# اثرات هیپوکسی، نورموکسی و هیپراکسی بر فاکتورهای هماتولوژی و پارامترهای بیوشیمیایی خون دو گروه وزنی از فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی

فروزان باقرزاده لاکانی[1*]، مسعود ستاری[2]، رضوان ا... کاظمی[3]، محمدعلی یزدانی ساداتی[4]، محمد پوردهقانی[5]، قاسم عشوری[6]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، استان گیلان، صومعه سرا، پست الکترونیکی: f.bagherzadeh.l@gmail.com
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، استان گیلان، صومعه سرا، پست الکترونیکی: msattari@guilan.ac.ir
۳- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، استان گیلان، رشت، پست الکترونیکی: rezkazemi2000@yahoo.com
۴- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، استان گیلان، رشت، پست الکترونیکی: myazdanisadati@yahoo.com
۵- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، استان گیلان، رشت، پست الکترونیکی: mpourdehghani@yahoo.com
۶- گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: ashuri.gh@gmail.com

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۶

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۴، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

## چکیده

ماهیان خاویاری جزء ماهیان با ارزش اقتصادی دریای خزر هستند، اما مطالعات محدودی در خصوص نیازهای اکسیژنی آن‌ها در دسترس است. در مطالعه حاضر اثر سطوح مختلف اکسیژن بر شاخص‌های خونی دو گروه وزنی از فیل ماهی *Huso huso* شامل ماهیان اندازه کوچک (با وزن اولیه ۴۹/۲±۲۸۰/۹ گرم) و اندازه بزرگ (با وزن اولیه ۱۳۸/۱±۱۲۱۷/۹ گرم) (SE± میانگین) بررسی شد. تیمارهای اکسیژن شامل هیپوکسی (mg/l ۳-۲)، نورموکسی (mg/l ۶-۵) و هیپراکسی (mg/l ۱۰-۹) به وسیله تنظیم آب ورودی و تزریق اکسیژن خالص برای تیمار هیپراکسی، تنظیم شد. ماهیان به مدت یک هفته با تانک‌های آزمایش سازگار شده، سپس به صورت تصادفی در ۹ تانک در هر گروه وزنی توزیع (برای اندازه بزرگ ۳ ماهی و برای اندازه کوچک ۶ ماهی در هر تانک) و به مدت ۸ هفته در این شرایط نگهداری شدند. زیست‌سنجی ماهیان شامل وزن نهایی و طول چنگالی همه ماهیان هر دو هفته یک‌بار و در پایان آزمایش انجام شد. در انتهای آزمایش به منظور سنجش پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی، از یک سوم ماهیان هر تانک به صورت تصادفی خون‌گیری انجام شد. پس از انجام آنالیزهای آماری HCT و MCHC در ماهیان اندازه کوچک و RBC، MCV و نوتروفیل در ماهیان اندازه بزرگ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: *اکسیژن، هماتولوژی، فیل ماهی، Huso huso*

## ۱. مقدمه

اکسیژن برای تنفس و فرآیند متابولیسم در هر جانوری ضروری است. در ماهیان میزان متابولیسم به وسیله غلظت اکسیژن در محیط پرورش تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Tom, 1998). در دسترس بودن اکسیژن در آب پرورش ماهی مهم‌ترین پارامتر کیفی آب در آبزی-پروری است (Timmons et al., 2001) و تولید موفق ماهی به مدیریت خوب اکسیژن بستگی دارد (Mallya, 2007). زمانی که اکسیژن محلول به وضعیت اشباع نزدیک‌تر باشد، سلامتی و موقعیت فیزیولوژیک، بهترین خواهد بود و زمانی که اکسیژن محلول کمتر از این میزان باشد، ممکن است با افزایش استرس، کاهش فعالیت شنا و کاهش مصونیت در برابر بیماری‌ها، رشد ماهیان به شدت کاهش یابد (Wedemeyer, 1996). فراهم آوردن مقدار کافی اکسیژن محلول برای ماهی در پرورش متراکم، ضروری است و غلظت‌های اکسیژن محلول بسیار پایین منجر به اثرات نامطلوب جدی بر سلامت ماهی شامل بی‌اشتهایی، استرس تنفسی، کمبود اکسیژن بافتی، بی‌قراری و در نهایت مرگ می‌شود (عبدا... مشائی، ۱۳۷۹). امروزه در پرورش متراکم بسیاری از گونه‌ها افزودن اکسیژن به آب جهت افزایش زی‌توده (بیوماس) و تولید، امری متداول است (Olsvik et al., 2006).

هیپوکسی، پدیده‌ای است که در محیط‌های آبی رخ می‌دهد و میزان اکسیژن محلول تا میزان مضر برای موجود کاهش می‌یابد. در حالت کلی یک سیستم آبی با غلظت اکسیژن کم بین ۱ الی ۳۰ درصد اشباع هیپوکسی نامیده می‌شود. اکثر ماهیان نمی‌توانند در محیط با اکسیژن کمتر از ۳۰ درصد اشباع زندگی کنند. هیپراکسی موقعیتی از آب است که میزان خیلی بالایی از اکسیژن را نگهداری کند. در این حالت، آب به این شکل توصیف می‌شود که اکسیژن محلول بالاتر از ۱۰۰٪ دارد. این درصد می‌تواند ۳۰۰-۱۴۰ باشد.

