تنش بلند مدت شوری و دمای آب بر تغییرات برخی شاخصهای فیزیولوژیک در ماهی سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*)

بابک عطائی مهر[۱]
رویا مدنی[۲]*
محمود بهمنی[۳]
آریا اشجع اردلان[٤]

۱، ۲. گروه شیلات، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. مؤسسهٔ تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران
۴. گروه بیولوژی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

***مسئول مکاتبات:**
Roya86m@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۱۰
کد مقاله: ۱۳۹۳۰۴۰۳۰۱
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی است.

چکیده

در این بررسی تغییرات میزان هورمون کورتیزول، متابولیت گلوکز، یون های سدیم، کلر و پتاسیم، آب بافت بدن به همراه تغییرات اندازه و تعداد سلولهای کلراید آبشش و درصد تلفات ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) با میانگین وزنی ۳/۷۰±۰/۹۳ گرم، در اثر انتقال به شوری‌های آب شیرین، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد و نگهداری آنها به مدت ۶۰ روز در این شرایط مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری در آغاز آزمایش، ۳۰ و ۶۰ روز پس از شروع آزمایش صورت گرفت. نتایج نشان داد که میزان هورمون کورتیزول، متابولیت گلوکز، یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم، اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهیان مورد بررسی به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان دادند ($P<۰/۰۵$) و حداکثر میانگین میزان آنها در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردید. میزان آب بافت ماهیان مورد بررسی در طول آزمایش به شکل معنی‌داری روند کاهشی نشان داد ($P<۰/۰۵$) و با روندی معکوس به حداقل میانگین در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش رسید. درصد تلفات ماهیان مورد بررسی در طول آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد ($P<۰/۰۵$) و به حداکثر میانگین در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش رسید و تا روز ۶۰ ام پس از شروع آزمایش کلیهٔ ماهیان مورد بررسی از بین رفتند. بنا به نتایج تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک و درصد تلفات در طول آزمایش به نظر می‌رسد که دامنه شوری ۱۰ گرم بر لیتر به بالا و دامنه دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد به پایین جهت نگهداری و پرورش ماهی سیکید گورخری مناسب نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: تنش، شوری، دما، شاخص های فیزیولوژیک، *Cichlasoma nigrofasciatum*.

مقدمه

مجموع تغییرات فیزیولوژیک که در زمان مواجههٔ ماهی با تغییرات فیزیکی و شیمیایی محیط به وقوع می‌پیوندد و ماهی در جهت مقابله با آن انرژی صرف می‌کند، به عنوان واکنش در برابر استرس نامیده می‌شود (Wedemeyer, 1996). شاخص‌های فیزیولوژیک، همراه با تغییر فاکتورهای محیط از جمله درجهٔ حرارت و شوری که از فاکتورهای اصلی فیزیکوشیمیایی آب می‌باشند، تغییر می‌کنند (Harper and Wolf, 2009). در هنگام بروز تنش ناشی از تغییرات شوری، ماهیان ترکیب مایعات داخلی بدن خود را توسط فرآیند تنظیم فشار اسمزی و از طریق

تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک گوناگون آن تنظیم می‌نمایند که چگونگی تغییرات شاخص‌های هورمونی، متابولیتی، یونی و بافتی، معیاری از چگونگی تحمل تنش در آنها می‌باشد (Evans, 1998). همچنین تغییرات دمایی، اثرات شوری بر ساز و کار فیزولوژیک ماهیان را تشدید می‌کند (Harper and Wolf, 2009). افزایش میزان هورمون کورتیزول، متابولیت گلوکز، یون‌های سدیم، کلر و پتاسیم، اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش و کاهش میزان آب بافت بدن ماهیان در اثر تغییرات شوری و دمای آب در مطالعات انجام شده روی ماهیان استخوانی ماهی طلائی (*Carassius auratus*) (Imanpoor *et al*., 2011)، و در ماهیان غضروفی استخوانی مانند تاسماهی سبز (*Acipenser medirostris*) (Sardella *et al*., 2008) گزارش شده است. شاخص درصد تلفات عاملی جهت ارزیابی چگونگی تحمل تغییرات زیست محیطی از جمله دما و شوری در ماهیان می‌باشد که میزان و نحوه تغییرات آن منعکس کننده چگونگی عملکرد سیستم فیزیولوژیک ماهیان می‌باشد (Wedemeyer *et al*., 1990). منابع علمی افزایش درصد تلفات را با تغییرات شوری و دمای آب در سیکلید مایان (*Cichlasoma urophthalmus*) و سیکلید جواهر (*Hemichromis letourneusi*) (Schofield *et al*., 2010) گزارش نموده‌اند. ماهی سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther 1867) یکی از زیباترین ماهیان خانوادهٔ سیکلیده می‌باشد که به عنوان یک گونهٔ تزئینی آب‌های شیرین، اهمیت تجاری قابل توجهی دارد (Wisenden, 1995). با توجه به اینکه در زمینهٔ تأثیر عوامل استرس‌زا بر شاخص‌های فیزیولوژیک ماهیان زینتی اطلاعات اندکی وجود دارد (Oldfield, 2004)، این بررسی با هدف کسب دانش لازم در خصوص اثرات تنش بلند مدت شوری و دمای آب روی تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک گوناگون ماهی سیکلید گورخری شامل هورمون کورتیزول، متابولیت گلوکز، یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم و آب بافت بدن، تغییرات اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبششی و میزان درصد تلفات آنها، با هدف ارزیابی نحوه واکنش و میزان تحمل ماهی مذکور نسبت به تغییرات این دو عامل در محیط‌های پرورشی و نگهداری آنها، با توجه به اهمیت زیست شناختی و اقتصادی این ماهی به انجام رسید.

