌های رشد تاس‌ماهی سیبری

تراکم (ماهی در تانک)	G.R (گرم در روز)	S.G.R (درصد در روز)	B.W.I (درصد)	C.F	F.C.R
۶	۷/۵۹±۰/۷	۱/۱۳±۰/۰۵	۲۵/۴±۱/۲	۰/۳۸±۰/۰۱	۰/۶±۰/۰۹
۹	۷/۵۸±۰/۹	۰/۸۵±۰/۰۳۶	۱۸/۶۳±۰/۸۵	۰/۴۱±۰/۰۱	۲/۱۸±۰/۱
۱۲	۴/۶۵±۰/۶۶	۰/۷۵±۰/۰۸۵	۱۶/۲۴±۴/۹۸	۰/۳۹±۰/۰۱	۲/۵۴±۰/۳۲
۱۵	۵/۳۲±۱/۱۲	۰/۸۴±۰/۱۴۵	۱۸/۵±۳/۵	۰/۴۱±۰/۰۱	۲/۴۷±۰/۳۲
۱۸	۴/۹۷±۰/۰۴	۰/۸۱±۰/۰۰۳	۱۷/۶±۰/۰۸	۰/۳۹±۰/۰۱	۲/۱۹±۰/۰۷

جدول ۲: مقادیر میانگین (Mean±S.E) حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون و میزان کورتیزول سرم خون تاس‌ماهی سیبری در تراکم‌های مختلف

تراکم / فاکتور	۶		۹		۱۲		۱۵		۱۸	
	آغاز	پایان	آغاز	پایان	آغاز	پایان	آغاز	پایان	آغاز	پایان
کورتیزول (ng/mL)	۲/۷±۱/۴	۸/۵±۱/۸	۴/۹±۰/۹	۹/۱±۱/۷	۲/۵±۰/۵	۱۰/۸±۲/۲	۱/۹۹±۰/۸	۱۳/۳±۲/۸	۳/۷±۰/۷	۱۳/۶±۳/۸
WBCs ($10^3/mm^3$)	۲۴/۸±۲/۸	۲۰/۵±۱	۲۲/۸±۲/۴	۱۹/۷±۱	۲۳/۶±۲	۱۹/۴±۱/۷	۲۲/۲±۲/۲	۱۷/۹±۱	۲۱/۲±۲/۵	۱۶/۷±۱
Neutrophils (%)	۲۵/۸±۲/۳	۲۵±۳/۸	۲۸/۷±۲/۱	۲۲/۹±۲/۹	۲۹/۶±۱/۲	۲۹/۱±۱/۹	۲۹/۷±۱	۴۱/۳±۲/۴	۲۸/۱±۱	۴۱/۷±۱/۳
Lymphocytes (%)	۷۱/۷±۲/۴	۷۲/۶±۳/۳	۷۰±۲/۲۶	۷۳/۸±۲/۸	۶۸±۱/۴۸	۶۷/۵±۱/۹	۴۷/۹±۱/۴	۵۷±۱/۸	۶۹/۹±۱	۵۲/۲±۱
Monocytes (%)	۰/۱۴±۰/۱	۰/۴±۰/۵	۰/۱۵±۰/۱	۰/۴±۰/۱	۰/۱۶±۰/۱	۰/۵±۰/۱۴	۰/۲۸±۰/۲	۰/۵۷±۰/۱	۰/۰۴±/۰۴	۰/۷±۰/۱
Eosinophils (%)	۲/۲±۰/۴	۳/۲±۰/۶	۱/۷±۰/۵	۳±۱	۲/۲±۰/۴۲	۲/۹±۰/۵۶	۲/۷۵±۰/۳	۲/۸۵±۰/۳	۲/۰۸±۰/۳	۲/۳±۰/۵

1- One –way Analysis of variance
2- Growth Rate
3- Specific Growth Rate
4- Condition Factor

