



# مقایسه رشد، ایمنی غیراختصاصی و استرس ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در استخرهای بتونی (هشت ضلعی، گرد و مستطیلی) دومنظوره ذخیره آب کشاورزی در منطقه سیستان

محمودرضا سرگلزائی<sup>۱</sup>، علی ارشادی<sup>۲\*</sup>، عبدالعلی راهداری<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران

۳. استادیار گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۹

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰

## چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی مقایسه‌ای فراسنجه‌های رشد، ایمنی غیراختصاصی و استرس ماهی قزل‌آلا (میانگین وزن  $30/28 \pm 2/05$  گرم) در انواع استخرهای مستطیل شکل (تیمار ۱)، گرد (تیمار ۲) و هشت ضلعی (تیمار ۳) دومنظوره ذخیره آب کشاورزی، با تراکم ۲۰ قطعه در مترمکعب (۳ تکرار) و دبی آب ۲/۵ لیتر در ثانیه، به مدت ۵ ماه انجام شد. براساس نتایج افزایش میزان اکسیژن محلول، کاهش میزان لجن بستر و آمونیاک تیمار ۳ نسبت به دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ( $P \leq 0/05$ ). بیشترین و کمترین مقدار وزن نهایی به ترتیب در ماهیان تیمار ۳ ( $434/21 \pm 22/16$  گرم) و تیمار ۱ ( $349/41 \pm 18/91$  گرم) مشاهده شد ( $P \leq 0/05$ ). نتایج فراسنجه‌های خونی نشان داد که مقادیر گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریست و شاخص‌های گلبول قرمز (MCH، MCV، MCHC) بین تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود ( $P \geq 0/05$ ). بیشترین و کمترین میزان شاخص‌های استرس (گلوکز و کورتیزول) و ایمنی غیراختصاصی (تعداد و درصد افتراقی گلبول‌های سفید، فعالیت کمپلمان پلازما، ایمونوگلوبولین، پروتئین کل و لیزوزیم سرم خون) به ترتیب متعلق به تیمار ۱ و ۳ بود ( $P \leq 0/05$ ). نتایج نشان داد که وضعیت بهتر خودپالایی در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارها، تأثیر مثبت و معنی‌دار برخی فراسنجه‌های رشد، ایمنی غیراختصاصی و استرس ماهی قزل‌آلا دارد، بنابراین می‌توان در راستای اقتصاد مقاومتی و تولید اقتصادی‌تر، استخر هشت ضلعی را برای ذخیره آب و پرورش ماهی قزل‌آلا در بین کشاورزان منطقه سیستان ترویج نمود.

واژگان کلیدی: عملکرد تولید، تراکم ذخیره‌سازی، استخر دومنظوره، قزل‌آلای رنگین‌کمان، سیستان



## Comparison of growth, nonspecific immunity systems and stress of *Oncorhynchus mykiss* in concrete agricultural water storage ponds (octagonal, round and rectangular) in the Sistan region

Mahmoodreza Sargolzaie<sup>1</sup>, Ali Arshadi<sup>2\*</sup>, Abdoll Ali Rahdarie<sup>3</sup>

1. M.Sc. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran

2. Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran

3. Assistant Professor, Department of Fisheries, Hamoon International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan Iran

Received: 8-Jan-2022

Accepted: 18-Feb-2023

### Abstract

The present study was conducted to compare the growth, nonspecific immunity systems and stress of *Oncorhynchus mykiss* in three concrete agricultural water storage ponds, consisted rectangular (Treatment 1), round (Treatment 2), and octagonal (Treatment 3) shapes in a trout farm. Density of 20 fish/m<sup>3</sup> (3 repetitions) and water flow D.B of 2.5 lit/sec, were run for each experimental unite and fish cultured for 5 months. According to the results, higher dissolved oxygen and reduction in sludge and NH<sub>3</sub> production recorded in water in treatment 3 compared to other treatments ( $p \leq 0.05$ ). The highest and lowest final individual weight measured in treatment 3 (434.21±22.16 g) and treatment 1 (349.41±18.91 g), respectively ( $p \leq 0.05$ ). The values of RBC, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH and MCHC were not significantly different among treatments ( $p \geq 0.05$ ). The highest and lowest levels of stress indicators (glucose and cortisol) and nonspecific immune systems of fish (number and differential percentage of WBC, plasma complement activity, immunoglobulin, total protein and serum lysozyme) belonged to treatments 1 and 3, respectively ( $p \leq 0.05$ ). The results showed that, treatment 3 has better self-purification status than the other treatments, and has a positive and significant effect on growth, nonspecific immune systems and stress in rainbow trout. Therefore, using rectangular shape of pond for culture of trout can be promoted among the farmers of Sistan region in the direction of resistance economy and more economical production.

**Keywords:** Production efficiency, Stocking density, Reservoir pond, *Oncorhynchus mykiss*, Sistan

## ۱. مقدمه

را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در طول دوره پرورش باید مدیریت شوند (Orbcastel *et al.*, 2009). در منطقه سیستم استخرهای مستطیلی شکل بتنی پرورش ماهی با تراکم پایین ۷ قطعه در هر مترمکعب، در حد معیشت مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Arshadi, 2016)، تغییر الگوی شکل هندسی ساخت استخرها به گرد و هشت‌ضلعی سبب بهبود شاخص بازدهی هیدرولیکی، حذف نقاط کور، تسریع در حذف فضولات و چرخش آب و در نهایت تهویه بهتر می‌شود (Balooti *et al.*, 2016; Naserian *et al.*, 2018). برتری استخر هشت ضلعی نسبت به استخر مستطیلی، همگنی جریان آب در تمام نقاط آن است. ناهمگنی سرعت جریان آب در استخر منجر به رسوب مواد جامد اعم از فضولات و پسماندهای غذای خورده‌نشده می‌گردد که تجزیه هوازی و بی‌هوازی آن‌ها باعث کاهش کیفیت آب در این گونه استخرها می‌گردد. همچنین افزایش تراکم ماهی در استخرهای مدور و هشت‌ضلعی می‌تواند زمان اختلاط کامل یا همگنی آب در استخر را کاهش داده و منجر به بهبود خصوصیات هیدرودینامیکی و خودپالایی استخر گردد (Lunger *et al.*, 2006).

استرس مزمن بر رشد و متابولیسم از طریق عمل هورمون کورتیزول اثر می‌گذارد. به همین دلیل، افزایش مقادیر نشانگرهای استرسی همچون کورتیزول و گلوکز در بسیاری از گونه‌های پرورشی در مواجهه با استرس محیطی اثبات شده است (Tort, 2011). متغیرهایی که در کیفیت آب استخرهای پرورشی تأثیر دارد شامل گونه پرورشی، رژیم غذایی، دما، سیستم پرورشی، کنترل بهداشت و عوامل بیماری‌زا می‌باشد، مطالعات و تحقیقات گسترده‌ای در رابطه با شکل استخر، تراکم و شرایط فیزیکی و شیمیایی آب استخرهای پرورش ماهی و تأثیر آن در شاخص‌های رشد، تغذیه، ایمنی غیراختصاصی و استرس ماهیان صورت گرفته است (Lunger *et al.*, 2006; Arshadi and Zare, 2011; Ghalyan *et al.*, 2017; Zahedi *et al.*, 2019; Welker *et al.*, 2019). با توجه به کاهش منابع آبی و توجه ویژه به استفاده بهینه از حداقل