مواد و روش ها

ماهیان سیکلید گورخری حاصل از یک گروه تکثیری در کارگاه آکواریوم فامی آبزی گستر تهران با میانگین وزنی ۳/۷۰±۰/۹۳ گرم تهیه گردیدند و پیش از شروع آزمایش به مدت ۲ هفته در آکواریوم‌های حاوی آب شیرین با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (دمای طبیعی محیط کارگاه و گروه شاهد) سازگار گردیدند. شوری‌های آب شامل ۳ گروه (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر (Schofield *et al*., 2010) و دماهای آب شامل ۳ گروه ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد (Beitinger, 1974) در نظر گرفته شدند. پیش از شروع آزمایش، جهت کلرزدایی نسبت به نگهداری و هوادهی دائمی آب به مدت ۴۸ ساعت اقدام گردید و جهت تهیهٔ شوری‌ها، از آب شیرین کارگاه و نمک دریا (Tropic marin-BioActif، ساخت آلمان) استفاده گردید (Karsi and Yavuzcan Yildiz, 2005). با محاسبهٔ نسبت میزان مورد نیاز از نمک دریا و آب شیرین لازم برای مخلوط‌سازی، شوری‌های مورد بررسی تهیه و با استفاده از دستگاه شوری‌سنج (YSI-30 Salinity Conductivity and Temperature، ساخت آمریکا) صحت شوری‌های تهیه شده کنترل شد تا بطور دقیق مطابق با شوری‌های در نظر گرفته شده برای آزمایش باشد. به منظور ایجاد درجه حرارت‌ها از گرم‌کن مجهز به ترموستات (Risheng Heater، ساخت چین) در هر آکواریوم استفاده گردید.

آزمایش با ۳ تکرار در ۲۷ آکواریوم شیشه‌ای با حجم ۵۲ لیتر، با انتقال ماهیان مورد بررسی با تراکم ۲۵ عدد در هر آکواریوم آغاز و با نگهداری آنها به مدت ۶۰ روز در این شرایط ادامه یافت (Gholampoor *et al*., 2011). جهت حفظ شرایط کیفی آب آکواریوم‌ها، هوادهی دائمی و روزانه، تعویض حدود ۳۰ درصد از آب هر آکواریوم با آب با همان درجهٔ شوری و دما انجام گرفت. در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش ضمن ثبت درصد تلفات، نمونه‌برداری جهت سنجش شاخص‌های فیزیولوژیک مورد نظر انجام پذیرفت (Schofield *et al*., 2010).

روش هموژنایز کردن کل بدن ماهیان جهت اندازه‌گیری شاخص‌های مورد بررسی استفاده گردید (Prodocimo *et al*., 2007). در هر ساعت نمونه‌برداری، تعداد ۳ عدد ماهی بطور تصادفی از هر آکواریوم برداشته شد و در ازت مایع منجمد و پس از انتقال به آزمایشگاه در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در آزمایشگاه ضمن هموژنایز کردن در آب مقطر (Ramsay *et al*., 2006) و پس از آن سانتریفیوژ کردن در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه (Goel and Garg, 1980)، از مایع حاصل جهت سنجش تغییرات هورمون کورتیزول، یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم و متابولیت گلوکز استفاده گردید. هورمون کورتیزول به روش کمیلومینسانس (Syriou *et al*., 2011) و با کیت تجاری (Liaison، ساخت ایتالیا)، گلوکز به روش آنزیمی- فتومتری (Solati and Falahatkar, 2007) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi، ساخت ژاپن) یون‌های سدیم و پتاسیم به روش الکترودی (Cataldi *et al*., 1998) و با دستگاه میکرولایت (ISE-Ion Selective Electrode، ساخت فنلاند) و یون کلر از طریق کالری‌متری به روش تیتراسیون توسط نیترات نقره (آرژنومتری) (Handy & Depledge, 1999) اندازه گیری شدند.

در هر ساعت نمونه‌برداری به منظور اندازه‌گیری تغییرات میزان آب بافت بدن ماهیان، تعداد ۳ عدد ماهی بطور تصادفی از هر آکواریوم برداشته شد و این شاخص از طریق اختلاف وزن ایجاد شده قبل و بعد از خشک کردن این ماهیان در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آزمایشگاه و با استفاده از فرمول: (۱۰۰×[وزن ابتدایی/(وزن نهایی-وزن ابتدایی)]=درصد آب بافت بدن) (Moustakas *et al*., 2004) محاسبه گردید.

به منظور ثبت تغییرات اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبششی، در هر ساعت نمونه‌برداری تعداد ۳ عدد ماهی، بطور تصادفی از هر آکواریوم برداشته شده و بطور کامل در فرمالین ۴ درصد تثبیت شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه، دومین کمان آبششی سمت چپ آنها خارج شد و پس از طی مراحل آماده‌سازی بافت شامل آبگیری با اتانول، شفاف‌سازی با گزیلول، آغشته کردن با پارافین و قالب گیری توسط آن برش‌هایی به ضخامت ۲ میکرون از آنها تهیه و به روش هماتوکسیلین- ائوزین (H & E) رنگ‌آمیزی شدند (پوستی و ادیب مرادی، ۱۳۸۵). تعداد سلول‌های کلراید موجود در قاعدهٔ تیغه اولیه و بین دو تیغه ثانویه، پنج پایه آبششی، توسط میکروسکوپ نوری مجهز به میکرومتر چشمی (Nikon، ساخت ژاپن) در تعداد ۹ لام شمارش و میانگین قطر ۱۰ عدد از سلول‌های شمارش شده از هر لام در بزرگ نمایی ۱۰۰۰ ثبت گردید (Carmona *et al*., 2004). آزمون نرمال بودن داده‌ها توسط t-test انجام گردید و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به کلیهٔ شاخص‌های فیزیولوژیک جدول آنالیز واریانس برای آزمایش فاکتوریل با طرح پایهٔ کاملاً تصادفی برای عوامل شوری، دما و زمان هر کدام در ۳ سطح تهیه و جهت بررسی اختلافات معنی‌دار از آزمون HSD توکی استفاده شد (Zar, 1984). پردازش های آماری در نرم افزار SPSS 18 ویرایش هجدهم صورت گرفت.