مواجه شدن با هیپراکسی و هیپوکسی ممکن است برای موجودات آبزی مضر بوده و منجر به رشد پایین‌تر از حد مطلوب و تولید زی‌توده پایین‌تر گردد (Wedemeyer, 1990). اثرات مواجهه طولانی با هیپراکسی کمتر شناخته شده است (Olsvik et al., 2006). در سایر مطالعات در زمینه اثر اکسیژن بر ماهیان خاویاری، Burggeren و Randall (۱۹۷۸) جذب اکسیژن و انتقال آن در طول مواجهه با هیپوکسی را در ماهی خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) بررسی کردند. Ruer و همکاران (۱۹۸۷) در بررسی متابولیسم ماهی خاویاری سفید، اثر تراکم جمعیت و هیپوکسی را مورد مطالعه قرار دادند. Nonnotte و همکاران (۱۹۹۳) واکنش‌های تنفسی به هیپوکسی محیطی را در ماهی خاویاری (*Acipenser baerii*) و Maxime و همکاران (۱۹۹۵) اثرات تنفسی و گردش خون در استرس هیپوکسی را در تاسماهی سیبری بررسی کردند. Thomas و Piedrahita (۱۹۹۷) نرخ مصرف اکسیژن ماهی خاویاری سفید را در موقعیت‌های پرورش تجاری بررسی کردند. Lu و همکاران (۲۰۰۵) اثر هیپوکسی را روی آپوپتوزیز سیستم عصبی مرکزی ماهی خاویاری (*Acipenser shrenckii*) مورد مطالعه قرار دادند و Baker و همکاران (۲۰۰۵) عنوان کردند که بچه‌ماهیان خاویاری اقیانوس اطلس و بچه‌ماهیان خاویاری پوزه کوتاه پاسخ‌های هماتولوژیک متفاوتی نسبت به هیپوکسی محیطی کشنده دارند.

سایر تحقیقات نشان می‌دهد که کیفیت و کمیت فاکتورهای خونی می‌تواند شاخص خوبی برای تشخیص و تعیین سلامت و یا بیماری‌های ماهیان باشد، بنابراین استفاده از پارامترهای خون-شناسی قادر است اطلاعات گسترده‌ای در مورد واکنش‌های فیزیولوژیک ماهی در مقابله با تغییرات محیط خارجی، نظیر بروز استرس و انواع بیماری‌ها در اختیار محققین قرار دهد. از آنجا که تاکنون مطالعه مقایسه‌ای روی سطوح مختلف اکسیژن در ماهیان خاویاری و بررسی اثرات آن‌ها روی فیزیولوژی این گونه‌های ارزشمند در معرض خطر صورت نگرفته و با توجه به اهمیت پرورشی فیل ماهی و اثر قابل توجه اکسیژن به عنوان یک عامل محیطی روی رشد ماهیان، ضرورت انجام تحقیقی جهت تعیین سطح مطلوب اکسیژن در این گونه احساس می‌شود. علی‌رغم ارزش اقتصادی فیل ماهی، اطلاعات اندکی درباره نیاز اکسیژنی این گونه وجود دارد. لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر سطوح مختلف اکسیژن (به عنوان یک عامل اثرگذار محیطی) بر شاخص‌های خونی و فاکتورهای بیوشیمیایی دو گروه وزنی از فیل ماهیان پرورشی است، تا در سیستم‌های پرورشی بتوان نیاز-های اکسیژنی آن‌ها را مشخص کرده و این نیاز را با توجه به تراکم ماهیان در هر حوضچه تامین نمود.

## ۲. مواد و روش‌ها

۲۷ ماهی با میانگین وزنی ۱۲۱۷/۹±۱۳۸/۱ (SE±میانگین) (به عنوان اندازه بزرگ) و ۵۴ ماهی با میانگین وزنی ۲۸۰±۴۹/۲

(SE± میانگین) (به عنوان اندازه کوچک) از موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری تهیه شد. قبل از شروع آزمایش ماهیان به مدت یک هفته با شرایط مخازن سازگار شدند. پس از دوره سازگاری ماهیان به طور کاملا تصادفی در ۱۸ تانک فایبرگلاس نیم‌تنی قرار داده شدند. حجم تانک‌ها ۵۰۰ لیتر و حجم آب ۳۰۰ لیتر و دبی آب ورودی ۳ لیتر در دقیقه (۲ لیتر آب رودخانه و ۱ لیتر آب چاه) بود. ماهیان در دو گروه وزنی به تعداد ۶ عدد در هر تانک برای اندازه کوچک (با تراکم ۵۵/۳±۱۶۸۵/۳ گرم) و ۳ عدد در هر تانک برای اندازه بزرگ (با تراکم ۳۲۲/۱±۳۶۵۳/۷ گرم) در تانک‌ها توزیع شدند. دمای آب ۰/۷°C±۱۸، pH=۶/۴ ، نیتریت ۰/۰۲±۰/۰۱ mg/l، آمونیوم برابر با ۰ و میزان نور به صورت ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی بود. تیمارهای اکسیژن شامل هیپوکسی به میزان ۳-۲ mg/l، نورموکسی به میزان ۶-۵ mg/l و هیپراکسی به میزان ۱۰-۹ mg/l (Brett, 1979; Boyd, 1982; Jobling, 1995; Buentello et al., 2000; Crampton et al., 2003) بوده و جهت تنظیم آن‌ها دبی آب ورودی در تمام تانک‌ها به صورت یکسان تنظیم شده و با قطع هوادهی در تیمار اکسیژن پایین و تنظیم هوادهی در تیمار اکسیژن متوسط و حداکثر هوادهی به علاوه تزریق اکسیژن خالص در تیمار اکسیژن بالا، میزان اکسیژن، تنظیم و در طول دوره با کنترل مداوم روزانه (در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۲۰ و ۲۴) با استفاده از دستگاه اکسی‌متر (OXi323-B/SET) در محدوده مورد نظر حفظ گردید. ماهیان به مدت ۸ هفته در این شرایط نگهداری و تغذیه شدند. میزان غذادهی در طول دوره پرورشی بر اساس وزن و درجه حرارت آب، ۲-۱٪ زی‌توده بوده و روزانه در سه نوبت (۸، ۱۶و ۲۴) به ماهیان داده می‌شد. زیست‌سنجی ماهیان شامل وزن نهایی (Wt) و طول چنگالی (FL) ماهیان هر دو هفته یک‌بار انجام شد. در ابتدای دوره پرورش از ۳ ماهی در اندازه بزرگ و ۶ ماهی از اندازه کوچک به صورت تصادفی به عنوان شاهد و در انتهای دوره نیز از یک سوم ماهیان هر تانک خون‌گیری انجام شد. خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی در قسمت انتهای باله مخرجی، با استفاده از سرنگ غیرهپارینه انجام شد. مقداری از خون استحصالی به صورت غیرهپارینه جهت تهیه گسترش خونی به منظور تعیین درصد گلبول‌های سفید، سنجش کورتیزول، گلوکز و اسمولالیته، جدا شد و مابقی خون برای تعیین سایر پارامترهای هماتولوژیک به درون لوله‌های حاوی هپارین انتقال داده شد. نمونه‌های خون غیرهپارینه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Labofuge- Heraeus-SEPATECH) شدند، سپس سرم با استفاده از سمپلر جداسازی شده و در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. هموگلوبین با واحد g/dl با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY-6505 UV/Vis) و کیت ZiestChem اندازه گیری شد. میزان پروتئین کل[1] با روش Biuret با واحد g/dl با کیت پارس آزمون به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY-6505 UV/Vis) اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری میزان هماتوکریت (HCT) از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. جهت اندازه‌گیری گلوکز از کیت پارس آزمون (کرج، ایران) و دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY-6505 UV/Vis) استفاده گردید. مقدار کورتیزول موجود در سرم بر اساس روش رادیوایمیونواسی (RIA)[2] با استفاده از دستگاه A.K.B (ساخت فنلاند) و استفاده از کیت Immunotech (ساخت فرانسه) انجام شد. برای تعیین میزان اسمولالیته ۴۰ میکرولیتر از سرم درون میکروتیوب ریخته و در دستگاه اسمومتر Osmomat (ساخت آلمان) قرار داده شد و میزان اسمولالیته بر حسب mosm l-1 محاسبه گردید. برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون گسترش خونی تهیه شد. برای به دست آوردن تعداد گلبول‌های قرمز و سفید از پیپت ملانژور استفاده شد. برای شمارش گلبول-های خون از نوعی لام هماسیتومتر به نام لام نئوبار استفاده شد. جهت محاسبه اندیس‌های خونی شامل حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، از روابط زیر استفاده گردید (Klinger et al., 1996):