براساس گزارش FAO (۲۰۲۰) ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ۲ در صد از کل تولیدات ماهی در بخش آبی پروری دنیا را به خود اختصاص داده است. در سال ۱۳۹۹ ایران با تولید بیش از ۱۹۰ هزار تن رتبه نخست تولید در دنیا و بیش از ۲۲ درصد از کل تولید ماهی قزل آلی پرورشی جهان را دارا شد، از این میزان، سهم منطقه سیستم حدود ۵۶ تن بود (Iran Fisheries Organization, 2020). این رشد تولید با توجه به محدودیت‌های منابع آبی و نیاز مردم به پروتئین سالم و ایجاد اشتغال پایدار، باعث شد که بهره‌برداری از استخرهای چندمنظوره ذخیره آب کشاورزی به عنوان یکی از فعالیت‌های زودبازده تولیدی در بخش کشاورزی به منظور تأمین نیاز غذایی، اشتغال و درآمد مورد توجه قرار گیرد، بنابراین، با توجه به خشکسالی در منطقه سیستم، احداث استخرهای دومنظوره ذخیره آب کشاورزی و پرورش ماهی جهت استفاده بهینه از منابع آبی خرد در توسعه پایدار روستایی، ضروری است (Arshadi, 2016). در استان سیستان و بلوچستان، آبی‌پروری در استخر دومنظوره ذخیره آب کشاورزی در راستای اقتصاد مقاومتی به منظور بهبود وضعیت پایداری معیشت کشاورزان آبی‌پرور فعال توصیه شده است (Shahrekie and Sharifzadeh, 2015). میزان تولید موجودات آبی وابسته به شرایط محیطی اطراف آن‌ها است و یکی از مهمترین شرایط محیطی که رشد تمامی موجودات آبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد کیفیت آب است. کاهش کیفیت آب باعث افزایش استرس، رشد ضعیف، شیوع بیشتر بیماری‌ها و افزایش تلفات و کاهش تولید در آبی‌پروری می‌شود. بنابراین، موفقیت در آبی‌پروری تنها با انتخاب گونه و تغذیه مناسب به دست نمی‌آید و این مهم تا حد بسیار زیادی به شرایط پرورشی ماهی مانند تراکم پرورش، شکل هندسی استخر، دما و میزان آب قابل استفاده برای ماهی نیز بستگی دارد که تمامی این موارد به طور مستقیم و غیرمستقیم کیفیت آب

تقریبی کلیه تیمارها در این مطالعه به ترتیب ۱۰۰ متر مربع، ۲ متر و ۲۰۰ مترمکعب بود (شکل ۱). بچه ماهی مورد نیاز از مرکز تکثیر ماهی شهر خاش تأمین شد. منبع آب هر سه تیمار آزمایشی در این تحقیق آب چاه‌های کشاورزی با عمق ۱۰ تا ۱۵ متر و دبی ۲/۵ لیتر در ثانیه با دمای ۱۴/۲ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۵ و هدایت الکتریکی ۸۷۰ میکروموس بر سانتی‌متر بود که پس از پمپاژ آب به برج هوادهی با ارتفاع ۲/۵ متر، به استخرها منتقل شد. با توجه به دبی آب ورودی به هر استخر با حجم تقریبی ۲۰۰ هزار لیتر، طی کمتر از ۲۴ ساعت تعویض کامل آب استخرها صورت گرفت. در طراحی استخرهای هر سه تیمار، شیب بستر به سمت خروجی ۳ درصد بود. خروجی استخرهای گرد و هشت ضلعی مرکزی و خروجی استخر مستطیلی در انتهای مقابل ورودی در کف قرار داشت. جریان آب در استخرهای مدور و هشت ضلعی گرد شی در جهت عقربه‌های ساعت بود. جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز ماهیان مورد آزمایش در هر استخر از یک هواده قارچی (مدل Splash2001 یک اسب بخار) استفاده شد (شکل ۱).

## ۲.۲. سنجش شاخص‌های کیفی آب

در طول دوره پرورش برخی شاخص‌های کیفی آب استخرها از جمله pH، اکسیژن محلول، دمای آب و میزان تلفات، روزانه ثبت گردید. آمونیاک کل<sup>۱</sup> (TAN) نیز با استفاده از دستگاه رنگ سنج (مدل HI83200 HANA) یک روز در میان اندازه‌گیری شد. در انتهای آزمایش پس از تخلیه آب استخرها، میزان لجن بستر با استفاده از خط‌کش فلزی برآورد شد.

## ۳.۲. نمونه‌برداری و زیست‌سنجی ماهیان

در طول دوره آزمایش با نمونه‌برداری از یک درصد ماهیان هر مخزن پرورشی، هر ۱۵ روز یک‌بار زیست‌سنجی با سنجش وزن کل (ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم) و طول کل (تخته زیست‌سنجی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) به صورت انفرادی انجام شد.

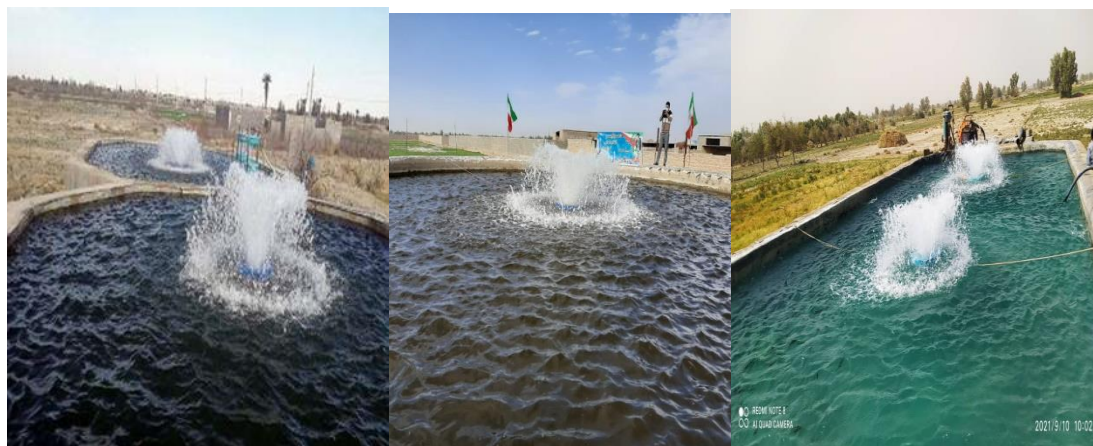
آب بخش کشاورزی در آبی‌پروری، ضرورت بهره‌برداری علمی و مناسب از این منابع در تولید آبیان بیش از پیش احساس می‌شود. از آنجا که ماهی قزل‌آلای یکی از ماهیان با ارزش غذایی بالا که در بیشتر نقاط مستعد کشور پرورش داده می‌شود و توجه به مناسب بودن شرایط اقلیمی در منطقه سیستان حداقل برای ۵ ماه از سال جهت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، با طراحی و تغییر مخزن پرورش ماهی و ذخیره آب از شکل مستطیل به هشت‌ضلعی و گرد، امکان خودپالایی بهتر مواد جامد و متابولیت‌های تولید نسبت به استخر مستطیل شکل ایجاد شد، در این منطقه، تنها از استخر ذخیره آب کشاورزی مستطیل شکل جهت پرورش ماهی قزل‌آلای با تراکم پایین (۷ قطعه در مترمکعب) استفاده می‌شود و مطالعه‌ای در خصوص مقایسه این سه نوع سیستم پرورش ماهی قزل‌آلای با تراکم بالا (۲۰ قطعه در مترمکعب) صورت نگرفته است بنابراین در این پژوهش، عملکرد این استخرها در تولید ماهی به صورت عملی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقایسه‌ای فرا سنج‌های ر شد، ایمنی غیراختصاصی و استرس ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در انواع استخرهای بتنی مستطیل شکل، گرد و هشت‌ضلعی دو منظوره ذخیره آب کشاورزی با تراکم بالا در منطقه سیستان نیز انجام شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱.۲. تهیه ماهی و شرایط انجام آزمایش

این تحقیق از نیمه دوم مهرماه در منطقه سیستان با ذخیره‌سازی ۲۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین وزن و طول به ترتیب  $30/28 \pm 2/05$  گرم و  $13/05 \pm 1/23$  سانتی‌متر) در مترمکعب در استخرهای دو منظوره ذخیره آب کشاورزی بتنی با اشکال مستطیل (تیمار ۱)، گرد (تیمار ۲) و هشت‌ضلعی (تیمار ۳) با ۳ تکرار به مدت ۵ ماه انجام شد. مساحت، عمق و حجم

<sup>۱</sup> Total ammonia nitrogen



تیمار ۳

تیمار ۲

تیمار ۱

شکل ۱- انواع استخرهای بتونی ذخیره آب کشاورزی مستطیلی (تیمار ۱)، مدور (تیمار ۲) و هشت ضلعی (تیمار ۳) در منطقه سیستان (نگارنده)

نرخ رشد ویژه (درصد در روز) = (لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم) - لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم)) ÷ تعداد روزهای پرورش) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = غذای مصرف شده (گرم) ÷ افزایش وزن (گرم)