مقایسه تعداد کل گلبول‌های سفید در تراکم‌های مختلف: تعداد کل گلبول‌های سفید در خونگیری اول در تمام تیمارها تقریباً مشابه و مقدار آن بین ۲۱۲۱۰ تا ۲۴۷۵۰ بود. میانگین مقادیر این فاکتور در تراکم‌های مختلف ۲۲۹۰۸±۱۳۵۷ (Mean±SE) بود. در این مرحله، بر اساس آزمون ANOVA مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). در خونگیری نهایی (هفته هشتم) بیشترین میزان این فاکتور (۲۴۵۷۰) در تراکم ۶ و کمترین مقدار آن (۱۶۵۶۷) در تراکم ۱۸ مشاهده گردید. مقدار این فاکتور در تیمارهای مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی کاهش نشان داد و مقدار آن در تراکم‌های بالا به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از تراکم‌های پایین بود (جدول ۲).

مقایسه درصد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در تراکم‌های مختلف: درصد کل لنفوسیت‌ها در ابتدای آزمایش در تمام تیمارها تقریباً مشابه (میانگین ۶۹/۵±۱/۶ درصد) و مقدار آن بین ۶۷/۹ تا ۷۱/۷ درصد بود. در این مرحله، بر اساس آزمون ANOVA مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). در انتهای آزمایش، بیشترین درصد این فاکتور (۷۳/۷۶ درصد) در تراکم‌های پایین (۶ و ۹ ماهی) و کمترین میزان آن در تراکم ۱۸ ماهی (۵۵/۳±۱/۰۶ درصد) مشاهده شد. مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی کاهش یافت و درصد لنفوسیت‌ها در تراکم‌های پایین به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از تراکم‌های بالا بود (جدول ۲). میانگین درصد کل نوتروفیل‌ها در ابتدای آزمایش ۲۸/۴±۱/۵۶ درصد بود که در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). در انتهای آزمایش، بیشترین درصد این فاکتور در تراکم‌های ۱۸ و ۱۵ ماهی (به ترتیب ۴۱/۷±۱/۳ و ۴۱/۳±۲/۴ درصد) و کمترین میزان آن در تراکم‌های پایین مشاهده شد. مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی افزایش نشان داد و درصد نوتروفیل‌ها در تراکم‌های بالا به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از تراکم‌های پایین بود (جدول ۲).

مقایسه درصد مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در تراکم‌های مختلف: درصدکل مونوسیت‌ها در ابتدای آزمایش بین ۰/۰۴ تا ۰/۲۸ درصد و میانگین کل آن ۰/۱۴ درصد بود که مقدار آن در تراکم‌های مختلف از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). در انتهای آزمایش، بیشترین درصد این فاکتور در تراکم‌های ۱۸ ماهی (۰/۷±۰/۱ درصد) و کمترین میزان آن در تراکم ۶ ماهی (۰/۴±۰/۵ درصد) مشاهده شد. مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی افزایش نشان داد. با این حال درصد مونوسیت در تراکم‌های مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (P>۰/۰۵). علاوه بر این در تمام تراکم‌ها مقدار این فاکتور بیش از مقادیر مشاهده شده در ابتدای آزمایش بود و میانگین آن از ۰/۱۴ به ۰/۴۹ درصد رسید (جدول ۲).

درصد کل ائوزینوفیل‌ها در ابتدای آزمایش در تراکم‌های مختلف بین ۱/۶۹ تا ۲/۵۷ درصد بود. در انتهای آزمایش کمترین درصد این فاکتور در تراکم‌های ۱۸ ماهی (۲/۳±۰/۵ درصد) و بیشترین میزان آن در تراکم ۶ ماهی (۳/۲±۰/۶ درصد) مشاهده شد. مقدار این فاکتور در تراکم‌های مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی کاهش نشان داد با این حال درصد آنها در تراکم‌های مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