MCV(fl) = مقدار هماتوکریت / تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون در $10 \times mm^3$

MCH (pg) = مقدار هموگلوبین (g/dl) / تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون در $10 \times mm^3$

MCHC(%) = مقدار هموگلوبین (g/dl) / مقدار هماتوکریت× ۱۰۰

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی[3] برنامه ریزی و اجرا گردید. ثبت کلیه داده‌های جمع آوری شده در هر مرحله و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft office Excel, 2007 انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ استفاده شد. پس از کنترل همگنی واریانس و

[1] Total protein
[2] Radioimmunoassay
[3] Completely Randomized Design

نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون Kolmogorov-Smirnov، نتایج هر گروه وزنی به وسیله آزمون واریانس یک طرفه One-Way ANOVA بررسی شد. آزمون Tukey به عنوان Post Hoc جهت مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. تمام آنالیزهای آماری در سطح معنی‌دار ۹۵٪ صورت گرفته (P<۰/۰۵) و تغییر میانگین داده‌ها به صورت Mean±SE نشان داده شد.

## ۳. نتایج

با توجه به جدول ۱ افزایش وزن ماهیان در تیمارهای اکسیژنی متفاوت اختلاف معنی‌دار قابل توجهی داشته و در هر دو اندازه وزنی کمترین میزان وزن متوسط ماهی در تیمار هیپوکسی و بیشترین میزان آن تیمار هیپراکسی مشاهده شد. لازم به ذکر است که این اختلاف در اندازه بزرگ چشم‌گیر بود، به‌طوری‌که اختلاف وزن متوسط ماهیان تیمارهای هیپوکسی و هیپراکسی در پایان دوره پرورش به ۴۴۸/۵۵ گرم رسید و در اندازه کوچک این اختلاف ۱۲۵/۲۲گرم بود. همچنین وزن نهایی در تیمارهای اکسیژنی در هر دو گروه وزنی و طول چنگالی در اندازه کوچک اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج بررسی پارامترهای هماتولوژیک و فاکتورهای بیوشیمیایی خون و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در ابتدای دوره در جداول ۲ و ۳ و نتایج این مطالعات در انتهای دوره پرورش در جداول ۴ و ۵ ذکر شده است. در پایان دوره پرورش در اندازه کوچک تنها در میزان هماتوکریت (HCT) و MCHC تیمارهای اکسیژن اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) و سایر پارامترها فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بودند (P>۰/۰۵). در اندازه بزرگ از میان پارامترهای خون، تنها RBC، MCV و نوتروفیل در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و در سایر پارامترها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جداول ۴ و ۵).

جدول ۱: اثر تیمارهای اکسیژن بر پارامترهای رشد (SE ± میانگین) فیل ماهی پس از ۸ هفته پرورش

| گروه وزنی | تیمار | وزن اولیه (g) | وزن نهایی (g) | طول چنگالی اولیه (cm) | طول چنگالی نهایی (cm) | بقا (٪) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | هیپوکسی | ۲۸۹/۹ ± ۱۲/۸ | ۳۹۶/۸±۱۴/۷ [b] | ۳۵/۲±۲/۲ | ۴۰/۲±۰/۶ [b] | ۱۰۰ |
| اندازه کوچک | نورموکسی | ۲۷۶/۹ ± ۱۱/۶ | ۴۹۰/۶±۲۸/۴ [a] | ۳۵/۹±۲ | ۴۲/۶±۰/۸ [a] | ۱۰۰ |
| | هیپراکسی | ۲۸۲/۹ ± ۱۱ | ۵۲۲ ± ۲۳/۳ [a] | ۳۶ ±۱/۷ | ۴۲/۲±۰/۴ [ab] | ۱۰۰ |
| | هیپوکسی | ۱۱۷۷/۲±۱۲۹/۳ | ۱۲۷۲/۸±۱۶۵/۵ [b] | ۵۵/۷±۲/۳ | ۵۸/۸±۲/۲ | ۱۰۰ |
| اندازه بزرگ | نورموکسی | ۱۱۹۴/۷±۱۵۴/۲ | ۱۴۲۰/۲±۲۰۱/۷ [b] | ۵۶/۲±۲/۶ | ۵۹/۹±۲/۹ | ۱۰۰ |
| | هیپراکسی | ۱۲۹۲/۹±۱۱۳/۹ | ۱۷۲۱/۴±۲۲۷/۴ [a] | ۵۵/۶±۲/۱ | ۵۹/۳±۳/۷ | ۱۰۰ |

حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۲: پارامترهای هماتولوژیک و فاکتورهای بیوشیمیایی خون (SE ± میانگین) در ابتدای دوره پرورش

| گروه وزنی | گلبول قرمز (تعداد در $mm^3$) | گلبول سفید (تعداد در $mm^3$) | هماتوکریت (٪) | هموگلوبین (g/dl) | پروتئین کل (g/dl) | اسمولالیته (mosm/l) | گلوکز (g/dl) | کورتیزول (ng/ml) | MCV (fl) | MCH (g/dl) | MCHC (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| اندازه کوچک | ۹۰۸۳۳۳/۳±۳۲۶۰۰۰/۳ | ۱۷۴۱۶/۷±۳۲۶۴/۵ | ۲۲/۸±۰/۷ | ۴/۲±۰/۲ | ۳ ±۰/۳ | ۲۸۶ ±۲/۹ | ۲۶/۵±۳/۱ | ۰/۱ | ۲۵۱/۸±۴/۲ | ۴۵/۸±۰/۸ | ۱۸/۲±۰/۳ |
| اندازه بزرگ | ۷۹۰۰۰۰ ±۹۲۹۱۵/۷ | ۱۴۱۶۶/۷±۴۴۱ | ۲۰ ±۱/۲ | ۳/۸±۰/۲ | ۳/۵±۰/۳ | ۲۹۱/۷±۱/۵ | ۵۴/۶±۸/۷ | ۰/۳ | ۲۵۹/۶±۳۱/۷ | ۴۸/۶±۳/۴ | ۱۹ ±۱/۵ |

جدول ۳: درصد افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونویست) (SE ± میانگین) در ابتدای دوره پرورش

| گروه وزنی | لنفوسیت (٪) | نوتروفیل (٪) | ائوزینوفیل (٪) | مونویست (٪) |
|---|---|---|---|---|
| اندازه کوچک | ۸۱/۲±۱/۳ | ۸/۲ ±۰/۹ | ۷/۳±۱/۵ | ۳/۲±۲ |
| اندازه بزرگ | ۸۰/۳±۵/۸ | ۱۲/۷±۳/۹ | ۶ ±۲/۱ | ۱ |

جدول ۴: اثر تیمارهای اکسیژن بر شاخص‌های هماتولوژیک و فاکتورهای بیوشیمیایی خون (SE ± میانگین) در پایان دوره پرورش در اندازه کوچک.

| گروه وزنی | تیمار | گلبول قرمز (تعداد در $mm^3$) | گلبول سفید (تعداد در $mm^3$) | هماتوکریت (٪) | هموگلوبین (g/dl) | پروتئین کل (g/dl) | اسمولالیته (mosm/l) | گلوکز (g/dl) | کورتیزول (ng/ml) | MCV (fl) | MCH (g/dl) | MCHC (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| اندازه | هیپوکسی | ۱۴۱۳۳۳۳/۳±۲۰۶۰۲۰/۵ | ۲۰۰۰۰±۳۵۸۲/۴ | ۳۱/۲±۰/۷ [a] | ۶/۸±۰/۳ | ۴/۲±۰/۸ | ۲۹۸/۲ ±۲/۲ | ۶۰ ±۲/۸ | ۰/۷±۰/۱ | ۲۳۱/۸±۳۰/۶ | ۵۲/۳±۶/۳ | ۲۱ ±۰/۹ [b] |
| کوچک | نورموکسی | ۱۰۵۱۶۶۶/۷±۱۰۷۴۳۷/۳ | ۲۵۳۳۳/۳±۱۳۵۲ | ۳۰ ±۱/۶ [a] | ۶/۵±۰/۴ | ۳/۶±۰/۲ | ۳۰۰/۳ ±۲/۵ | ۶۷ ±۴/۸ | ۰/۸±۰/۲ | ۲۶۹/۷±۱۹/۸ | ۶۵ ±۳/۹ | ۲۲/۸±۰/۴ [ab] |
| | هیپراکسی | ۹۶۵۰۰۰ ±۵۷۴۳۱/۱ | ۱۷۵۸۳/۳±۸۶۰/۴ | ۲۵/۵ ±۰/۶ [b] | ۶/۲±۰/۳ | ۳/۹±۰/۳ | ۲۹۷/۸ ±۱/۵ | ۶۲/۱ ±۵/۲ | ۰/۸±۰/۱ | ۳۱۵/۴±۳۷/۹ | ۶۷ ±۹/۹ | ۲۴/۳±۱ [a] |
| اندازه بزرگ | هیپوکسی | ۱۲۰۳۳۳۳/۳±۵۹۲۵۴/۶ [a] | ۱۳۵۰۰ ±۳۷۵۲/۸ | ۲۸ ±۱ | ۶/۹±۰/۵۶ | ۳/۴±۰/۲ | ۲۹۹/۶۷±۵/۳۶ | ۵۴/۵۹±۶/۲۱ | ۱/۹ ±۰/۳۷ | ۲۲۶/۶±۹/۵ [c] | ۴۰/۵±۳/۹ | ۲۰/۵±۲/۷ |
| | نورموکسی | ۷۸۳۳۳۳/۳±۱۷۶۳۸/۳ [b] | ۱۴۳۳۳/۳±۳۸۱۱/۵ | ۲۷/۳ ±۲/۱۹ | ۶/۷±۰/۳۲ | ۳/۶±۰/۳ | ۲۹۸/۶۷±۳/۵۳ | ۶۱/۹۴±۶/۱۱ | ۰/۸۳±۰/۱۸ | ۳۱۹/۵±۷/۳ [b] | ۵۵/۸±۲/۹ | ۲۳/۸±۰/۱ |
| | هیپراکسی | ۶۵۶۶۶۶/۷ [b] | ۱۶۷۵۰ ±۴۲۵۰ | ۲۵ | ۶/۱±۰/۰۳ | ۳/۴±۰/۴ | ۳۰۶ ±۱ | ۶۱/۱۸±۴/۵۶ | ۱/۶۵±۰/۲۵ | ۳۸۹/۲±۷/۱ [a] | ۷۶ ±۱/۳ | ۲۴/۷±۱/۵ |

حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۵: اثر تیمارهای اکسیژن بر درصد افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، مونویست) (SE± میانگین) در پایان دوره پرورش در اندازه بزرگ.

| گروه وزنی | تیمار | لنفوسیت | نوتروفیل | ائوزینوفیل | مونویست |
|---|---|---|---|---|---|
| | هیپوکسی | ۶۹/۸±۴/۶ | ۸/۷ ±۱/۲ | ۱۹/۸±۳/۷ | ۱/۷±۰/۲ |
| اندازه کوچک | نورموکسی | ۷۵ ±۳/۷ | ۸/۲ ±۰/۹ | ۱۵/۵±۳/۴ | ۱/۲±۰/۳ |
| | هیپراکسی | ۷۲ ±۴/۵ | ۱۲/۸±۲/۴ | ۱۳/۷ ±۳ | ۱/۵±۰/۲ |
| | هیپوکسی | ۷۷/۳ ±۴/۳ | ۶/۳ ±۰/۷ b | ۱۴/۷±۳/۹ | ۱/۷±۰/۷ |
| اندازه بزرگ | نورموکسی | ۷۲ ±۲/۵ | ۱۱ ±۲/۶ ab | ۱۵/۳±۰/۳ | ۱/۷±۰/۳ |
| | هیپراکسی | ۶۹/۵ ±۳/۵ | ۲۲ ±۵ a | ۴ ±۲ | ۳ ±۱ |

حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

## ۴. بحث و نتیجه‌گیری

در پایان دوره پرورش، میانگین وزنی ماهیان تیمار هیپراکسی به صورت معنی‌داری بالاتر از ماهیان تیمارهای هیپوکسی و نورموکسی بود. نتایج مطالعه حاضر مشابه نتایج مطالعاتی است که اشاره می‌کنند اشباعیت اکسیژن نزدیک ٪ ۱۰۰ و یا حتی بیشتر از آن برای رشد حداکثر نیاز است (Buentello et al., 2000; Crampton et al., 2003). مشابه این نتیجه در ماهی هالیبوت (*Hippoglossus hippoglossus* L.) مشاهده شد که با افزایش درصد اشباع اکسیژن از ۵۷ تا ۱۰۰٪ میزان رشد افزایش یافت (Thorarensen, et al., 2010). شواهد دیگری وجود دارد که هیپراکسی ملایم ممکن است رشد ماهیان را بهبود بخشد (Foss et al., 2003; Dabrowski et al., 2004; Hosfeld et al., 2008 درحالی‌که Person-Le Ruyet و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که در بچه‌ماهیان توربوت (*Scophthalmus maximus*) بعد از مواجهه با اکسیژن فوق اشباع به مدت ۳۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری در غذای مصرفی و رشد مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

در بررسی حاضر در هر دو گروه وزنی رشد ماهیان تیمار هیپوکسی به صورت معنی‌داری کمتر از تیمارهای نورموکسی و هیپراکسی بود. علت این امر می‌تواند کاهش تمایل ماهی به مصرف غذا در شرایط اکسیژن پایین و متعاقب آن رشد کمتر ماهیان در این شرایط باشد. مشابه این نتیجه در مطالعات انجام شده روی گونه‌های مختلف نیز به دست آمد و رشد در شرایط هیپوکسی کاهش یافت (Wang et al., 2009). در این راستا Rafatnezhad و Falahatkar (۲۰۱۱) عنوان کردند که غلظت اکسیژن مهم‌ترین فاکتور تاثیرگذار در تفاوت در رشد است بنابراین کاهش در محتوای اکسیژن می‌تواند بر رشد بچه فیل ماهیان اثر بگذارد. در مطالعه Tran-Duy و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهیان تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) با میانگین وزنی ۳۷ و ۱۹۰ گرم در غلظت اکسیژن محلول ۲/۸ و ۳/۲ میلی گرم در لیتر، کاهش رشد و مصرف غذا گزارش کردند که مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر است.

هیپوکسی یکی از فاکتورهای مهم استرس در ماهیان است که منجر به تغییر پارامترهای خونی (Muusze et al., 1996)، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود (Forster et al., 1992). در بررسی حاضر نیز با کاهش میزان اکسیژن، تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافته و میزان MCV، MCH و MCHC کاهش یافت. در مطالعه Moraes و همکاران (۲۰۰۲)، بعد از قرار گرفتن چاقو ماهی (*Gymnotus carapo*) در معرض هیپوکسی، در ساعت‌های اولیه میزان MCH به علت افزایش تعداد گلبول قرمز کاهش یافت. در سایر منابع نیز اعلام شده که هیپوکسی باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در حال گردش در ماهیان می‌شود که البته پاسخ‌ها در بین گونه‌های ماهی متفاوت است (Gallaugher and Farrell, 1998). این افزایش به علت آزاد شدن گلبول قرمز از طحال (در طی دقیقه‌ها یا ساعت-ها) و نیز به علت افزایش سطوح اریتروپویتین[1] (در طی روزها یا هفته‌ها) است. آزاد شدن گلبول‌های قرمز از طحال در ماهیان مواجه شده با هیپوکسی شدید به کار گرفته می‌شود (Yamamoto et al., 1985; Jobling, 1994). Weber و Lykkeboe (۱۹۷۸) تورم ۱۰ درصدی را در گلبول قرمز ماهی کپور معمولی در معرض هیپوکسی گزارش دادند. مشخص نیست که ماهیان چگونه به شرایط هیپوکسی سازگار می‌شوند، اما این امر ممکن است با ظرفیت حمل اکسیژن بالاتر خون با افزایش هماتوکریت مرتبط باشد (Taylor and Miller, 2001).