نتایج

در جدول ۱ میانگین میزان هورمون کورتیزول و متابولیت گلوکز بافت بدن ماهیان سیکلید مورد بررسی در اثر انتقال به شوری‌های (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش آورده شده است.

جدول ۱ : میانگین میزان هورمون کورتیزول و متاولیت گلوکز بافت بدن ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) پس از شروع آزمایش.

شوری آب (گرم بر لیتر)	دمای آب (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان نمونه برداری					
		هورمون کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)			**گلوکز** (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		
		آغاز آزمایش	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**	**آغاز آزمایش**	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**
آب شیرین	۲۰	۱۷/۴۶±۰/۱۱^{a}	۲۶/۹۰±۰/۱۰ ^{b}	–	۴۱/۳۳±۰/۵۷^{a}	۴۷/۳۳±۰/۵۷ ^{b}	–
	۲۵	۱۷/۴۳±۰/۰۵^{a}	۱۷/۶۶±۰/۲۰ ^{a}	۱۷/۷۳±۰/۰۵^{a}	۴۰/۳۳±۰/۵۷^{a}	۴۰/۶۶±۰/۵۷ ^{a}	۴۰/۶۶±۱/۱۵^{a}
	۳۵	۱۷/۴۶±۰/۰۵^{a}	۲۲/۰۳±۰/۱۵ ^{b}	–	۴۰/۳۳±۰/۵۷^{a}	۴۶/۳۳±۰/۵۷ ^{b}	–
۱۰	۲۰	۱۷/۵۶±۰/۰۵^{a}	۴۹/۹۰±۰/۱۰^{b}	–	۴۳/۰۰±۰/۵۷^{a}	۱۰۱/۳۳±۱/۵۲^{b}	–
	۲۵	۱۷/۵۰±۰/۰۵^{a}	۳۶/۴۳±۰/۱۵^{b}	–	۴۲/۳۳±۰/۵۷^{a}	۸۸/۶۶±۰/۵۷^{b}	–
	۳۵	۱۷/۵۳±۰/۰۵^{a}	۴۷/۱۰±۰/۱۷^{b}	–	۴۲/۶۶±۰/۵۷^{a}	۹۷/۳۳±۱/۵۲^{b}	–
۲۰	۲۰	۱۷/۶۳±۰/۰۵^{a}	۵۱/۱۳±۰/۱۵^{b}	–	۴۳/۳۳±۰/۵۷^{a}	۱۱۳/۳۳±۱/۵۲^{b}	–
	۲۵	۱۷/۶۰±۰/۰۵^{a}	۴۹/۳۶±۰/۰۵^{b}	–	۴۳/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۴/۳۳±۱/۱۵^{b}	–
	۳۵	۱۷/۶۰±۰/۰۵^{a}	۵۰/۱۶±۰/۱۱^{b}	–	۴۳/۳۳±۰/۵۷^{a}	۱۰۷/۶۶±۱/۱۵^{b}	–

(n=9، Mean±SD، P<0.05) حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<0.05)

توجه به جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که میزان هورمون کورتیزول و متاولیت گلوکز بافت بدن ماهیان مورد بررسی در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان دادند (P<۰/۰۵) و حداکثر میانگین میزان هورمون کورتیزول ۵۱/۱۳±۰/۱۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حداکثر میانگین میزان متابولیت گلوکز ۱۱۳/۳۳±۱/۵۲ میلی‌گرم بر دسی لیتر، در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردیدند (P<۰/۰۵).

در جدول ۲ میانگین میزان یون‌های سدیم، کلر و پتاسیم بافت بدن ماهیان سیکلید مورد بررسی در اثر انتقال به شوری‌های (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش آورده شده است.

جدول ۲ : میانگین میزان یون سدیم، کلر و پتاسیم بافت بدن ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) پس از شروع آزمایش