مقایسه سطح کورتیزول خون در تراکم‌های مختلف: در انتهای آزمایش سطح کورتیزول خون در تیمارهای مختلف با افزایش تراکم، به طور تقریباً منظمی افزایش نشان داد. همچنین مقدار این فاکتور در تمامی تیمارها بیش از مقدار اولیه بود. بیشترین میزان این فاکتور (۱۳/۶±۳/۸ ng/dl) در تراکم ۱۸ ماهی و کمترین مقدار آن (۸/۵±۱/۸ ng/dl) در تراکم ۶ ماهی مشاهده گردید. با این حال مقادیر این نوسانات این فاکتورها در تراکم‌های

مختلف از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

بحث

بررسی‌های گذشته نشان داده است یکی از شناخته شده ترین پاسخ‌های تنش در ماهی افزایش سطح کورتیزول خون می‌باشد (۸، ۱۰، ۳۲ و ۳۵) و در این بین، تراکم بالا یکی از عوامل تنش‌زای مزمن می‌باشد که باعث بالا رفتن سطح این هورمون در خون می‌شود (۸، ۱۲ و ۳۵). در این بررسی نیز افزایش تراکم باعث افزایش سطح این هورمون در خون گردید هرچند که اختلاف ایجاد شده در بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نبود. این نتایج با نتایج به دست آمده توسط Cataldi و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت دارد که نشان داد تراکم بالا بر سطوح کورتیزول پلاسمای خون تاس‌ماهی آدریاتیک[1] تاثیر معنی‌داری ندارد (۱۴). محققین با بررسی اثر تنش مزمن بر ماهیان استخوانی به این نتیجه رسیدند که برخی ماهی‌ها تحت تاثیر تنش مزمن افزایش ناچیزی در سطوح کورتیزول را نشان می‌دهند (۱۱، ۱۹ و ۳۶). در مورد ماهیان غضروفی استخوانی نیز محققین نشان داده‌اند که میزان افزایش سطح کورتیزول پلاسمای خون تاس‌ماهیانی نظیر *اسکافی رینکوس آلبوس*[2] و *پولیودون اسپاتولا*[3] پس از تنش پایین می‌باشد (۱۰) که این پدیده احتمالاً ناشی از خستگی و فرسودگی سیستم درون‌ریز ماهی در نتیجه فعالیت بیش از حد طی مدت طولانی تاثیر تنش (۲۲) یا خوگیری جاندار با شرایط موجود (۹ و ۲۸) می‌باشد. به عبارت دیگر، اگر حیوان به مدت طولانی تحت تاثیر شرایط نامناسب محیطی قرار گیرد، ترشح کورتیزول کاهش می‌یابد زیرا حساسیت بافت غده فوق کلیوی (مسئول ترشح کورتیزول) نسبت به هورمون‌های هیپوفیز کاهش می‌یابد (۲۸). از این رو محققین به این نتیجه رسیدند که بررسی تغییرات ترکیب سلول‌های خونی شاخص‌های بهتری برای تنش بوده (۳۴) و کورتیزول شاخص اصلی در هنگام تنش‌های حاد می‌باشد نه در تنش مزمن بنابراین در مورد تنش‌های مزمن می‌توان از آن به عنوان اطلاعات تکمیلی استفاده نمود (۲۸).

نتایج حاصل از بررسی سلول‌های خونی حاکی از وقوع تغییرات مشخص در گلبول‌های سفید تاس‌ماهی سیبری در تراکم‌های بالا بود. تعداد کل گلبول‌های سفید در تراکم‌های بالا به طور معنی‌داری کمتر از تراکم‌های پایین بود. محققین عقیده دارند که لکوسیتوپنی[4] یا کاهش کلی تعداد لکوسیت‌ها یک پاسخ غیر اختصاصی به تنش‌های محیطی می باشد که هورمون‌های کورتیکوستروئیدی به طور غیرمستقیم در این فرایند نقش دارند (۱۵ و ۲۹). Yada و Nakanishi (۲۰۰۲) نیز به این نتیجه رسیدند که تنش‌های محیطی باعث نوسان سطوح کورتیزول و کتکول آمین‌ها می‌شوند که این هورمون‌ها مسئول سرکوب ایمنی در ماهی هستند (۴۹). کاهش تعداد گلبول‌های سفید تحت تاثیر تنش‌های محیطی پیش از این در مورد ازون‌برون پرورشی[5] (۳)، تاس‌ماهی ایرانی[6] (۱)، فیل‌ماهی[7] (۳۹ و ۵۱)، کپور معمولی[8] (۷ و ۴۶) و تیلاپیای رود نیل[9] (۲۷) گزارش شده است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در حالت آرامش (خونگیری اول) لنفوسیت‌ها، لکوسیت‌های غالب خون