ماهیانی که در شرایط اکسیژن پایین زندگی می‌کنند ممکن است هموگلوبین بیشتری در گلبول قرمز و تعداد بیشتری گلبول قرمز در خونشان داشته و بنابراین ظرفیت خون بالاتری برای حمل اکسیژن داشته باشند (Reebs, 2009) و در بسیاری از ماهیان در پاسخ به هیپوکسی، گلبول قرمز برای حفظ pH درون سلولی متورم می‌شود (Nikinmaa and Salama, 1998). افزایش هماتوکریت و میزان هموگلوبین ماهیان مختلف، علل مختلف داشته و از پاسخ‌های ابتدایی ماهیان است و در واقع به آن‌ها این امکان را می‌دهد که از اکسیژن موجود در محیط حداکثر استفاده را داشته باشند (Swift, 1982). گمان می‌رود که افزایش هماتوکریت طی استرس در نتیجه

[1] *Erythropoietin*

بروز کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و یا آزاد شدن تعداد بیشتری گلبول قرمز از بافت‌های خون‌ساز به خون رخ دهد. تغییر هر یک از فاکتورهای فوق منجر به تغییر هماتوکریت شده و تنها تغییر در حجم پلاسما و آزاد شدن تعداد بیشتری گلبول قرمز قادر به تغییر غلظت هموگلوبین خون است (Swift, 1981; Fievet et al., 1987). در این راستا عنوان شده که افزایش هماتوکریت در لای ماهی (*Tinca tinca*) تنها به دلیل تورم گلبول‌های قرمز است، اما در ماهی قزل آلای رنگین کمان هم به علت آزاد شدن گلبول قرمز از طحال و هم به علت تورم گلبول‌های قرمز رخ می‌دهد. افزایش هماتوکریت اگر با افزایش هموگلوبین همراه نباشد و تنها با افزایش MCV همراه باشد، ناشی از تورم گلبول قرمز است. افزایش همزمان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز در ماهیان مقاوم به هیپوکسی کپور دریایی (*Diplodus annularis*) و سوف صخره‌ای (*Scorpaena porcus*) نشان‌دهنده آزاد شدن گلبول قرمز از اندام‌های ذخیره است (Silikin and Silikina, 2004). بنابراین با توجه به افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در بررسی حاضر، به نظر می‌رسد که فیل ماهی نیز برای مواجهه با شرایط هیپوکسی در آزاد کردن گلبول قرمز از اندام های ذخیره استفاده می‌کند. افزایش هماتوکریت و هموگلوبین در ماهیان فراوانی مانند ماهی مقاوم به هیپوکسی مانند خامه ماهی (*Fundulus heteroclitus*) (Greaney and Powers, 1978) و مار ماهی (*Anguilla anguilla*) (Wood and Johansen, 1972)، کپور معمولی (Lykkeboe and Weber, 1978) و همچنین در قزل‌آلای رنگین کمان (Swift and Liyold, 1974; Swift, 1982) گزارش شده است.

در این بررسی اختلاف معنی‌داری میان میزان اسمولالیته خون در هیچ یک از دو گروه وزنی مشاهده نشد و این مشابه مطالعه Pichavant و همکاران (۲۰۰۰) است که اسمولالیته به وسیله موقعیت هیپوکسی تحت تاثیر قرار نگرفت.

در بررسی حاضر در هیچ یک از دو گروه وزنی اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اکسیژن مشاهده نشد که با هایپرگلایسمیا (افزایش قند خون) گزارش شده در طی هیپوکسی در اکثر ماهیان مانند قزل‌آلا (Van Raaij et al., 1996) متفاوت است. Wedemeyer و همکاران (۱۹۹۰) افزایش سطوح گلوکز را از مهم‌ترین پاسخ‌های ثانویه در ارتباط با بالارفتن میزان کورتیزول بیان کردند. گلوکز از جمله منابع مهم تامین انرژی در بافت‌های مختلف بدن محسوب می‌گردد و افزایش تولید گلوکز به منظور رفع افزایش نیاز بافت‌ها به انرژی جهت مقابله با استرس است. هورمون کورتیزول و کتکول‌آمین‌ها به تنهایی و به صورت توام منجر به افزایش تولید گلوکز در ماهیان و بروز پدیده هایپرگلایسمیا می‌شوند. در حالت کلی هیپوکسی به عنوان یکی از شرایط استرس‌زا معرفی شده است که منجر به آزادشدن هورمون‌های استرس از جمله آدرنالین، نورآدرنالین (Boutilier et al., 1987; Van Raaij et al., 1996) و کورتیزول (Van Raaij et al., 1996) می‌گردد. این هورمون‌ها در دسترس بودن گلوکز را افزایش می‌دهند (Leach and Taylor, 1982). در بررسی حاضر در پایان دوره پرورش در میزان کورتیزول تیمارها در دو گروه وزنی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). در اندازه کوچک، میزان کورتیزول تیمارها مشابه بود اما در اندازه بزرگ، تیمار هیپوکسی نسبت به دو گروه دیگر کورتیزول بالاتری داشت. با توجه به نتیجه مطالعه Shimps و همکاران (۲۰۰۵) که اندازه روی مقاومت به هیپوکسی تاثیر داشت، نتیجه بررسی حاضر مشابه ماهی منهادن در بررسی فوق است که ماهیان بزرگتر مقاومت کمتری در مقابل هیپوکسی داشته در حالی‌که در ماهی Spot عکس این مساله مشاهده شد.

کورتیزول یکی از شاخص‌های اصلی برای مشخص کردن استرس در ماهیان استخوانی است (Donaldson, 1987; Barton and Iwama,1991). اگرچه ماهیان خاویاری به عنوان ماهیان قدیمی شناخته شده‌اند، اما مانند ماهیان استخوانی پاسخ‌های سازگاری مشابهی در برابر موقعیت‌های هیپوکسی نشان می‌دهند. در مطالعه Maxime و همکاران (۱۹۹۵) روی تاسماهی سیبری، هیپوکسی شدید سبب استرس مشخصی شده و سطوح کاتکول آمین و کورتیزول بالایی مشاهده شد. افزایش کورتیزول پلاسما در طی هیپوکسی در اغلب گونه ماهیان گزارش شده است (Van Raaij et al., 1996). از سوی دیگر در برخی مطالعات از جمله مطالعه Pichavant و همکاران (۲۰۰۰) و Person-LeRuyet و همکاران (۲۰۰۳) روی ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) و همچنین در ماهی Sole (*Solea solea*) (Dalla Via et al., 1994; Thillart van den et al., 1994) هیچ تغییر عمده‌ای در وضعیت فیزیولوژیک ماهی ایجاد نشده و هیچ نشانه‌ای از استرس در تیمارهای اکسیژنی مشاهده نشد.