درصد بازماندگی = (تعداد ماهیان در ابتدای دوره ÷ تعداد ماهیان در انتهای دوره) × ۱۰۰

میزان برداشت (کیلو گرم) = (تعداد ماهیان در انتهای دوره × میانگین افزایش وزن ماهیان) ÷ ۱۰۰۰

#### ۴.۲. شاخص‌های بیوشیمیایی خون

جهت تعیین شاخص‌های خونی و ایمنی در انتهای دوره آزمایش در هر تکرار به‌طور تصادفی خون‌گیری از ۳ عدد ماهی، پس از بیهوشی با ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره پودر گل میخک، با سرنگ ۲ میلی‌لیتر از سیاهرگ دمی انجام شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از خون در لوله‌های معمولی (غیر هپارینه) و ۰/۵ میلی‌لیتر دیگر جهت خون‌شناسی

طبی دوره آزمایش، ماهیان با توجه به زی‌توده و طبق جدول دستورالعمل کارخانه (متناسب با وزن ماهی و دمای آب) دو بار در روز با خوراک اکستروود قزل آلی رنگین کمان (شرکت فرادانه شهرکرد، ایران)، به‌صورت دستی تغذیه شدند. در انتهای آزمایش شاخص‌های رشد و تغذیه از جمله افزایش وزن بدن<sup>۱</sup> (BWI)، نرخ رشد روزانه<sup>۲</sup> (DGR)، شاخص وضعیت<sup>۳</sup> (CF)، نرخ رشد ویژه<sup>۴</sup> (SGR)، ضریب تبدیل غذایی<sup>۵</sup> (FCR)، درصد بازماندگی<sup>۶</sup> (SP) و مقدار محصول براساس روابط زیر محاسبه شد (Andrade et al., 2015).

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

میزان رشد روزانه (گرم در روز) = (وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم)) ÷ تعداد روزهای آزمایش

شاخص وضعیت = (وزن نهایی (گرم) ÷ (طول نهایی<sup>۳</sup> (سانتیمتر)) × ۱۰۰

<sup>1</sup> Body Weight Increase

<sup>2</sup> Daily Growth Rate

<sup>3</sup> Condition Factor

<sup>4</sup> Specific Growth Rate

<sup>5</sup> Food Conversion Ratio

<sup>6</sup> Survival Percent

گلوبول‌های قرمز خرگوش (RaRBC) به کمک روش North و Waley (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. پروتئین کل و گلوکز با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمیایی (Eppendorf, Epos 5060) با استفاده از کیت‌های تجاری تهیه شده توسط شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) و مطابق با دستور شرکت سازنده، اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان هورمون کورتیزول سرم از کیت الایزای تجاری کورتیزول (Diagnostics Biochem Canada Inc, Ontario, Canada) استفاده شد.

### ۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 18, IBM, USA) و روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون Levene آزمایش شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری Duncan در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۹ انجام شد.

### ۳. نتایج

#### ۱.۳. شاخص‌های کیفی آب

بر اساس نتایج بین اکسیژن محلول، میزان لجن بستر و آمونیاک کل در تیمار ۲ و تیمار ۳ در مقایسه با تیمار ۱ تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌ترتیبی که بیشترین و کمترین میزان لجن بستر و آمونیاک کل به‌ترتیب در تیمار ۱ و تیمار ۳ بود ( $P < 0.05$ ). سایر شاخص‌های کیفی آب از جمله دما و pH در هر سه تیمار تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ ).

#### ۲.۳. شاخص‌های زیست‌سنجی

بر اساس نتایج جدول ۲، پس از ۱۵۰ روز دوره پرورش، بیشترین میزان شاخص‌های رشد مربوط به تیمار ۳ و همچنین کمترین آن‌ها مربوط به تیمار ۱ بود ( $P < 0.05$ ).

گلوبول سفید، گلوبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) به لوله‌های هپارینه منتقل شد. نمونه‌های خون در مجاورت یخ خشک بلافاصله به آزمایشگاه آبی‌پروری دانشگاه زابل منتقل شدند. جهت تعیین شاخص‌های سرم‌شناسی، سرم نمونه‌های خون نگهداری شده در میکروتیوپ فاقد ماده ضد انعقاد با استفاده از سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) توسط سمپلر از لخته جدا شد و در میکروتیوپ‌های جداگانه قرار گرفت. نمونه‌های سرم جدا سازی شده تا زمان اندازه‌گیری فراسنج‌های سرمی در فریزر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شاخص‌های خونی شامل تعداد گلوبول‌های قرمز، تعداد گلوبول‌های سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، شمارش افتراقی گلوبول‌های سفید شامل لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت طبق روش‌های استاندارد از نمونه خون حاوی ماده ضد انعقاد خون اندازه‌گیری شدند (Blaxhall and Daisley, 1973). میانگین حجم یک گلوبول قرمز (MCV) برحسب فمتولیترا، میانگین هموگلوبین یک گلوبول قرمز (MCH) برحسب پیکوگرم و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلوبول قرمز (MCHC) برحسب درصد براساس روابط زیر محاسبه شد (Klinger et al., 1991):

$$10 \times [\text{تعداد گلوبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)} / \text{هماتوکریت (درصد)}] = \text{MCV (fl)}$$

$$10 \times [\text{تعداد گلوبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)}] = \text{MCH (pg/cell)}$$

$$100 \times [\text{هماتوکریت (درصد)} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)}] = \text{MCHC (\%)}$$

شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی از جمله میزان فعالیت لیزوزیم سرم در انتهای آزمایش با استفاده از روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با روش توصیه شده (Ellis, 1990) اندازه‌گیری شد. برای سنجش ایمنوگلوبولین کل سرم خون نیز از روش رنگ سنجی Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) استفاده شد. فعالیت سیستم کمپلمان سرم (ACH50) براساس همولیز

ضریب تبدیل غذایی دو تیمار ۲ و ۳ با تیمار ۱ معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). بیشترین میانگین میزان تولید (کیلوگرم) و میزان تراکم (کیلوگرم در مترمکعب) مربوط به تیمار ۳ و همچنین کمترین آن مربوط به تیمار ۱ بود ( $P < 0/05$ ).

ولی بین تیمارهای ۱ و ۲ تفاوت معنی داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). با وجود اینکه میانگین میزان نرخ رشد ویژه در تیمار ۳ بیشتر از تیمار ۲ بود، اما این اختلاف معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). اختلاف میانگین ضریب چاقی و درصد تلفات در تیمارها معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). تفاوت میانگین

جدول ۱- میانگین برخی از شاخص‌های کیفی آب استخرهای دومنظوره کشاورزی مستطیلی، گرد و هشت‌ضلعی پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=3$ ) در طول دوره آزمایش

نوع شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
دمای آب (درجه سانتیگراد)	۱۵/۱۹ $\pm$ ۰/۸۶	۱۴/۹۷ $\pm$ ۰/۷۵	۱۵/۴۸ $\pm$ ۰/۶۳
اکسیژن محلول در آب (میلی گرم بر لیتر)	۶/۰۴ $\pm$ ۰/۵۸ <sup>a</sup>	۶/۹۲ $\pm$ ۰/۳۶ <sup>ab</sup>	۷/۸۴ $\pm$ ۰/۶۵ <sup>b</sup>
pH	۸/۰۴ $\pm$ ۰/۴۳	۷/۶۵ $\pm$ ۰/۵۳	۷/۸۴ $\pm$ ۰/۲۹
میزان لجن بستر (سانتی متر)	۱۲/۲۴ $\pm$ ۲/۱۷ <sup>c</sup>	۴/۳۷ $\pm$ ۲/۷۲ <sup>ab</sup>	۲/۱۶ $\pm$ ۱/۰۵ <sup>a</sup>
آمونیاک کل (میلی گرم بر لیتر)	۰/۸۵ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۰/۵۵ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>

حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارهاست ( $P \leq 0/05$ ).