1- *Acipenser naccarii*
2- *Scaphirhynchus albus*
3- *Polyodon spathula*
4- Leukocytopenia
5- *Acipenser stellatus*
6- *A. persicus*
7- *Huso huso*
8- *Cyprinus carpio*
9- *Oreochromis niloticus*

تاس‌ماهی سیبری بود که با نتایج به دست آمده در مورد تاس‌ماهی سیبری (۲۰) و سایر تاس‌ماهیان مطابقت دارد (۱، ۳، ۳۹ و ۵۱). با این حال در انتهای آزمایش در تراکم‌های بالا همراه با کاهش کلی لکوسیت‌ها، درصد لنفوسیت‌ها نیز به طور قابل ملاحظه‌ای افت کرد. مطالعات گذشته نشان داده است که ترشح کورتیزول تحت تاثیر تنش طول عمر لنفوسیت‌ها را کاهش داده، مرگ برنامه‌ریزی شده آنها را تسریع کرده (۴۳، ۴۴ و ۴۸) و تکثیر آنها را کاهش می‌دهد (۱۸). از این رو کاهش تعداد و فعالیت لنفوسیت‌ها، صرف نظر از عامل، وقوع تنش را نشان می‌دهد (۴۶).

در مورد نوتروفیل‌ها، شاهد کاهش قابل ملاحظه درصد این سلول‌ها در تراکم‌های بالا بودیم که این پدیده نیز ممکن است ناشی از تاثیر هورمون کورتیزول باشد (۴۶). مطالعات گذشته نشان داد که نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها نقش مهمی در ایجاد فعالیت‌های سیستم ایمنی بدن ایفا می‌نمایند و کورتیکوستروئیدها تاثیر زیادی بر نوسان تعداد این سلول‌ها دارند به طوری که در زمان بروز تنش و ترشح کورتیکواستروئیدهایی نظیر کورتیزول با پدیده‌های کاهش لنفوسیت‌ها[1] و افزایش نوتروفیل‌ها[2] مواجه می‌شویم که این تغییرات با نوسانات سطوح کورتیزول خون دقیقاً مطابقت دارد (۲). پدیده نوتروفیلی در پستانداران توسط یک عامل آزادکننده نوتروفیل[3] کنترل می‌شود (۲۴). در ماهی، افزایش ترشح هورمون کورتیزول تحت تاثیر تنش طی فرایندی به نام پاسخ بازدارنده التهاب[4] مانع مهاجرت نوتروفیل‌ها به بافت‌ها شده و با جلوگیری از آپوپتوزیس این سلول‌ها، عمر آنها را افزایش می‌دهد (۴۸). این در حالی است که اخیراً Balabanova و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی تاثیر تنش ناشی از تزریق هورمون کورتیزون در ماهی کپور کاهش تعداد لنفوسیت‌ها از یک طرف و افزایش تعداد نوتروفیل‌ها از سوی دیگر را مشاهده نمودند. آنها به این نتیجه رسیدند که طی فرایند تمایز سلول‌های هماتوپویتیک مسئول ساخت اجزاء سیستم ایمنی، مسیر تولید سلول‌های لنفوئید متوقف شده و مسیر تولید سلول‌های میلوئید فعال می‌شود که این امر احتمالاً به دلیل اختلال در سنتز سیتوکیناز توسط سلول‌های بافت لنفومیلوئید می‌باشد که مسئول فرایندهای تمایز، واکنش‌های بین سلولی و شکل‌گیری سیستم ایمنی همورال و سلولی می‌باشند (۴۶).