شوری آب (گرم بر لیتر)	دمای آب (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان نمونه برداری								
		یون سدیم (میلی‌مول بر لیتر)			**یون کلر** (میلی‌مول بر لیتر)			**یون پتاسیم** (میلی‌مول بر لیتر)		
		آغاز آزمایش	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**	**آغاز آزمایش**	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**	**آغاز آزمایش**	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**
آب شیرین	۲۰	۱۴/۴۰±۰/۱۰ a	۲۴/۴۰±۰/۳۰ b	–	۱۸/۸۳±۰/۰۱ a	۲۴/۰۴±۰/۰۳ b	–	۲۷/۱۰±۰/۰۱ a	۳۵/۳۰±۰/۰۳ b	–
	۲۵	۱۴/۳۶±۰/۱۱ a	۱۴/۵۶±۰/۱۱ a	۱۴/۷۶±۰/۱۱ a	۱۸/۸۲±۰/۰۱ a	۱۸/۸۳±۰/۰۲ a	۱۸/۹۳±۰/۰۱ a	۲۷/۱۰±۰/۰۱ a	۲۷/۱۵±۰/۰۱ a	۲۷/۲۲±۰/۰۱ a
	۳۵	۱۴/۳۶±۰/۰۵ a	۲۲/۲۶±۰/۲۵ b	–	۱۸/۸۲±۰/۰۱ a	۲۱/۷۰±۰/۶۱ b	–	۲۷/۱۱±۰/۰۱ a	۳۳/۲۷±۰/۰۱ b	–
۱۰	۲۰	۱۴/۴۶±۰/۰۵ a	۴۰/۰۰±۰/۶۵ b	–	۱۸/۸۶±۰/۰۱ a	۵۹/۱۰±۰/۰۴ b	–	۲۷/۱۳±۰/۰۱ a	۵۶/۸۰±۰/۵۰ b	–
	۲۵	۱۴/۴۳±۰/۱۱ a	۳۸/۲۰±۰/۳۶ b	–	۱۸/۸۴±۰/۰۱ a	۵۱/۶۳±۰/۷۶ b	–	۲۷/۱۲±۰/۰۱ a	۴۸/۴۰±۰/۰۴ b	–
	۳۵	۱۴/۴۳±۰/۰۵ a	۳۹/۵۳±۰/۴۰ b	–	۱۸/۸۶±۰/۰۱ a	۵۸/۱۴±۰/۰۲ b	–	۲۷/۱۲±۰/۰۱ a	۵۲/۱۴±۰/۶۰ b	–
۲۰	۲۰	۱۴/۵۶±۰/۰۵ a	۴۶/۵۶±۰/۲۵ b	–	۱۸/۸۷±۰/۰۱ a	۶۷/۹۲±۰/۰۲ b	–	۲۷/۱۵±۰/۰۱ a	۶۷/۵۶±۰/۶۲ b	–
	۲۵	۱۴/۵۰±۰/۰۵ a	۴۳/۲۳±۰/۷۲ b	–	۱۸/۸۴±۰/۰۱ a	۶۴/۲۰±۰/۱۷ b	–	۲۷/۱۴±۰/۰۱ a	۵۸/۵۱±۱/۲۴ b	–
	۳۵	۱۴/۵۰±۰/۱۰ a	۴۵/۳۶±۰/۴۰ b	–	۱۸/۸۵±۰/۰۱ a	۶۶/۸۰±۰/۵۹ b	–	۲۷/۱۵±۰/۰۱ a	۶۴/۱۹±۰/۵۹ b	–

(n=9، Mean±SD، P<0.05) (P<۰/۰۵ حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است)

توجه به جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که میزان یون‌های سدیم، کلر و پتاسیم بافت بدن ماهیان مورد بررسی در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان دادند (P<۰/۰۵) و به ترتیب حداکثر میانگین میزان یون‌ها، سدیم ۴۶/۵۶±۰/۲۵، کلر ۶۷/۹۲±۰/۰۲ و پتاسیم ۶۷/۵۶±۰/۶۲ میلی‌مول بر لیتر، در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردیدند (P<۰/۰۵).

در جدول ۳ میانگین میزان آب بافت بدن ماهیان سیکلید مورد بررسی در اثر انتقال به شوری‌های (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش آورده شده است.

جدول ۳: میانگین میزان آب بافت بدن ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) پس از شروع آزمایش.

شوری آب (گرم بر لیتر)	دمای آب (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان نمونه برداری آب بافت بدن (درصد)		
		آغاز آزمایش	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**
آب شیرین	۲۰	۸۱/۱۷±۰/۰۲ a	۶۹/۰۸±۰/۱۹ b	–
	۲۵	۸۱/۱۳±۰/۰۲ a	۸۱/۱۸±۰/۰۹ a	۸۱/۲۸±۰/۰۱ a
	۳۵	۸۱/۱۶±۰/۰۲ a	۶۹/۷۲±۰/۱۴ b	–
۱۰	۲۰	۸۱/۱۸±۰/۰۱ a	۶۵/۵۷±۰/۲۳ b	–
	۲۵	۸۱/۱۷±۰/۰۲ a	۶۸/۹۷±۰/۱۹ b	–
	۳۵	۸۱/۱۷±۰/۰۱ a	۶۶/۸۰±۰/۱۶ b	–
۲۰	۲۰	۸۱/۱۹±۰/۰۱ a	۵۹/۶۰±۰/۴ b	–
	۲۵	۸۱/۱۸±۰/۰۱ a	۶۱/۵۷±۰/۰۴ b	–
	۳۵	۸۱/۱۸±۰/۰۱ a	۶۰/۷۴±۰/۳۶ b	–

(n=9، Mean±SD، P<0.05) (P<۰/۰۵ حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است)

توجه به جدول شماره ۳ نشان می‌دهد که میزان آب بافت بدن ماهیان مورد بررسی در اثر تنش شوری و دمای آب با روندی معکوس، طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند کاهشی نشان داد (P<۰/۰۵) و حداکثر میانگین میزان آب بافت بدن ۵۹/۶±۰/۴ درصد، در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردید (P<۰/۰۵).

در جدول ۴ میانگین اندازه و تعداد سلول‌های کلراید موجود در پنج پایه آبششی ماهیان سیکلید مورد بررسی در اثر انتقال به شوری‌های (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش آورده شده است.

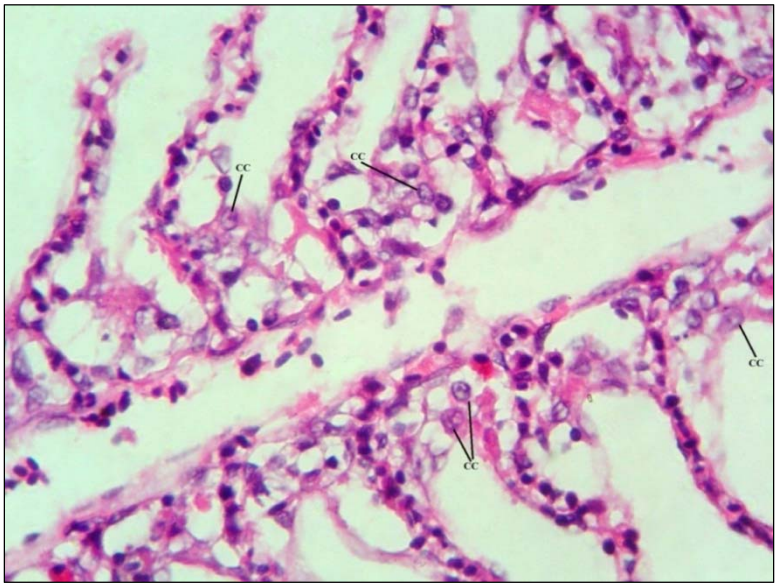
جدول ٤: میانگین اندازه سلول‌های کلراید آبشش ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) پس از شروع آزمایش.