جدول ۲- نتایج شاخص‌های رشد ماهی قزل آلی رنگین کمان

در استخرهای دومنظوره مستطیلی، گرد و هشت‌ضلعی با تراکم مختلف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=3$ )

نوع شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۳۰/۳۱ $\pm$ ۱/۸۱	۲۹/۹۶ $\pm$ ۲/۰۵	۳۰/۵۷ $\pm$ ۲/۲۸
طول نهایی (سانتی متر)	۲۷/۴۳ $\pm$ ۱/۸۱ <sup>a</sup>	۲۷/۸۶ $\pm$ ۲/۰۵ <sup>a</sup>	۳۰/۲۶ $\pm$ ۲/۲۸ <sup>b</sup>
وزن نهایی (گرم)	۳۴۹/۴۱ $\pm$ ۱۸/۹۱ <sup>a</sup>	۳۷۰/۸۲ $\pm$ ۲۶/۲۸ <sup>a</sup>	۴۳۴/۲۱ $\pm$ ۲۲/۱۶ <sup>b</sup>
افزایش وزن ماهی (گرم)	۳۱۹/۱۰ $\pm$ ۱۱/۷۱ <sup>a</sup>	۳۴۰/۸۶ $\pm$ ۸/۹۷ <sup>a</sup>	۴۰۳/۶۴ $\pm$ ۱۸/۲۳ <sup>b</sup>
میزان رشد روزانه (گرم در روز)	۲/۱۳ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۲/۲۷ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۶۹ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>b</sup>
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۶۳ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۶۸ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۱/۷۷ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>b</sup>
ضریب چاقی	۱/۶۹ $\pm$ ۰/۰۸	۱/۷۲ $\pm$ ۰/۱۴	۱/۵۷ $\pm$ ۰/۱۵
ضریب تبدیل غذایی	۲/۷۰ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۲/۱۰ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۱/۸۰ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>
درصد بازماندگی	۹۰/۵۷ $\pm$ ۱/۶۷	۹۰/۸۳ $\pm$ ۱/۲۷	۹۱/۳۸ $\pm$ ۱/۶۵
میزان تولید (کیلوگرم)	۱۱۵۵/۷ $\pm$ ۳۹/۳ <sup>a</sup>	۱۲۳۸/۲ $\pm$ ۱۵/۵ <sup>a</sup>	۱۴۷۵/۵ $\pm$ ۷۸/۳ <sup>b</sup>
میزان تراکم (کیلوگرم در مترمکعب)	۵/۷۷ $\pm$ ۰/۱۹ <sup>a</sup>	۶/۱۹ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۷/۳۸ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>b</sup>

حروف لاتین متفاوت بالای اعداد در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار است ( $P \leq 0/05$ ).

### ۳.۳. شاخص‌های بیوشیمیایی خون

نتایج حاصل از تعیین شاخص‌های خونی ماهیان قزل آلا نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها از نظر تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH) و غلظت متوسط

هموگلوبین سلولی (MCHC) بود ( $P > 0/05$ ) (جدول ۳). البته با تغییر شکل استخرها از مستطیلی به گرد و هشت ضلعی که به طور منظم با افزایش اکسیژن محلول و کاهش آمونیاک آب همراه بود، در تعداد گلبول سفید افزایش نسبی مشاهده شد. به ترتیبی که تیمار ۳ بیشترین تعداد گلبول سفید ( $7/93 \pm 1/45$ ) و تیمار ۱ کمترین

شد ( $P \leq 0/05$ ). کمترین میزان لنفوسیت ( $78/10 \pm 2/65$ ) در تیمار ۱ و همچنین کمترین میزان نوتروفیل ( $14/38 \pm 1/53$ ) در تیمار ۳ اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارها از نظر درصد نئوزینوفیل، مونوسیت و بازوفیل نشان نداد ( $P \geq 0/05$ ).

تعداد گلبول سفید ( $6/17 \pm 1/78$ ) را دارا بودند ( $P \leq 0/05$ ). مقایسه شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، در صد انواع لکوسیت‌ها بین تیمارهای مختلف نشان داد که تنها در میزان لنفوسیت و نوتروفیل، بین تیمار ۱ با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $P \leq 0/05$ ). با تغییر شکل استخرها از مستطیل به گرد و هشت‌ضلعی، در میزان لنفوسیت، افزایش و در میزان نوتروفیل، کاهش مشاهده

جدول ۳- میانگین شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استخرهای مستطیلی، گرد و هشت‌ضلعی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=3$ ) در پایان آزمایش

نوع شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
گلبول قرمز (میلی متر مکعب/ $10^6$ )	$1/20 \pm 0/06$	$1/18 \pm 0/07$	$1/21 \pm 0/07$
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	$7/63 \pm 0/38$	$7/57 \pm 0/31$	$7/7 \pm 0/20$
هماتوکریت (درصد)	$40/70 \pm 1/15$	$40/50 \pm 1/00$	$41/00 \pm 1/10$
MCV (fL)	$339/90 \pm 8/33$	$339/60 \pm 3/24$	$340/30 \pm 2/51$
MCH (pg/cell)	$63/80 \pm 2/54$	$64/10 \pm 1/47$	$63/90 \pm 3/50$
MCHC (g/dL)	$18/77 \pm 0/75$	$18/93 \pm 1/15$	$18/78 \pm 4/79$
گلبول سفید (میلی متر مکعب/ $10^3$ )	$6/17 \pm 1/78^a$	$7/10 \pm 1/53^{ab}$	$7/93 \pm 1/45^b$
لنفوسیت (درصد)	$78/10 \pm 2/65^a$	$79/15 \pm 1/00^a$	$81/72 \pm 1/15^b$
نوتروفیل (درصد)	$17/50 \pm 1/00^b$	$16/52 \pm 0/31^{ab}$	$14/38 \pm 1/53^a$
مونوسیت (درصد)	$3/40 \pm 1/00$	$3/67 \pm 0/50$	$3/57 \pm 0/50$
نئوزینوفیل (درصد)	$1/00 \pm 0/27$	$0/66 \pm 0/35$	$0/33 \pm 0/53$

حروف لاتین متفاوت بالای اعداد در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهاست ( $P \leq 0/05$ ).

منظم افزایش نشان داد و مقدار آن در تیمار ۲ و ۳ به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۱ بود ( $P \leq 0/05$ ). نتایج شکل ۲ (A) نشان داد که با تغییر شکل استخرها از مستطیلی به گرد و هشت‌ضلعی، در شاخص‌های مهم استرس از جمله کورتیزول و گلوکز خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، افزایش نسبی مشاهده شد، به‌طوری که تیمار ۱ (جریان خطی و ناهمگن آب) و تیمار ۳ (جریان دورانی و همگن آب) به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان کورتیزول را نشان دادند ( $P \leq 0/05$ ). بر اساس شکل ۲ (B)، بیشترین و کمترین مقدار گلوکز به‌ترتیب در تیمار ۱ و تیمار ۳ مشاهده شد ( $P \leq 0/05$ ).

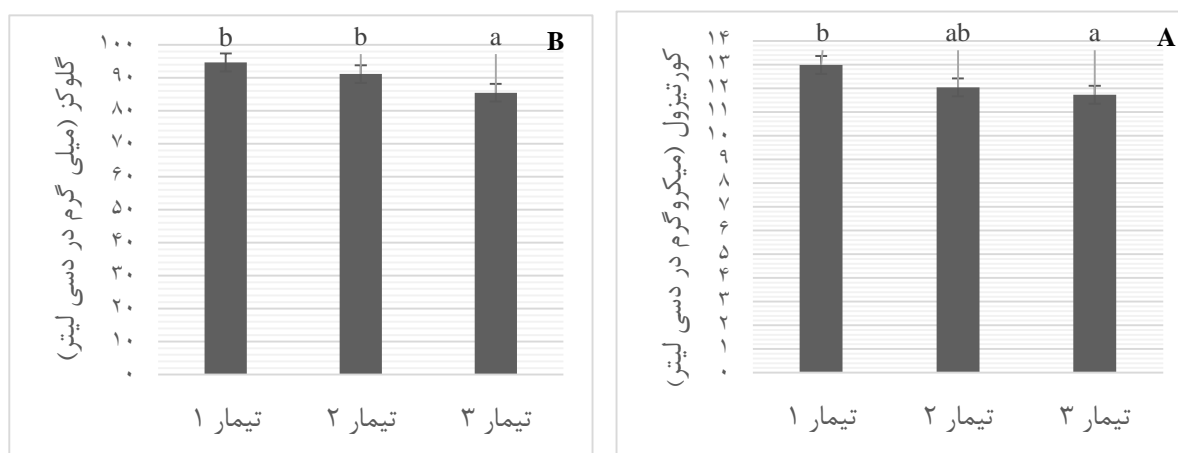
نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و بیوشیمیایی سرم خون ماهیان قزل‌آلا در جدول ۴، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از نظر میزان فعالیت کمپلمان، ایمنوگلوبولین تام سرم، پروتئین کل سرم و فعالیت لیزوزیم است ( $P \leq 0/05$ ). البته با تغییر شکل استخرها از مستطیل به گرد و هشت‌ضلعی، در شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و بیوشیمیایی سرم، افزایش نسبی مشاهده شد. به‌ترتیبی که در تیمار ۳ بیشترین مقدار و تیمار ۱ کمترین مقدار شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و بیوشیمیایی سرم دیده شد ( $P \leq 0/05$ ). مقدار این شاخص‌ها در تیمارهای مختلف با افزایش اکسیژن محلول و کاهش آمونیاک آب، به‌طور