در مورد ائوزینوفیل‌ها، کمترین مقدار در تراکم‌های ۱۸ ماهی (۲/۳±۰/۰۵ درصد) و بیشترین میزان آن در تراکم ۶ ماهی (۳/۲±۰/۶ درصد) مشاهده شد ولی سطوح این فاکتور در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود. بررسی انجام شده روی فیل‌ماهیان پرورشی و تاس‌ماهی ایرانی در گروه‌های سنی ۱، ۲ و ۶ ساله میانگین نوسان سطوح ائوزینوفیل‌ها را ۶/۶ تا ۱۳/۷ درصد نشان داد (۵ و ۶). مطالعه انجام شده به وسیله Palikova و همکاران (۱۹۹۹) روی فیل‌ماهی، ازون برون و تاس‌ماهی سیبری نیز نوسان آنها را ۳ تا ۴/۶ درصد نشان می‌دهد (۳۳). به طور کلی میزان ائوزینوفیل‌ها در خون ماهیان پایین بوده و در شرایط طبیعی ۲ تا ۳ درصداز کل لکوسیت‌های خون ماهیان را تشکیل می‌دهد و بندرت گزارشاتی مبنی بر این که ۱۰ درصد از کل لکوسیت‌ها را تشکیل می‌دهند (۳۰).

با مطالعه درصد مونوسیت‌های خون در تراکم‌های مختلف، بیشترین درصد این فاکتوردر تراکم‌های ۱۸ (۰/۷±۰/۱ درصد) و کمترین میزان آن در تراکم ۶ ماهی (۰/۴±۰/۵ درصد) مشاهده شد ولی سطوح این فاکتور نیز در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود. مطالعه انجام شده توسط Gomulka و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داد مونوسیت‌ها درصد پایینی (۰/۰۱ درصد) از لکوسیت‌های خون تاس‌ماهی سیبری را به خود اختصاص می‌دهند (۲۰). در سایر گونه‌های تاس‌ماهیان نیز نتایج مشابه بود به عنوان مثال Zarenjbad و همکاران (۲۰۰۹)

1- Lymphopenia
2- Neutrophilia
3- Neutrophil Releasing Factor
4- Inflammative Inhibiting Response

با مطالعه‌ای که روی فیل‌ماهیان پرورشی انجام دادند، میزان منوسیت‌های خون این گونه را ۰/۶۶-۰/۳۳ درصد گزارش کردند (۵۱). بررسی صورت گرفته توسط بهمنی و همکاران (۱۳۷۷) و Bahmani و همکاران (۲۰۰۱) روی فیل‌ماهی و تاس‌ماهی ایرانی یک، دو و شش ساله، میزان منوسیت‌ها را ۰/۶ تا ۲/۲۵ درصد، فیل‌ماهیان یک ساله ۰/۶۴ تا ۲/۱ درصد و تاس‌ماهی ایرانی یک ساله ۰/۲۵ تا ۲/۵ درصد گزارش گردید (۱ و ۶). به علاوه، در بررسی انجام شده به وسیله Palikova و همکاران (۱۹۹۹) روی فیل‌ماهی، ازون برون و تاس‌ماهی سیبری میزان منوسیت‌ها ۰/۷ تا ۲ درصد گزارش گردیده است که تقریباً با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۳۳). بنابراین تعداد پایین مونوسیت‌ها در اغلب ماهیان معمول است (۱۳).