شوری آب (گرم بر لیتر)	دمای آب (درجهٔ سانتیگراد)	زمان نمونه برداری					
		اندازه سلول های کلراید آبشش (میکرون)			**تعداد سلول های کلراید آبشش** (عدد)		
		آغاز آزمایش	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**	**آغاز آزمایش**	**روز سی‌ام**	**روز شصتم**
آب شیرین	۲۰	۵/۷۶±۰/۰۵ a	۵/۹۳±۰/۰۵ b	–	۱۴/۶۶±۰/۵۷ a	۱۶/۶۶±۰/۵۷ b	–
	۲۵	۵/۷۳±۰/۰۵ a	۵/۷۳±۰/۱۱ a	۵/۸۳±۰/۱۱ a	۱۴/۳۳±۰/۵۷ a	۱۴/۶۶±۰/۵۷ a	۱۴/۶۶±۱/۱۵ a
	۳۵	۵/۷۶±۰/۰۵ a	۵/۹۳±۰/۰۵ b	–	۱۴/۶۶±۰/۵۷ a	۱۶/۶۶±۰/۵۷ b	–
۱۰	۲۰	۵/۷۶±۰/۰۵ a	۵/۹۶±۰/۰۵ b	–	۱۴/۳۳±۰/۵۷ a	۲۴/۳۳±۰/۵۷ b	–
	۲۵	۵/۸۰±۰/۰۵ a	۵/۹۳±۰/۰۵ b	–	۱۵/۰۰±۰/۵۷ a	۲۳/۳۳±۰/۵۷ b	–
	۳۵	۵/۷۳±۰/۰۵ a	۵/۹۶±۰/۰۵ b	–	۱۵/۳۳±۰/۵۷ a	۲۳/۶۶±۰/۵۷ b	–
۲۰	۲۰	۵/۷۶±۰/۰۵ a	۶/۰۰±۰/۰۵ b	–	۱۶/۶۶±۰/۵۷ a	۳۰/۶۶±۰/۵۷ b	–
	۲۵	۵/۸۰±۰/۰۵ a	۵/۹۶±۰/۰۵ b	–	۱۶/۳۳±۰/۵۷ a	۲۹/۶۶±۰/۵۷ b	–
	۳۵	۵/۷۶±۰/۰۵ a	۵/۹۶±۰/۰۵ b	–	۱۶/۳۳±۰/۵۷ a	۳۰/۳۳±۰/۵۷ b	–

(n=9، Mean±SD، P<0.05) (P<۰/۰۵ حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار بین تیمارها است)

توجه به جدول ۴ نشان می‌دهد که اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهیان مورد بررسی در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد (P<۰/۰۵) و به ترتیب حداکثر میانگین اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ۶±۰ میکرون و ۳۰/۶۶±۰/۵۷ عدد، در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردید (P<۰/۰۵). به عنوان نمونه اشکال ۱ و ۲ به ترتیب نمایی از تغییرات سلول‌های کلراید آبششی ماهیان سیکلید مورد بررسی در گروه شاهد (آب شیرین و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش را نشان می‌دهند و در تأیید موارد فوق آورده شده‌اند.

شکل ۱: نمایی از سلول‌های کلراید موجود در پایه‌های آبششی ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) در گروه شاهد (آب شیرین و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) **در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش** (H & E, × ۱۰۰۰).



شکل ۲ : نمایی از سلول‌های کلراید موجود در پایه‌های آبششی ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش (H & E, × ۱۰۰۰).

در جدول ۵ میانگین میزان درصد تلفات ماهیان سیکلید مورد بررسی در اثر انتقال به شوری‌های (آب شیرین)، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آغاز آزمایش، روزهای ۳۰ و ۶۰ پس از شروع آزمایش آورده شده است.

جدول ۵ : میانگین درصد تلفات ماهیان سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) پس از شروع آزمایش.

شوری آب (گرم بر لیتر)	دمای آب (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان نمونه برداری میزان تلفات (درصد)		
		آغاز آزمایش	روز سی‌ام	روز شصتم
آب شیرین	۲۰	۰/۰۰ a	۱۱/۳۳±۱/۱۵ b	۱۰۰/۰۰ b
	۲۵	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a
	۳۵	۰/۰۰ a	۷/۳۳±۱/۱۵ b	۱۰۰/۰۰ b
۱۰	۲۰	۰/۰۰ a	۳۲/۶۶±۱/۱۵b	۱۰۰/۰۰ b
	۲۵	۰/۰۰ a	۱۹/۳۳±۱/۱۵b	۱۰۰/۰۰ b
	۳۵	۰/۰۰ a	۲۷/۳۳±۱/۱۵b	۱۰۰/۰۰ b
۲۰	۲۰	۰/۰۰ a	۷۱/۰۰±۱/۷۳b	۱۰۰/۰۰ b
	۲۵	۰/۰۰ a	۵۱/۳۳±۱/۱۵b	۱۰۰/۰۰ b
	۳۵	۰/۰۰ a	۶۷/۰۰±۱/۷۳b	۱۰۰/۰۰ b

(n=9، Mean±SD، P<0.05) (P<۰/۰۵ حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار بین تیمارها است)

توجه به جدول شماره ۵ نشان می‌دهد که میزان درصد تلفات ماهیان مورد بررسی در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد (P<۰/۰۵) و حداکثر میانگین میزان تلفات ۷۱/۰۰±۱/۷۳ درصد، در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در روز سی‌ام پس از شروع آزمایش حاصل گردید (P<۰/۰۵) و پس از آن این روند ادامه یافت و تا روز شصتم پس از شروع آزمایش تلفات ماهیان مورد بررسی به ۱۰۰ درصد رسید.

بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که هورمون کورتیزول، متابولیت گلوکز، یون‌های سدیم، کلر و پتاسیم بافت بدن ماهیان در اثر تنش شوری و دمایی طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد و حداکثر میانگین شاخص‌های مذکور در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در ۳۰ روز پس از شروع آزمایش حاصل گردید. پس از مواجه شدن ماهیان با تنش شوری به دلیل تأثیر استرس بر ساختار و عملکرد فیزیولوژیک بدن ماهیان و بالابودن نفوذ پذیری غشاهای زیستی بدن به ویژه آبشش‌ها، یون‌ها از محیط خارج به داخل بدن ماهیان وارد می شوند و این امر سبب افزایش میزان یون‌ها و اسمولاریته بدن می شود (Wendelaar Bonga, 1993). تنش دمایی به عنوان عامل تقویت کنندهٔ اثرات تنش شوری بر عملکرد فیزولوژیک بدن ماهیان تحت استرس، عمل می‌نماید (Barton, 2002). در راستای مقابله با این شرایط استرس‌زا و ایجاد سازگاری، ترشح هورمون‌های کاتکولامینی و به دنبال آن کورتیزول باعث رخداد مجموعه‌ای از تغییرات جبرانی فیزیولوژیک می‌گردد که نتیجهٔ آن افزایش میزان گلوکز بدن تحت اثر کاتابولیک هورمون کورتیزول در راستای تأمین انرژی مورد نیاز جهت مقابله با استرس است (Elliot, 1981). چنین پاسخ‌های فیزیولوژیکی در ماهی طلائی (*Carassius auratus*) (Imanpoor *et al*., 2011)، هیبرید گربه ماهی (*Clarias gariepinus*×*C.macrocephalus*) (Koeypudsa & Jongjareanjai, 2011) و تاسماهی شیپ

(*Acipenser nudiventris*) (Farabi *et al*., 2009) گزارش شده است. افزایش میزان کورتیزول، گلوکز، یون‌ها و فعالیت آنزیم Na^{+}-K^{+}-ATPase در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) در اثر انتقال به شوری‌های ۵ تا ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد (Lian-Tien *et al*., 1994) می‌تواند تأییدی بر یافته‌های پژوهش حاضر باشد. نتایج پژوهش نشان داد که میزان آب بافت بدن ماهیان سیکلید در اثر تنش شوری و دمای آب با روندی معکوس، طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند کاهشی نشان داد و حداکثر میانگین میزان آب بافت بدن در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در ۳۰ روز پس از شروع آزمایش حاصل گردید. با توجه با اینکه رشد و پرورش این ماهی در دامنه دمایی ۲۲ تا ۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد صورت می پذیرد (گودوین، ۱۳۸۸) به نظر می‌رسد تغییرات شاخص های فیزولوژیک فوق الذکر که منجر به بروز تلفات ماهیان در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد گردیده است و با توجه به نزدیکی این دما به دامنه دمایی مناسب زیست این ماهی، می‌تواند در اثر تنش شوری در مقایسه با اثر تنش دما بر فیزیولوژی این ماهی باشد. در این راستا پس از مواجه شدن ماهیان با تنش شوری به دلیل تأثیر استرس بر ساختار و عملکرد فیزیولوژیک بدن آنها و عدم آمادگی فیزیولوژیک اندام‌های دفع کننده و بالابودن نفوذ پذیری غشاهای زیستی بدن به ویژه آبشش‌ها، آب از بدن ماهیان خارج می‌گردد که تداوم آن باعث دهیدراسیون بافت‌های بدن می‌گردد (Handeland *et al*., 1998). کاهش معنی‌دار میزان آب بافت بدن پس از انتقال ماهی تیلاپیای هیبرید (*Oreochromis mossambicus*×*O. urolepis*) (*hornorum*) (Sardella *et al*., 2004) از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۵ گرم بر لیتر به دمای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۴۳، ۵۱ و ۶۰ گرم بر لیتر طی ۲۸ روز، همچنین کاهش میزان آب بافت بدن در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) از ۷۵/۵ درصد در آب شیرین به ۷۳/۵ و ۷۴ درصد به ترتیب پس از انتقال ماهیان مذکور به آب با شوری ۳۴ گرم بر لیتر، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شوری ۲۴ گرم بر لیتر، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (Handeland *et al*., 1998) می‌تواند تأییدی بر نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر در خصوص کاهش میزان آب بافت بدن ماهیان سیکلید در رویارویی با تنش شوری و دما باشد.