جدول ۴- تغییرات شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلی رنگین کمان در استخرهای دومنظوره مستطیلی، گرد و هشت ضلعی با تراکم‌های مختلف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛ n=۳)

نوع شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
فعالیت کمپلمان (واحد / میلی لیتر)	۱۳۲/۵ $\pm$ ۲/۵ <sup>a</sup>	۱۳۴/۸۵ $\pm$ ۰/۵ <sup>b</sup>	۱۳۵/۱ $\pm$ ۱/۵ <sup>b</sup>
ایمنوگلوبولین تام سرم (میلی گرم/میلی لیتر)	۱۶/۱۷ $\pm$ ۲/۶ <sup>a</sup>	۱۹/۴۸ $\pm$ ۰/۵ <sup>b</sup>	۲۰/۰۳ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>b</sup>
پروتئین کل (گرم/دسی لیتر)	۳/۱۶ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۳/۸۰ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۴/۱۲ $\pm$ ۰/۲۳ <sup>b</sup>
فعالیت لیزوزیم (میکروگرم/ میلی لیتر)	۳۲/۸۳ $\pm$ ۱/۷۹ <sup>a</sup>	۳۹/۳۴ $\pm$ ۲/۶۵ <sup>b</sup>	۴۲/۱۷ $\pm$ ۱/۵۷ <sup>c</sup>

حروف لاتین متفاوت بالای اعداد در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار است ( $P \leq 0.05$ ).



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین سطوح کورتیزول A و گلوکز B خون ماهی قزل آلی رنگین کمان در استخرهای دومنظوره به اشکال مستطیلی، گرد و هشت ضلعی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛ n=۳) در پایان آزمایش

#### ۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

برقراری شرایط همگن و حذف مواد جامد، متابولیت‌ها و مواد غذایی باقیمانده در آب استخر منجر به افزایش تولید شد (Cripps and Poxton, 1992; Rasmussen and Lean, 2004). از عوامل مهم محدودکننده افزایش تولید آبزیان در واحد سطح، افزایش ترکیبات نیتروژن دار و کاهش اکسیژن در آب است. آمونیاک از خطرناکترین ترکیبات نیتروژنی است که با ایجاد اختلالات عصبی، تنفسی و کبدی باعث کاهش اشتها و در نتیجه کاهش رشد و ایمنی می‌گردد، بنابراین کنترل و مدیریت آن در صنعت آبزی پروری بسیار مورد توجه قرار می‌گیرد (Benli et al., 2008). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اکسیژن محلول آب و میزان لجن بستر و آمونیاک کل در تیمار ۳ در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۲ وضعیت

پرورش ماهی در کنار کشاورزی یکی از روش‌های استفاده بهینه از منابع آبی است که ضمن اشتغال‌زایی و کمک به اقتصاد خانواده کشاورز موجب حاصلخیزی آب برای کشاورزی و افزایش محصولات زراعی و باغی خواهد شد. با توجه به محدودیت‌های منابع آبی امروزه برای توجیه پذیر نمودن پرورش ماهی لازم است تراکم را در واحد سطح یا حجم بالا برد. استخرهایی که طراحی نامناسبی دارند، به دلیل کاهش تراکم و کاهش رشد، باعث کاهش پتانسیل تولید از حد مطلوب نیز می‌گردند، بنابراین با انتخاب شکل مناسب استخر ذخیره آب کشاورزی جهت پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان می‌توان با حذف نقاط کور، راکد و دارای سرعت آب کم،

خروجی فضولات نسبت به مخزن گرد برتری داشت. به طوری که در مخزن هشت ضلعی با خروجی مرکزی سبب ایجاد چرخش و نیروی گرانش به مرکز در مخزن شد و همین امر باعث تسریع در دفع فضولات بدون متلاشی شدن و تراوش مواد مغذی از آن و کاهش مواد محلول در آب شد. در تحقیق Summerfelt و Timmons (۲۰۰۰) در مخازن با نقاط کور و جریان خطی آب با افزایش تجمع فضولات در بستر، تراوش مواد مغذی و میزان مواد محلول در آب افزایش یافت که این امر منجر به بالا رفتن آمونیاک، EC، BOD و افزایش بار باکتریایی آب گردید. نتایج مطالعات مذکور بیانگر برتری مخزن هشت ضلعی در مقایسه با مخزن گرد و مستطیل شکل در دفع فضولات، کاهش بار رسوبی بستر و در نهایت بهبود شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. شکل هندسی مخزن پرورشی بر رفتار و شنای آبی مورد نظر نیز تأثیر دارد و مصرف انرژی برای جذب اکسیژن توسط ماهی را می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، کاهش مصرف انرژی به معنی افزایش رشد نیز تلقی می‌شود. Lunger و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از مخازن آبی پروری مدور و هشت ضلعی با وضعیت تعویض آب، خودپالایی و همگنی مناسب‌تر در مقایسه با مخازن مستطیل شکل، افزایش رشد و تولید را اثبات کردند. در ضمن تحت شرایط استرس، ماهی به انرژی بیشتری نیاز دارد تا فرآیندهای ایجاد هموستاتیک (تعادل) را در بدن کنترل کند. به عبارت دیگر، انرژی بیشتر از رشد، صرف استرس می‌شود (Moradyan et al., 2012).

یکی دیگر از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبیان پایین بودن ضریب تبدیل غذایی است، چرا که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به دنبال آن کاهش کیفیت آب جلوگیری خواهد کرد (Bahremand and Soleimanirad, 2017). در این مطالعه نیز با تغییر شکل حوضچه‌ها از مستطیل شکل به گرد و هشت ضلعی مقدار ضریب تبدیل غذایی کاهش معنی‌داری

مطلوب‌تری جهت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد. تنظیم شیب دربستر و خروجی مرکزی مخازن پرورشی، در تیمار ۲ و تیمار ۳ منجر به حرکت همگن دورانی در آب، و در نتیجه حذف سریع فضولات و پسماندهای غذا و تهویه مناسبتر آب در این دو تیمار شد، در صورتی که جریان آب در تیمار ۱ خطی و ناهمگن بود که با ایجاد نقاط کور با جریان کمتر آب باعث تجمع لجن در بستر شد. بنابراین بیشترین اکسیژن محلول و کمترین ارتفاع لجن بستر و آمونیاک در تیمار ۳ مشاهده شد. شاخص‌های هیدرودینامیکی مخزن، الگوی جریان و سرعت متوسط را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Oca et al., 2004; Masalo, 2008). یکی از محدودیت‌های اصلی برای کنترل کیفیت آب در سیستم‌های پرورشی با جریان آب، کنترل مواد جامد و جلوگیری از تجمع ذرات در داخل مخازن پرورشی است (Schei and Skybakmoen, 1998). تجمع لجن در بستر می‌تواند به دلیل افزایش غلظت آمونیاک آب نیز باشد، زیرا ۲۰-۲۲ درصد از نیتروژن غذا در مواد مدفوعی باقی می‌ماند و در شرایط تجزیه هوازی توسط باکتری‌ها به آمونیاک تبدیل می‌شود (Rafiee and Saad, 2005). بنابراین، تهویه مناسب در استخر کاهش لجن بستر را به همراه دارد که باعث کاهش سطح آمونیاک آب، بهبود کارایی رشد و بهره‌وری تغذیه می‌گردد (El-Saidy and Gaber, 2004). باقیمانده غذایی در آب باعث متلاشی شدن آن و تراوش مواد مغذی می‌شود. الگوی جریان آب در مخزن، برای مدیریت مواد زائد بسیار مهم است. یک جریان صحیح مانع از متلاشی شدن و رسوب مدفوع ماهی می‌شود. با توجه به شکل هندسی استخر هشت ضلعی، گردش مناسب آب در استخر باعث می‌شود این اتفاق سریع‌تر رخ دهد. حذف سریع مواد باقیمانده و جامد قابل رسوب در مخزن، از به وجود آمدن این مشکلات در استخر هشت ضلعی در مقایسه با سایر اشکال هندسی جلوگیری می‌نماید (Mathieu and Timmons, 1993; Sin et al., 2021). در مطالعه Naserian و همکاران (۱۳۹۷) در مخزن هشت ضلعی با یک ورودی عمودی به طور معنی‌داری