در کنار فاکتورهای خونی اختلاف معنی‌داری در میزان رشد و شاخص‌های رشد این ماهی در تراکم‌های مختلف مشاهده نگردید. بدین معنی که ماهیان تراکم‌های بالا (۱۵ و ۱۸ ماهی) طی دوره دو ماهه پرورش با سرعتی تقریباً مشابه ماهیان تراکم‌های پایین رشد کرده‌اند. باید توجه داشت که طی دوره پرورش از هیچ گونه اقدامات مدیریتی اضافی در تراکم‌های بالا (هوادهی، تعویض آب و غذای اختصاصی) استفاده نگردید و شرایط پرورش برای تمام تراکم‌ها کاملاً یکسان در نظر گرفته شده بود. بنابراین به نظر می‌رسد که بتوان تاس‌ماهی سیبری با این کلاسه وزنی را تا تراکم ۹kg/m^2 پرورش داد. این در حالی است که این تراکم ۳ برابر تراکم مطلوب برای فیل‌ماهی پرورشی می‌باشد (۱).

بروز تغییرات عمیق در گلبول‌های سفید خون این گونه در تراکم‌های بالا حاکی از این است که تراکم به عنوان یک عامل تنش‌زا در این گونه محسوب می‌گردد و باعث کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل‌ها و کاهش لنفوسیت‌ها می‌گردد. با این حال این تنش تا حدی نیست که بتواند باعث کاهش رشد و شاخص‌های رشد این گونه شود. این نشان می‌دهد که تراکم ۹kg/m^2 (۳ برابر تراکم مطلوب برای فیل‌ماهی پرورشی) به دست آمده در انتهای آزمایش نمی‌تواند حد نهایی تراکم پرورش در این گونه باشد. همچنین با توجه به عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در غلظت کورتیزول خون در تراکم‌های مختلف، می‌توان نتیجه گرفت که در تاس‌ماهی سیبری مطالعه تغییرات ترکیب گلبول‌های سفید خون نسبت به سطوح کورتیزول سرم شاخص بهتری برای بروز تنش می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از تمام کارکنان بخش تکثیر و فیزیولوژی موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در این پروژه همکاری داشتند، نهایت سپاس و قدردانی را دارم.

منابع

۱- بهمنی محمود (۱۳۷۸). گزارش نهایی پروژه بررسی اکوفیزیولوژی استرس از طریق اثر بر محور HPG، HPI، سیستم ایمنی و فرایند تولید مثل در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، پایان‌نامه دکترای تخصصی، شماره ۳۴، صفحات ۲۷۴-۲۳۰.

۲- بهمنی محمود، کاظمی رضوان و دانسکایا پیتر (۱۳۸۱). گزارش نهایی پروژه ارزیابی کیفی تاسماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی، پروژه مشترک با انسیتو کاسپرنیخ روسیه، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۷۷-۲۵.

۳- یونس‌زاده‌فشالمی محمد، بهمنی محمود، کاظمی رضوان‌اله، پوردهقانی محمد و فیض‌بخش حسین (۱۳۸۷). بررسی تغییرات فصلی کورتیزول، گلوکز و یون‌ها در ماهیان ماده ازون برون (*Acipenser stellatus*) پرورشی. مجله شیلات، سال دوم، شماره چهارم، صفحات ۳۷-۴۶.

4- Abdel-Tawwab M., Mamdouh A.A.M., Safaa M.S. and Mohammad H.A. (2005). Effect of crowding stress on some physiological functions of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fed different dietary protein levels. International Journal of Zoological Research, 1 (1): 41-47.

5- Bahmani M., Kazemi R. and Donskaya P. (1999). A comparative study of some hematological features in young reared sturgeon. Iranian Journal of Fisheries Science, 1(2): 61-73.

6- Bahmani M., Kazemi R. and Donskaya P. (2001). A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). Fish Physiology and Biochemistry, 24: 135-140.

7- Balabanova L.V., Mikryakov D.V. and Mikryakov V.R. (2009). Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocytes to hormone-induced stress. Inland Water Biology 2(1): 86–88.

8- 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 in Fish Disease, 1: 3–26.

9- Barton B.A., Bollig H., Hauskins B.L. and Jansen C.R. (2000). Juvenile pallid (*Scaphirhynchus albus*) and hybrid pallid×shovelnose (*S. albus×platorynchus. sp*) sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. Comparative Biochemistry and Physiology, 126: 125-134.