با مقایسه نتایج واکنش *Acipenser naccarii* (Randall et al., 1982) و همچنین مطالعات روی سایر ماهیان، به نظر می‌رسد که ماهیان خاویاری توانایی بالایی برای مقابله با شرایط کمبود

اکسیژن دارند (Maxime et al., 1995). از آن جایی که در بررسی حاضر مدت مواجه شدن ماهیان با موقعیت‌های مختلف اکسیژنی ۸ هفته بوده که به نوعی استرس مزمن تلقی می‌گردد و همچنین با توجه به توانایی بالای فیل ماهی در سازگار شدن با شرایط پرورش، به نظر می‌رسد علت اصلی عدم مشاهده اختلاف در میزان گلوکز و کورتیزول تیمارها در پایان دوره پرورش، سازگار شدن با شرایط اکسیژنی موجود باشد.

## منابع


عبد ا... مشایی، م.، ۱۳۷۹. فیزیولوژی ماهی در سیستم‌های پرورش متراکم (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش آبزیان- اداره کل آموزش و ترویج. ۳۰۲ صفحه.

Baker, D.W.; Wood, A.M.; Kieffer, J.D., 2005. Juvenile Atlantic and Shortnose Sturgeons (Family: Acipenseridae) have different hematological responses to acute environmental hypoxia. Physiological and Biochemical Zoology, 78: 916-925.

Barton, B.A.; Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effect of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1: 3-26.

Boutilier, R.G.; Dobson, G.; Hoeger, U.; Randall, J., 1987. Acute exposure to graded levels of hypoxia in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): metabolic and respiratory adaptations. Respiratory Physiology, 71: 69-82.

Boyd, C.E., 1982. Water quality management for pond fish culture. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, the Netherlands, 318 PP.

Brett, J.R.; Groves, T.D.D.; 1979. Physiological energetics. In Fish Physiology, Vol. VIII, (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Brett, J.R., eds), New York: Academic Press. 279-352 PP.

Buentello, J.A.; Gatlin, D.M.; Neill, W.H., 2000. Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 182: 339-352.

Burggern, W.W.; Randall, D.J., 1978. Oxygen uptake and transport during hypoxic exposure in the sturgeon *Acipenser transmontanus*. Respiration Physiology, 34: 171-183.

Crampton, V.; Holland, P.M.; Bergheim, A.; Gausen, M.; Næss, A., 2003. Oxygen effects on caged salmon. Fish Farming International, 1: 26-27.

Dabrowski, K.; Lee, K.J.; Guz, L.; Verlhac, V.; Gabaudan, J., 2004. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 233: 383-392.

Dalla Via, J.; van den Thillart, G.; Cattani, O.; de Zwaan, A., 1994. Influence of long-term hypoxia exposure on the energy metabolism of *Solea solea*. II. Intermediary metabolism in blood, liver and muscle. Marine Ecology Progress Series, 111: 17-27.

Donaldson, E.M., 1987. The pituary-internal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D: Stress in Fish. Academic Press, London. 7: 11-47.

Fievet, B.; Motais, R.; Thomas, S., 1987. Role of adrenergic-dependent H release from red cells in acidosis induced by hypoxia in trout. American Journal of Physiology, 13: R269-R275.

Forster, M.E.; Davison, W.; Axelsson, M.; Farrel, A.P.P., 1992. Cardiovascular response to hypoxia in the hagfish, *Eptatretus cirrhatus*. Respiration Physiology, 3: 373-386.

Foss, A.; Vollen, T.; Øiestad V., 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O2 supersaturated water, and interactive effects of O2 saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen). Aquaculture, 224: 105-116.

Gallaugher, P.; Farrell, A.P., 1998. Hematocrit and blood oxygen-carying capacity. Fish Physiology Vol. 17, Fish Respiration. Academic Press, San Diego, 101: 185-227.

environmental hypoxia. Brazilian Journal of Biology, 62: 633-640.

Muusze, B.; Marcon, J.; Van den Thillaret, G.; Almeida-Val, V., 1996. Hypoxia tolerance of amazon fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 120: 151-156.

Nikinmaa, M.; Salama, A., 1998. Oxygen transport in fish. Fish physiology vol. 17, Fish Respiration. Academic Press, san Diego, 17: 141-184.

Nonnotte, G.; Maxime, V.; Truchot, J.P.; Williot, P.; Peyraud, C., 1993. Respiratory responses to progressive ambient hypoxia in the sturgeon, *Acipenser baeri*. Respiration Physiology, 91: 71-82.

Olsvik, P.A.; Kristensen, T.; Waagbø, R.; Tollefsen, K.E.; Rosseland, B.O.; Toften, H., 2006. Effects of hypo- and hyperoxia on transcription levels of five stress genes and the glutathione system in liver of Atlantic cod *Gadus morhua*. The Journal of Experimental Biology, 209: 2893-2901.

Person-Le Ruyet, J.; Lacut, A.; Le Bayon, N.; Le Roux, A.; Pichavant, K.; Quemener, L., 2003. Effects of repeated hypoxic shocks on growth and metabolism of turbot juveniles. Aquatic Living Resources, 16: 25-34.

Pichavant, K.; Person-Le-Ruyet, J.; Le Bayon, N.; Severe, A.; Le Roux, A.; Quemener, L.; Maxime, V.; Nonnotte, G.; Boeuf, G., 2000. Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot. Aquaculture, 188: 103-114.

Rafatnezhad, S.; Falahatkar,B., 2011. Nitrogenous compounds and oxygen concentration as the key density dependent factors to optimize growth of beluga, *Huso huso* (Actinopterygii: Acipenseriformes: Acipenseridae), in circular fiberglass tanks. Acta Ichthyologica Et Piscatoria, 41: 285-291.

Randall, D.J., 1982. The control of respiration and circulation in fish during hypoxia and exercise. Journal of Experimental Biology, 100: 275-288.

Greaney, G.S.; Powers, D.A., 1978. Allostric modifiers of fish hemoglobins: in vitro and in vivo studies on the effect of ambient oxygen and pH on erythrocyte ATP concentrations. Journal of Experimental Zoology, 203: 339-349.