است که هورمون‌های کورتیکواستروئیدی به‌طور غیرمستقیم در این فرآیند نقش دارند (Mazon et al., 2002) کاهش تعداد گلبول‌های سفید تحت تأثیر تنش‌های محیطی پیش از این در مورد فیل ماهی (*Huso huso*) (Rafatnezhad et al., 2008)، کپور معمولی (Balabanova et al., 2009) تیلاپیی نیل (*Oreochromis niloticus*) (Martines-Porchas et al., 2009) گزارش شده است و با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱ در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. طبق مطالعات Oca و Masalo (۲۰۰۷) تأثیر سرعت بالای آب ورودی در ویژگی خود تمیز شوندگی و خودپالایی استخرهای مستطیل شکل بسیار مهم است. با وجود یکسان بودن دی‌آب ورودی در هر سه تیمار، به دلیل شکل هندسی و برتری خصوصیات هیدرولیکی استخرهای هشت ضلعی و مدور در مقایسه با استخرهای مستطیل شکل (Sin et al., 2021)، شرایط همگنی جریان آب و خودپالایی در تیمارهای ۲ و ۳ بهتر از تیمار ۱ بود که منجر به کاهش تجمع فضولات، غذای خورده نشده در بستر، زمان ماند هیدرولیکی، BOD، آمونیاک، دی‌اکسید کربن آب و افزایش اکسیژن محلول آب گردید (Gorle et al., 2018). یکی از مهمترین دلایل اختلاف معنی‌دار مقدار گلبول‌های سفید تیمار ۳ با تیمار ۱ شرایط فیزیکی و شیمیایی بهتر آب در تیمار ۳ در مقایسه با سایر تیمارها بود، که مطالعه Gorle و همکاران (۲۰۱۸)، Naserian و همکاران (۱۳۹۷) و Balooti و همکاران (۱۳۹۵) مؤید این موضوع است. همچنین یکی از ارزش‌ترین شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بود که نشان‌دهنده درصد انواع سلول‌های سفید خون است. نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهیان نشان داد که با افزایش تنش‌های محیطی (افزایش لجن بستر و میزان آمونیاک و کاهش اکسیژن محلول آب) در تیمار ۱، میزان لنفوسیت، کاهش و در میزان نوتروفیل، افزایش معنی‌داری رخ می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که ترشح

را نشان داد. با توجه به دی‌آب یکسان ورودی به هر مخزن پرورشی، شکل هندسی مخازن پرورشی با دارا بودن خواص هیدرودینامیکی مختلف نقش خود را در میزان دفع مواد زائد و بهبود کیفیت آب در محیط پرورش و در نهایت در شاخص‌های رشد و بهبود عملکرد تولید به‌خصوص در مخازن هشت‌ضلعی نشان دادند. بنابراین احتمالاً یکی از دلایل بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه در تیمار ۳ را می‌توان به بهبود شاخص‌های کیفی آب نسبت داد.

در این پژوهش اندازه‌گیری شاخص‌های خونی در ماهی قزل‌آلی رنگین‌کمان نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از نظر تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بود. Andrade و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود نشان دادند که تنش‌های محیطی ناشی از افزایش تراکم، تأثیری بر میزان هماتوکریت خون کفشک ماهی *Solea senegalensis* ندارد، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. Rafatnezhad و همکاران (۲۰۰۸) نیز بیان کردند که در شرایط افزایش تنش‌های محیطی (مانند کاهش اکسیژن محلول، افزایش آمونیاک آب و افزایش تراکم ماهی) تأثیری بر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون فیل ماهی ندارد، که تأییدکننده نتایج این پژوهش است. تعداد گلبول سفید و ترکیبات آن از شاخص‌های مهم ارزیابی سلامت ماهی و از بخش‌های مهم و اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند، میزان لجن بستر و میزان آمونیاک آب با تغییر شکل استخرها از هشت ضلعی به مدور و مستطیل شکل افزایش یافت، و تعداد گلبول‌های سفید روند کاهشی معنی‌داری را در بین تیمارها نشان داد. این داده‌ها نشان می‌دهد که گلبول‌های سفید در ماهیانی که تحت تأثیر تنش محیطی (کاهش اکسیژن و افزایش آمونیاک آب) قرار دارند معمولاً کاهش می‌یابد (Balabanova et al., 2009; Witeska, 2005). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که لکوسیتوپنی<sup>۱</sup> (یا کاهش کلی تعداد لکوسیت‌ها) یک پاسخ غیراختصاصی به تنش‌های محیطی

<sup>۱</sup> Leukocytopenia

هستند (Tort., 2011). بر اساس نتایج، با تغییر شکل استخر از مستطیل شکل به گرد و هشت ضلعی، با بهبود هیدرودینامیک و خودپالایی، کاهش معنی‌داری در رسوب‌گذاری در کف بستر و در غلظت آمونیاک کل آب دیده شد، که این تغییرات باعث بهبود شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نظیر فعالیت کمپلمان، ایمنوگلوبولین تام سرم خون، پروتئین کل و آنزیم لیزوزیم در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۱ و ۲ گردید. به‌طور کلی در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیراختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود. تقویت این سیستم با بهبود شرایط محیط پرورشی و تغذیه‌ای برای ماهیان بسیار ارزشمند است، چرا که ماهیان در شرایط پرورشی به دلیل تراکم زیاد در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی آسیب‌پذیرند (Dixon and Stet, 2001). سیستم کمپلمان در ماهیان نقش مهمی در باکتری‌کشی سرم و موکوس ایفا می‌کند و با اتصال به بخش‌های اختصاصی عامل مهاجم در سطح بدن میزبان در بیگانه‌خواری دخیل‌اند. برخی از محققین معتقدند که فعالیت کمپلمان با بهبود شرایط محیط زیست و همچنین با کاربرد انواع مختلف محرک‌های ایمنی افزایش می‌یابد (Christyapita et al., 2007) که این نتیجه همسو با نتایج این پژوهش است. روند افزایش لیزوزیم می‌تواند به این دلیل باشد که جزئی از مکانیسم دفاع غیراختصاصی است و توانایی جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عفونی را با تقسیم کردن پیوند  $\beta$ -1، ۴ گلیکوزیدی بین باندهای N-acetylmuramic اسید و N-acetylglucosamine در پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتریایی دارد (Choi et al., 2008). نتایج به‌دست آمده همچنین نشان داد که غلظت ایمنوگلوبولین تام سرم خون در تیمار ۱ با شرایط تنش‌های محیطی بیشتر در مقایسه با تیمار ۲ و تیمار ۳ با شرایط هیدرودینامیکی و تهویه مناسب‌تر از روند کاهش بر خوردار بود. تنش‌های محیطی و استرس کمتر که باعث افزایش میزان لیزوزیم پلاسما می‌شوند، در واقع باعث افزایش نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها

کورتیزول تحت تأثیر تنش، طول عمر لنفوسیت‌ها را کاهش داده، مرگ برنامه‌ریزی شده آن‌ها را تسریع خواهد کرد (Wyets et al., 1998) و تکثیر آن‌ها را کاهش می‌دهد (Espelid et al., 1996). از این‌رو، کاهش تعداد و فعالیت لنفوسیت‌ها، صرف نظر از عامل مؤثر آن، وقوع تنش را نشان می‌دهد (Witeska, 2005). افزایش میزان نوتروفیل‌ها نیز ممکن است ناشی از تأثیر هورمون کورتیزول باشد. مطالعات نشان داده‌اند که نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها نقش مهمی در ایجاد فعالیت‌های سیستم ایمنی بدن ایفا می‌نمایند و کورتیکواستروئیدها تأثیر زیادی بر نو سان تعداد این سلول‌ها دارند، به‌طوری‌که در زمان بروز تنش و ترشح کورتیکواستروئیدهایی نظیر کورتیزول با پدیده کاهش لنفوسیت‌ها و افزایش نوتروفیل‌ها مواجه می‌شویم که این تغییرات با نوسانات سطوح کورتیزول خون دقیقاً مطابقت دارد (Zare et al., 2012). Balabanova و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی تأثیر تنش ناشی از تزریق هورمون کورتیزول در ماهی کپور، با کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش تعداد نوتروفیل‌ها مواجه شدند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که طی فرآیند تمایز سلول‌های هماتوپوئیتیک، مسئول ساخت اجزاء سیستم ایمنی، مسیر تولید سلول‌های لنفوئید متوقف شده و مسیر تولید سلول‌های میلوئید فعال می‌شود. این امر به دلیل اختلال در سنتز سیتوکیناز توسط سلول‌های بافت لنفومیلوئید، که مسئول فرآیندهای تمایز، واکنش‌های بین سلولی و شکل‌گیری سیستم ایمنی همورال و سلولی هستند، صورت می‌گیرد (Witeska, 2005; Zare et al., 2012). نتایج این پژوهش نیز این موضوع را تأیید کرد و در تیمار ۱ شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، در مقایسه با تیمار ۳ نامناسب‌تر بود. در تیمار ۳، شرایط هیدرودینامیکی، خودپالایی و فیزیکی و شیمیایی مناسب‌تر از سایر تیمارها بود، بنابراین، در تیمار ۱ میزان لنفوسیت کاهش و میزان نوتروفیل افزایش نشان داد.

کاهش فعالیت لیزوزیم، سیستم کمپلمان، غلظت پروتئین کل و ایمنوگلوبولین از نشانه‌های افت ایمنی

کرومافین و کاتکول آمین خواهد شد و این امر موجب افزایش تجزیه گلیکوژن می شود. این فرایندها مقدار گلوکز را افزایش می دهد تا انرژی مورد نیاز بدن تأمین شود. بنابراین، پس از پاسخ اولیه ماهی به استرس های وارد شده، یکسری پاسخ های ثانویه از قبیل افزایش میزان قندخون، افزایش لاکتات، افزایش کلسترول، تغییر در فعالیت آنزیم های پلاسما، غلظت یون ها، کاهش مقدار گلیکوژن ماهیچه و کبد، افزایش نرخ متابولیسم و تغییرات در پروفایل خون شناسی و ظرفیت ایمنی شناسی در خون و بافت های ماهی ایجاد می شود (Staurnes *et al.*, 1994). نتایج مطالعات فوق با یافته های پژوهش حاضر مطابقت دارد و نشان داده شد که، افزایش میزان کورتیزول و گلوکز در خون ماهیان در تیمار ۱ ناشی از افزایش آمونیاک و تنش محیطی بالا است.

## ۵. نتیجه گیری نهایی

در مناطق روستایی سیستان به دلیل موقعیت جغرافیایی خاص، منطقه چاهک ها مهمترین منبع آب کشاورزی روستائیان به شمار می آید. اصلاح شکل مخازن پرورشی به عنوان تغییر در الگوی پرورش ماهی از سنتی به تجاری تلقی می شود. با استفاده از سیستم های به روز مانند استخرهای ذخیره آب کشاورزی گرد و هشت ضلعی شکل با خواص هیدرودینامیکی بهتر، امکان افزایش تولید بیشتر در مقایسه با مخازن یا استخرهای سنتی مستطیل شکل ایجاد شد. بنابراین، توسعه این روش پرورش ماهی در مناطق روستایی در سیستان منجر به بهبود معیشت و در نتیجه کاهش مهاجرت روستائیان به شهرها خواهد شد.

## ۶. تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه زابل و پژوهانه با کد: ۷۳-۹۶۱۸-GR-UOZ اجرا شد. از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی تشکر می شود.

در جریان خون می شوند که آن ها نیز با ترشح لیزوزیم باعث افزایش آن در سرم می شوند (Sahu *et al.*, 2006). نتایج نشان داد که افزایش استرس ناشی از شرایط نامناسب محیطی تیمار ۱ در مقایسه با تیمار ۲ و ۳ باعث کاهش میزان لیزوزیم می شود که با مطالعات مذکور همخوانی داشت.

شاخص هایی مانند میزان کورتیزول و گلوکز خون به عنوان عوامل تشخیصی استرس در ماهی مطرح اند و افزایش هر کدام از عوامل فوق شرایط بد محیطی و وضعیت استرس در ماهیان را نشان می دهد. مطالعات نشان داده اند که از شناخته شده ترین پاسخ های تنش در ماهیان، افزایش سطوح کورتیزول و گلوکز خون است (Ruane *et al.*, 2002). هورمون کورتیزول به عنوان یک هورمون استروئیدی گلوکوکورتیکوئیدی و مهمترین هورمون ترشحی از بخش قدامی کلیه است که به عنوان شاخص اولیه استرس در ماهیان نیز شناخته می شود و عمدتاً با قرارگیری موجود زنده در معرض عوامل استرس زای حاد یا مزمن، مقدار آن افزایش می یابد (Ramsay *et al.*, 2006). Nakanishi و Yada (۲۰۰۲) نیز به این نتیجه رسیدند که تنش های محیطی باعث نوسان سطوح کورتیزول و کاتکول آمین ها می شوند که این هورمون ها مسئول سرکوب ایمنی در ماهیان هستند. در مطالعه حاضر، بیشترین و کمترین مقدار کورتیزول به ترتیب در تیمار ۱ ( $12/98 \pm 0/21$  نانوگرم بر میلی لیتر) و تیمار ۳ ( $11/73 \pm 0/15$  نانوگرم بر میلی لیتر) ثبت شد. کورتیزول و گلوکز در تیمار ۱ به بیشترین میزان خود رسیدند که می تواند به دلیل عدم تطابق فیزیولوژیکی ماهی در مواجهه با وجود استرس مزمن آمونیاک در محیط پرورشی به دلیل تجمع فضولات و باقیمانده غذای خورده نشده در استخرهای مستطیلی شکل باشد. نتایج تحقیق حاضر با گزارش های حاصل از تحقیقات Sinha و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی گلد فیش (*Carassius auratus*) و Metwally و Wafeek (۲۰۱۴) بر ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) همخوانی داشت. در ماهی، کورتیزول باعث آزاد شدن سلول های