10- Barton B.A. (2002). Stress in Fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42: 517–525.

11- Barton B.A., Ribas L., Acerete L. and Tort L. (2005). Effects of chronic confinement on physiological responses of the juvenile githead sea bream, *Sparus Aurata* L. to acute handling. Aquaculture Research, 36: 172-179.

12- Beyea M.M., Benfey T.J. and Kieffer J.D. (2005). Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Fish Physiology and Biochemistry, 31: 303-313.

13- Buliss R.A. (1993). Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fishes. *In*: Stoskopf, M.A (1993). Fish Medicine, pp: 232-234.

14- Cataldi E., Di Marco P., Mandich A. and Cataudella S. (1998). Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. Comparative Biochemistry and Physiology, 121A: 351-354.

15- Ellis A.E. (1981). Stress and the modulation of defense mechanisms in fish. *In*: Pickering, A.D. (1995). Stress and Fish. Academic Press, London. pp: 147-169.

16- Ellsaesser C.F. and Clem L.W. (1986). Haematological and immunological changes in channel catfish stressed by handling and transport: Journal of Fish Biology, 28: 511-521.

17- Ellsaesser C.F., Miller N.W. and Cuchens M.A. (1985). Analysis of channel catfish peripheral blood leukocytes by bright-field microscopy and flow-cytometry: Transactions of the American Fisheries Society. 114: 279-285.

18- Espelid S., Lokken G.B., Steiro K. and Bogwald J. (1996). Effects of cortisol and stress on the immune system in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish and Shellfish Immunology, 6: 95-110.

19- Fast M.D., Hosoya S., Johnson S.C. and Afonso L.O.B. (2008). Cortisol response and immune-related effects of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short- and long-term stress. Fish and Shellfish Immunology, 24: 194-204.

20- Gomulka1 T., Wlasow P., Velisek J., Svobodova Z. and Chmielinska E. (2008). Effects of eugenol and MS-222 anesthesia on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt). Journal of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno, Czech Republic, 77: 447-453.

21- Hengswat K., Ward F.J. and Jaruratjamorn P. (1997). The effect of stocking density on yield, growth and mortality of African catfish (*Claris gariepinus* Burchell 1822) cultured in cages. Aquaculture, 152: 67-76.

22- Hontela A., Rasmussen J.B., Audet C. and Chevalier G. (1992). Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 22: 278-283.

23- Iwama G.K., Afonso L.O.B. and Vijayan M.M. (2004). Stress in Fish. Aqua Net Workshop on Fish Welfare, Campbell River, B.C. Canada. pp: 9.

24- Jain N.C. (1986). Schalm s Vetinery hematology. 4nd edition. Lea & Febiger, Philadelphia. United State America, pp: 1221.

25- Liorente M.T., Martos A. and Castano A. (2002). Detection of cytogenetic alterations and blood cell changes in natural populations of carp. Ecotoxicology, 11: 27-34.

26- Martínez-Álvarez R.M., Hidalgo1 M.C., Domezain A., Morales1 A.E., García-Gallego M. and Sanz1 A. (2002). Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. Experimental Biology, 205: 3699–3706.

27- Martins M.L., Nomura D.T. and Yamaguchi M.D. (2004). Physiological and hematological response of *Orechromis niloticus* exposed to single and consecutive stress of capture. Aquaculture, 255: 466-479.

28- Martines-Porchas M., Martines-Cordova L.R. and Ramos-Enriquez R. (2009). Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? Pan American Journal of Aquatic Sciences, 4(2): 158-178.

29- Mazon A.F., Monteiro E.A.S., Pinteiro G.H. and Fernandes M.N. (2002). Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish (*Prochilodus scrofa*). Brazilian Journal of Biology, 62(4A): 621-631.

30- McDonald D.G. and Milligan C.L. (1992). Chemical properties of the blood. In: Hoar, P (1995). Fish physiology, vol. XII. Academic Press. pp: 56-133.