نتایج پژوهش نشان داد که اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهیان سیکلید در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد و به ترتیب حداکثر میانگین اندازه و تعداد آنها در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در ۳۰ روز پس از شروع آزمایش حاصل گردید. به دنبال تنش ناشی از انتقال ماهیان از آب شیرین به شوری‌های بالاتر، قابلیت عملکردی سلول‌های کلراید به عنوان مکان‌های دفع املاح، متناسب با شدت افزایش شوری محیط تغییر می‌کند و تنش ناشی از تغییرات دما سبب تشدید اثرات تنش شوری می‌شود که در نتیجهٔ آن سبب افزایش اندازه یا تعداد سلول‌های مذکور و به دنبال آن افزایش دفع یون‌ها از بدن ماهیان می‌گردد (McCormick, 1993). افزایش اندازه و تعداد سلول‌های کلراید به عنوان یکی از مهم ترین شاخص‌های فیزیولوژیک مؤثر در برابر تنش شوری یا دمای آب در مطالعات انجام شده روی ماهیان استخوانی مانند ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frissi kutum*) (عطائی‌مهر و همکاران، ۱۳۸۹) و ماهیان غضروفی استخوانی مانند تاسماهی (*Acipenser naccarii*) (Carmona *et al*., 2004) گزارش شده است. افزایش اندازه سلول‌های کلراید به میزان ۲ تا ۲/۵ برابر و به همراه افزایش تعداد سلول‌های مذکور به میزان ۱/۵ تا ۲ برابر در شگ ماهی آمریکایی (*Alosa sapidissima*) در اثر انتقال از آب شیرین به آب شور همراه با کاهش دما (Zydlewski and McCormick, 2001)، می‌تواند نتایج تحقیق حاضر را مبنی بر افزایش اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهیان سیکلید، با افزایش تنش شوری و دما را تأیید نماید. نتایج پژوهش نشان داد که درصد تلفات ماهیان سیکلید در اثر تنش شوری و دمای آب طی ۳۰ روز پس از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری روند افزایشی نشان داد و حداکثر میانگین میزان تلفات در شوری ۲۰ گرم بر لیتر و دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در ۳۰ روز پس از شروع آزمایش حاصل گردید و پس از آن این روند ادامه یافت و تا روز شصتم پس از شروع آزمایش کلیه ماهیان مورد بررسی از بین رفتند. گزارش نتایج مشابهی در ماهی گوپی (*Limia melanonotata*) هنگام انتقال به شوری‌های صفر (آب شیرین)، ۳۰ و ۶۰ گرم بر لیتر و دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد (Haney

and Walsh, 2003) می‌تواند تأییدی بر یافته‌های پژوهش حاضر در زمینهٔ افزایش میزان درصد تلفات ماهیان سیکلید تحت اثر تنش شوری و دما باشد.

با جمع‌بندی نتایج تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک مورد بررسی و درصد تلفات مشاهده شده در ماهیان سیکلید مورد بررسی، به نظر می‌رسد تغییرات صورت گرفته در سطوح مختلف هورمونی، یونی، متابولیتی و بافتی در جهت مقابله با تنش شوری و دمایی وارد شده، فاقد کارایی فیزیولوژیک کافی بوده و بروز تلفات شدید در ماهیان مورد بررسی تا انتهای آزمایش می‌تواند مؤیدی بر این امر باشد. نظر به تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک مورد بررسی و درصد تلفات مشاهده شده در طول آزمایش به نظر می‌رسد که دامنه شوری ۱۰ تا ۲۰ گرم بر لیتر و دامنه دمایی ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به پایین جهت نگهداری و پرورش ماهی سیکلید گورخری مناسب نمی‌باشد. به هر حال اظهار نظر قطعی پیرامون نتایج پژوهش حاضر، مستلزم انجام تحقیقات تکمیلی در خصوص نحوهٔ تغییرات سایر شاخص‌های فیزیولوژیک مؤثر بر پاسخ به تنش شوری و دما مانند شاخص‌های سلولی مولکولی و آنزیمی در این ماهی می‌باشد.

سپاسگزاری

از تمام افرادی که در مراحل انجام پژوهش حاضر همکاری و مساعدت نمودند، به ویژه مسئولین محترم شرکت فامی آبزی گستر خانم مهندس فرزانه یاری و آقای مهندس علیرضا معصوم زاده، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

پوستی، ا. و ادیب مرادی، م.، ۱۳۸۵. روش‌های آزمایشگاهی بافت‌شناسی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول، ۶۰ص.

عطائی مهر، ب.، مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع.، نظامی، ش. و ریاضی، غ.، ۱۳۸۹. اثر شوری‌های مختلف بر میزان املاح، فشار اسمزی، آب بافت بدن، سلول‌های کلراید آبششی و درصد تلفات بچه‌ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله علمی شیلات ایران، سال نوزدهم، شماره ۲،ت ۱۳۸۹، ۱۱۵–۱۳۰.

گودوین، د.، ۲۰۰۳. ماهی های آکواریومی. ترجمه: پ، بیهقی.، ح، عمادی.، (چاپ دوم). تهران، انتشارات علمی آبزیان، ۱۳۸۷، صفحه ۱۸۰.

Barton, B. A., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Journal of Integrative and Comparative Biology, 42(3): 517-525.

Beitinger, T. L., 1974. Thermoregulatory behavior and diel activity patterns of Blugill (*Lepomis macrochirus*) folloeing thermal shock. Fishery Bulletin, 72(3): 1087-1093.

Carmona, R., Garci´a-Gallego, M., Sanz, A., Domezai´n, A. and Ostos-Garrido, M. V., 2004. Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenser naccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. Journal of Fish Biology, 64: 553–566.

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

Elliot, J. M., 1981. Some aspects of thermal stress on freshwater teleosts. In: Pickering. A.D.(Ed), Stress and fish. Academic press. London, pp. 209-245.

Evans, D. H., 1998. The physiology of fishes. CRC Press, 519P.

Farabi, S. M. V., Najafpour, S. H. and Najafpour, G. D., 2009. Aspect of osmotic-ions regulation in juvenile Ship, *Acipenser nudiventris* in the southeast of Caspian Sea. Journal of World Applied Sciences, 7(9): 1090-1096.