## References

## ۷. منابع

- Andrade, T., Afonso, A., Perez-Jimenez, A., Oliva-Teles, A., de las Heras, V., Mancera, J.M., Serradeiro, R., Costas, B., 2015. Evaluation of different stocking densities in a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: Implications for growth, humoral immune parameters and oxidative status. *Aquaculture* 438(1), 6-11.
- Arshadi, A., 2016. View on the importance of water and aquaculture in the province of Sistan. Conference on restoration policies and approaches of Hamoun International Wetland. pp. 281-289. (In Persian)
- Arshadi, A., Zare, H., 2011. Technical and productivity assessment study of fish culture in reservoir pond in Sistan province. *Journal of Fisheries* 5(1), 77-85. (In Persian)
- Balooti Mirza, F., Harsij, M., Jafaryan, H., Seyedian, S.M., 2016. The impact of different diameter: depth ratios in octagonal and circular ponds water exchanges. National Conference on Aquaculture and Sustainable Aquatic Ecosystem. pp. 1-4. (In Persian)
- Bahremand, M., Soleimanirad, A., 2017. Effects of stocking density on growth performance, immune and stress responses in koi carp (*Cyprinus carpio* Koi). *Journal of Aquatic Ecology* 6(4), 10-20. (In Persian)
- Balabanova, L.V., Mikryakov, D.V., Mikryakov, V.R., 2009. Response of common carp (*Cyprinus carpio*) leucocytes to hormoneinduced stress. *Inland Water Biology* 2(1), 86-88.
- Benli, A.C.K., Koksall, G., Ozkul, A., 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72(9), 1355-1358.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5, 771-781.
- Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B.; Jang, Y.S., Choe, C.H., 2008. Dietary Korean mistele to enhance cellular non- specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish and Shellfish Immunology* 24(1), 67-73.
- Christybapita, D.; Divyagnaneswari, M., Michael, R. D., 2007. Oral administration of Eclipta alba leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology* 23(4), 840-852.
- Cripps, S.J., Poxton, M.G., 1992. A review of the design and performance of tanks relevant to flatfish culture. *Aquacultural Engineering* 11(2), 71-91.
- Dixon, B., Stet, R.J.M., 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. *Developmental and Comparative Immunology* 25(8-9), 683-699.
- Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, W.B. Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, USA: SOS publication. pp. 101-103.
- El-Saidy, D.M.S., Gaber, M.M.A., 2004. Effect of yucca schidigera on water quality and growth performance of Nile tilapia (*O. niloticus*) fingerlings. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 8(1), 33-50.
- Espelid, S., Lokken, G.B., Steiro, K., Bogwald, J., 1996. Effects of cortisol and stress on the immune system in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 6(2), 95-110.
- FAO., 2020. The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rom, 227 p.
- Gholiyan, E., Bahr Kazemi, M., Mohaqeq Samari, A., Saeedi, A.A., 2017. Effect of stocking density on growth parameters, immune factors and stress rate of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Journal of Breeding and Aquaculture Science* 4(12), 45-54. (In Persian)
- Gorle, J.M.R., Terjesen, B.F., Mota, V.C., Summerfelt, S., 2018. Water velocity in commercial RAS culture tanks for Atlantic salmon smolt production. *Aquacultural Engineering* 81(2), 89-100.

- Iran Fisheries Organization., 2020. Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization. Deputy of Planning and Resource Management, *Planning and Budget Office*, 87 p, (in Persian).
- Klinger, H.E., Robin, J.P., Dewasmes, G., Froustoso, J., Minaire, Y., 1991. Fasting-induced rise in locomotor activity in rate coincides with increased protein utilization. *Physiology and Behavior* 50(2), 337-343.
- Lunger, A., Rasmussen, M.R., Laursen, J., McLean, E., 2006. Fish stocking density impacts tank hydrodynamics. *Aquaculture* 254(1-4), 370-375.
- Martines-Porchas, M., Martines-Cordova, L.R., Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? *Pan American Journal of Aquatic Sciences* 4(2), 158-178.
- Masaló, I., 2008. Hydrodynamic characterization of aquaculture tanks and design criteria for improving selfcleaning properties. Ph.D. Thesis. Universitat Politècnica de Catalunya Barcelonatech, Spain, 109 p.
- Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinteiro, G.H., 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.
- Mathieu, F., Timmons, M.B., 1995. Techniques for Modern Aquaculture. J. K. Wang (ed.), American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, 604 p.
- Metwally, M.A.A., Wafeek, M., 2014. Effect of Ammonia Toxicity on Carbohydrate Metabolism in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 6(3), 252-261.
- Moradyan, H., Karimi, H., Gandomkar, H.A., Sahraeian, M.R., Ertefaat, S. and Sahafi, H.H., 2012. The effect of stocking density on growth parameters and survival rate of trout alevins (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 4(5), 480-485.
- Naserian, R., Harsij, M., Jafariyan, H., Seyedian, S.M., 2018. Effect of different inlet on some Hydraulic characteristic of octagonal and circular reservoirs. *Advanced Aquaculture Sciences Journal* 2(3), 45-57. (In Persian)
- Oca, j., Masalo, I., 2004. Comparative analysis of flow patterns in aquaculture rectangular tanks with different water inlet characteristics. *Aquacultural Engineering* 31(3-4), 221-236.
- Oca, J., Masalo, I., 2007. Design criteria for rotating flow cells in rectangular aquaculture tanks. *Aquacultural Engineering* 36(1), 36-44.
- Rafatnezhad, S., Falahatkar, B., Gilani, M.H.T., 2008. Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research* 39(14), 1506-1513.
- Rafiee, Gh., Saad, Ch.R., 2005. Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis* sp.) growth in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 244(1-4), 109-118.
- Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z.M., Westerfield, M., Kent, M.L., Schreck, C.B., 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture* 258(1-4), 565-574.
- Rasmussen, M.R., McLean, E., 2004. Comparison of two different methods for evaluating the hydrodynamic performance of an industrialscale fish-rearing unit. *Aquaculture* 242(1-4), 397-416.
- Ruane, N.M., Nuisman, E.A., Komeon, J., 2002. The influence of feeding history on the acute stress response of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 210(1-4), 245-257.
- Orbcastel, E.R., Blancheton, J.P., Belaud, A., 2009. Water quality and rainbow trout performance in a Danish Model Farm recirculating system: Comparison with a flow through system. *Aquacultural Engineering* 40(2), 135- 143.
- Sahu, S., Das, B.K., Pradhan, J., Mohapatra, B.C., Mishra, B.K., Sarangi, N., 2006. Effect of Magnifera indica kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology* 23(1), 109- 118.

- Schei, I., Skybakmoen, S., 1998. Control of Water Quality and Growth Performance by Solids Removal and Hydraulic Control in Rearing Tanks. *The Proceedings of the First International Symposium on Fisheries and Ecology* 2(1), 4-18.
- Shahrekie, M., Sharifzadeh, M., 2015. Investigating the Role of Fish Farming in Sustainable Rural Livelihood of Zahedan County Farmers. *Rural Research* 6 (1), 97-116. (In Persian)
- Sin, M.G., An, C.H., Cha, S.J., Kim, M.J., Kim, H.N., 2021. A method for minimizing the zone of low water flow velocity in a bottom center drain circular aquaculture tank. *Journal of the World Aquaculture Society* 52(6), 1221-1233.
- Sinha, A.K., Liew, H.J., Diricx, M., Kumar, V., Darras, V.M., Blust, R., De Boeck, G., 2012. Combined effects of high environmental ammonia, starvation and exercise on hormonal and ion-regulatory response in goldfish (*Carassius auratus* L.). *Aquatic Toxicology* 114-115(6), 153-164.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophil and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. *Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland* 193(1), 105-120.
- Staurnes, M., Sigholt, T., Pedersen, H.P., Rustad, T., 1994. Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 119(4), 381-391.
- Summerfelt, S.T., Timmons, M.B., 2000. Hydrodynamics in the "Cornell-Type" Dual-Drain Tank. *Third International Conference of Recirculating Aquaculture*, pp. 19-21.
- Tort, L., 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental Comparative Immunology* 35(12), 1366-1375.
- Waley, K., North, J., 1997. Haemolytic assays for whole complement activity and individual components. In: (Dodds, A.W. and Sim, R.B., eds.), *Complement: A Practical Approach*, Vol. 1: Oxford University Press, Oxford. Great Britain, pp. 19-47.
- Welker, T.L., Overturf, K., Abernathy, J., 2019. Effect of aeration and oxygenation on growth and survival of rainbow trout in a commercial serial-pass, flow-through raceway system. *Aquaculture Reports* 14, <https://www.elsevier.com/locate/aqrep>.
- Witeska, M., 2005. Stress in fish hematological and immunological effect of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology* 1(7), 35-41.
- Wyets, F.A.A., Flikt, G., Verburg van Kemenade, B.M.L., 1998. Cortisol inhibits apoptosis in carp neutrophilic granulocytes. *Developmental and Comparative Immunology* 22(5-6), 563-572.
- Yada, T., Nakanishi, T., 2002. Interaction between endocrine and immune systems in fish. *International Review of Cytology* 220(1), 35-92.
- Zahedi, S., Akbarzadeh, A., Mehrzad, J., Noori, A., Harsij, M., 2019. The effect of increasing stocking density on growth performance, cortisol concentration and heat shock protein gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Environment* 11(2), 225-232. (In Persian)
- Zare, R., Bahmani, M., Yavari, V., Kazemi, R., Fazeli, N., Poordehghany, M., Mohamadian, T., 2012. Effects of rearing density on leukocytes and plasma cortisol level of Siberian sturgeons (*Acipenser baerii*). *Iranian Veterinary Journal* 8(2), 22-32. (In Persian)