31- Nussey G., van Vuren H.J. and Dupreez H.H. (1995). Effect of copper on the differential white blood cell counts of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Comparative and Biochemical Physiology, 111(3C): 381-388.

32- Ortun˜o J., Esteban A. and Meseguer J. (2002). Lack of effect of combining different stressors on innate responses of sea bream (*Sparus aurata* L.). Veterinary Immunology and Immunopathology, 84: 17-27.

33- Palikova M., Mares J. and Jirasek J. (1999). Characteristics of leucocytes and thrombocytes of selected sturgeon species from intensive breeding: Acta Veterinaria Brno. 68: 259-264.

34- Pickering A.D. and Pottinger T.G. (1987b). Crowding causes prolonged leucopenia in salmonid fish, despite interrenal acclimation. Journal of Fish Biology, 30: 701-712.

35- Pickering A.D. and Pottinger T.G. (1989). Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiology and Biochemistry, 7: 253-258.

36- Plante S., Audet C., Lambert Y. and Deianone J. (2003). Comparison of stress responses in wild and captive winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) brood stock. Aquaculture Research, 34: 803-812.

37- Potinger T.G. and Pickerling A.D. (1992). The influence of social interaction on the acclimation of Rainbow trout. *Onchorhynchus mikiss*, to chronic stress. Journal of Fish Biology, 41: 435-447.

38- Rad F., Koksal G. and Kindir M. (2003). Growth Performance and Feed Conversion Ratio of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) at Different Dally Feeding Rates. Turkisk Journal of Vetinery Animal Science, 24: 1085-90.

39- Rafatnezhad S., Falahatkar B. and Tolouei M. (2008). Effect of stocking density on hematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Aquaculture Research, 39: 1506-13.

40- Steffens W., Jannichen H. and Fredrich F. (1990). Possibilities of sturgeon culture in central Europe. Aquaculture, 89: 101-122.

41- Stoskopf M.A. (1993). Fish medicine. Sounders Company, U.S.A. p: 882.

42- Svoboda M. (2001). Stress in fishes (a review). Bulletin of. Vesicoureteral reflux Vodnany, Czech Republic, 4:169-191.

43- Verburg van Kemenade B.M., Nowak B., Engelsma M.Y. and Wyets F.A. (1999). Differential effects of cortisol on apoptosis and proliferation of carp lymphocytes from head kidney, spleen and blood. Fish and Shellfish Immunology, 9: 405-415.

44- Wendelaar Bonga S.E. (1997). The stress response in fish. Physiology Review, 77: 591-625.

45- Williot V.E., Sabiau L., Gessner J., Arlati G., Bronzi P., Gulya T. and et al. (2001). Sturgeon Farming In Western Europe. Aquatic Living Research, 14: 367-374.

46- Witeska M. (2005). Stress in fish-hematological and immunological effect of heavy metals. Electronic Journal of Ichthyology, 1:35-41.

47- Wuertz S., Lutz I., Gessner J., Loeschau P., Hogans B., Kirschbaum, and et al. (2006). The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Journal of Applied Ichthyology, 22: 269-273.

48- Wyets F.A.A., Flikt G. and Verburg van Kemenade B.M.L. (1998). Cortisol inhibits apoptosis in carp neutrophilic granulocytes. Developmental and Comparative Immunology, 22: 563-572.

49- Yada T. and Nakanishi T. (2002). Interaction between endocrine and immune systems in fish. International Review of Cytology, 220: 35-92.

50- Yin Y., Lin C.K. and Diana J.S. (1996). Influence of Nile Tilapia (*Oreocromis niloticus*) stocking density in cages on their growth and yield in cages and in ponds containing the cages. Aquaculture, 146: 205-215.

51- Zarejabad A.M., Sudagar M., Pouralimotlagh S. and Bastami K.D. (2009). The effects of rearing temperature on hematological and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile. Comparative Clinical Pathology, 19(4): 367-371.