Hosfeld, C.D.; Engevik, A.; Mollan, T.; Lunde, T.M.; Waagbø, R.; Olsen, A.B.; Breck, O.; Stefansson, S.; Fivelstad, S., 2008. Long-term separate and combined effects of environmental hypercapnia and hyperoxia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. Aquaculture, 280: 146-153.

Jobling, M., 1994. Fish Bioenergetics. Chapman & Hall, London, Vol. XIV, 309 PP.

Jobling, M., 1995. Environmental biology of fishes. Chapman and Hall Fish and fisheries series, 16: 1-35.

Klinger, R.C.; Blazer, V.S.; Echevarria, C., 1996. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 147: 225-233.

Leach, G.J.; Taylor, M.H., 1982. The effect of cortisol treatment on carbohydrate and protein metabolism in *Fundalus heteroclitus*. General and Comparative Endocrinology, 48: 76-83.

Lu, G.; Mak, Y.T.; Wai, S.M.; Kwong, W.H.; Fang, M.; James, A.; Randall., D.; Yew, DT., 2005. Hypoxia-induced differential apoptosis in the central nervous system of the sturgeon (*Acipenser shrenckii*). Microscopy Research and Technique, 68: 258-63.

Mallya, Y.J., 2007. The effects of dissolved oxygen on fish growth in aquaculture. UNU-Fisheries Training Programme. Final Project, 75-92.

Maxime, V.; Nonnotte, G.; Peyraud, C.; Williot, P.; Truchot, J.P., 1995. Circulatory and respiratory effects of an hypoxic stress in the *Siberian sturgeon*. Respiration Physiology, 100: 203-212.

Moraes, G.; Avilez, I.M.; Altran, A.E.; Barbosa, C.C., 2002. Biochemical and hematological response of the banded knife fish (*Gymnotus carapo*) exposed to

Progress Series, 104: 109-117.

Thomas, S.L.; Piedrahita, R.H., 1997. Oxygen consumption rates of white sturgeon under commercial culture conditions. Aquacultural Engineering, 16: 227-237.

Thorarensen, H.; Gustavsson, A.; Mallya, Y., 2010. The effect of oxygen saturation on the growth and feed conversion of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 309: 96-102.

Timmons, M.B.; Ebeling, J.M.; Wheaton, F.W.; Summerfelt, S.T.; Vinci, B.J., 2001. Recirculating aquaculture systems. NRAC Publication, Cayuga Aqua Ventures, Ithaca, 34: 151-154.

Tom, L., 1998. Nutritional and feeding of fish. Kluwer Academic Publishers. Second edition Boston, USA, 267 PP.

Tran-Duy, A.; Johan, W.; Schrama, A.; van Dam, A.; Verreth, J.A.J., 2008. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 275: 152-162.

Van Raaij, M.T.M.; Van den Thillart, G.; Vianen, G.J.; Pit, D.S.S.; Balm, P.H.M.; Steffens, A.B., 1996. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during stepwise decreasing oxygen levels. Netherlands Journal of Zoology, 51: 33-50.

Wang, T.; Lefevre, S.; Huong, D.T.T.; Cong, N.V.; Bayley, M., 2009. Effects of hypoxia on growth and digestion. In: Richards, J., Brauner, C.J., Farrell, A.P. (Eds.), Fish Physiology, Vol. 27. Academic Press, San Diego, CA, 361-396 PP.

Weber, R.E.; Lykkeboe, G., 1978. Respiratory adaptations in carp blood, Influence of hypoxia, red cell organic phosphatase, divalent cation and CO2 on hemoglobin-oxygen affinity. Journal of Comparative Physiology, 128: 127-137.

Reebs, S.G., 2009. Oxygen and fish behavior, Université de Moncton, Canada. Available at: www. howfishbehave.ca.

Ruer, P.; Cech, J.R.; Doroshov, J.J.S., 1987. Routine metabolism of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*: Effect of population density and hypoxia. Aquaculture, 62: 45-52.

Shimps, E.L.; Rice, J.A.; Osborne, J.A., 2005. Hypoxia tolerance in two juvenile estuary-dependent fishes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 325: 146-162.

Silikin, Yu.N.; Silikina, E.N., 2004. Effect of hypoxia on physiological-biochemical blood parameters in some marine fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 10: 527-532.

Swift, D.J., 1981. Changes in selected blood component concentration in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, exoposed to hypoxia or sublethal concentrations of phenol or ammonia. Journal of Fish Biology, 19: 45-61.

Swift, D.J., 1982. Changes in selected blood component concentrations of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, following the blocking of the cortisol stress response with betamethasone and subsequent exposure to phenol or hypoxia. Journal of Fish Biology, 21: 269-277.

Swift, D.J.; Liyold, R., 1974. Changes in urine flow rate and haematocrit value of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to hypoxia. Journal of Fish Biology, 6: 379-387.

Taylor, J.C.; Miller, J.M., 2001. Physiological performance of juvenile southern flounder, *Paralychthys lethostigma* (Jordan and Gilber 1884), in chronic and episodic hypoxia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 258: 195-214.

Thillart van den, G.; Dalla Via, J.; Vitali, G.; Cortesi, P., 1994. Influence of long-term hypoxia exposure on the energy metabolism of *Solea solea*. I. Critical O2 levels for aerobic and anaerobic metabolism. Marine Ecology

Wedemeyer, G.A., 1996. Interactions with water quality conditions in physiology of fish in intensive culture systems. Chapman and Hall, New York, 302 PP.

Wedemeyer, G.A.; Barton, B.A.; Mcleay, D.J., 1990. Stress and acclimation. In: Shreck, C.B., Moyler, P.B., methods for fish biology. American fisheries society. U.S.A, 451-477 PP.

Wood, S.C.; Johansen, K., 1972. Adaptation to hypoxia by increased HbO2 affinity and decreased red cell ATP concentration. Nature, 237: 278-279.

Yamamoto, K.; Itazawa, Y.; Kobayashi, H., 1985. Direct observation of fish spleen by an abdominal window and its application to exercised and hypoxic yellowtail. Japanese Journal of Ichthyology, 31: 427-433.