Gholampoor, T. E., Imanpoor, M. R., Shabanpoor, B. and Hosseini, S. A., 2011. The Study of Growth Performance, Body Composition and Some Blood Parameters of (*Rutilus frisii kutum*) Fingerlings at Different Salinities. Journal of Agriculture Science, 13: 869-876.

Goel, K. A. and Garg, V., 1980. 2,3′,4-Triaminoazobenzene-induced hematobiochemical anomalies in fish (*Channa punctatus*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 25(1): 136-141.

Handeland, S. O., Berge, A., Bjornsson, B. TH. and Stefansson, S. O., 1998. Effects of temperature and salinity on osmoregulation and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts in sea waters. Journal of Aquaculture, 168: 289-302.

Handy, R. D. and Depledge, M. H., 1999. Physiological Responses: Their Measurement and Use as Environmental Biomarkers in Ecotoxicology. Journal of Ecotoxicology, 8(5): 329-349.

Haney, D. C. and Walsh, S. J., 2003. Influence of salinity and temperature on the physiology of Limia melanonotata (*Cyprinodontiformes: Poecilidae*): A search for abiotic factors limiting insular distribution in Hispaniola. Journal of Caribbean Science, 39(3): 327-337.

Harper, C. and Wolf, J.C., 2009. Morphologic effects of the stress response in fish. Journal of Institude for Laboratory Animal Research, 50(4): 387-396.

Imanpoor, M. R., Najafi, E. and Kabir, M., 2011. Effects of different salinity and temperatures on the growth, survival, haematocrit and blood biochemistry of Goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Aquaculture Research. 43(3): 332-338.

Karsi, A. and Yavuzcan Yildiz, H., 2005. Secondary stress response of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, after direct transfer to different salinities. Tarim Bilimeri Dergisi, 11(2): 139-141.

Koeypudsa, W. and Jongjareanjai, M., 2011. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus* Burchell x *C. macrocephalus*). Journal of Songklanakarin Science and Technology, 33(4): 369-378.

Lian-Tien, S., Guan-Ru, C. and Ching-Fong, C., 1994. Characteristics of blood parameters and gill Na+-K+-ATPase in chilled comatose tilapia cultured in various salinities. Journal of Comparative Biochemistry & Physiology, Part A: Physiology, 107(4): 641-646.

McCormick, S. D. 1993. Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na^+,K^+-ATPase activity. Journal of Canadian Fish Aquatic Science, 50: 656-658.

Mustakas, C. TH., Watanabe, W. O. and Copeland, K. A., 2004. Combined effects of photoperiod & salinity on growth, survival & osmoregulatory ability of larval Southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). Journal of Aquaculture, 229: 159-179.

Oldfield R. G., 2004. Saltwater cichlids. Knowledge of salinity tolerance and preference may allow new species combinations and improved husbandry in aquaria. Journal of Freshwater and Marine Aquarium, 27(8): 98-104.

Prodocimo, V., Galvez, F., Freire, C. A. and Wood, C. M., 2007. Unidirectional Na^+ and Ca^{2+} fluxes in two euryhaline teleost fishes, Fundulus heteroclitus and *Oncorhynchus mykiss*, acutely submitted to a progressive salinity increase. Journal of Comparative Physiology, 177: 519-528.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. L. and Schreck, C. B., 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. Journal of Aquaculture, 258(1-4): 565-574.

Sardella, B. A., Matey, V., Cooper, J., Gonzalez, R. J. and Brauner, C. J., 2004. Physiological, biochemical and morphological indicators of osmoregulatory stress in California Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*×*O. hornorum*) exposed to hypersalin water. Journal of Experimental Biology, 207: 1399-1413.

Sardella, B. A., Sanmarti, E. and Kultz, D., 2008. The Acute Temperature Tolerance of Green Sturgeon (*Acipenser medirostris*) and the Effect of Environmental Salinity. Journal of Experimental Zoology, 309A: 477-483.

Schofield, P. J., Loftus, W. F., Kobza, R. M., Cook, M. I. and Slone, D. H., 2010. Tolerance of nonindigenous cichlid fishes (*Cichlasoma urophthalmus*,*Hemichromis letourneuxi*) to low temperature:laboratory and field experiments in south Florida. Journal of Biology Invasions, 12: 2441-2457.

Solati, N. H. and Falahatkar, B., 2007. Stress response in sub-yearling great Sturgeon to the air exposure. Journal of Caspian Environmental Science, 5(2): 99-103.

Syriou, V., Mandrou, K., Ladas, N. and Castritsi-Catharios, J., 2011. Measurement of prolactin (PRL), growth hormone (GH), insulin-like growth factor-I (IGF-I), cortisol and insulin in gilthead seabream Sparus auratus. Journal of International Aquatic Research, 3: 79-82.

Wedemeyer, G. A., 1996. Physiology of Fish in Intensive Culture. Chapman and Hall. NY ISBN 0-412-07801.

Wedemeyer, G. A., Barton, B. B. and McLeay, D. J., 1990. Stress and acclimation. Pages 451-489, in C.B. Schreck and P.B. Moyle, (eds.), Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, MD.

Wendelaar Bonga, S. E., 1993. Endocrinology. In: Evans D.H. (Ed.), The physiology of sishes. CRC Press, FL, pp: 469-503.

Wisenden, B. D., 1995. Reproductive behaviour of free-ranging convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. Environmental Biology of Fishes, 43: 121-134.

Zar, J. H., 1984. Biostatistical analysis. Prentice Hall International Inc, 718P.

Zeinhom, M. M., Ebrahim, M. S. and Ebrarim, E. M., 2010. Effect of Feeding Rates and Frequencies on Growth Performance,Feed Efficiency and Body Composition of African Catfish, Clarias Gariepinus (Burchell, 1822). Journal of Arabian Aquaculture Society, 5(2): 207-222.