اثر گرسنگی بر تغییر الکترولیت‌های بدن بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) طی سازگاری با آب شور

محمد محیسنی[1*]، سیدمحمدوحید فارابی[2]، مهدی بنایی[1]، بهزاد نعمت دوست حقی[1]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان، بهبهان، ایران، صندوق پستی: ۴۷۱۸۹-۶۳۶۱۶

۲- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران، صندوق پستی: ۹۶۱

تاریخ دریافت: ۲۲ خرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۲۸ آبان ۱۳۹۵

چکیده

سازش‌پذیری با آب شور یک فرآیند بسیار مهم، حساس و انرژی‌خواه در حیات بچه ماهیان رودکوچ محسوب می‌شود. در نتیجه این فرآیند غلظت الکترولیت‌های بدن ماهی در محدوده نرمال نگه داشته شده و از تغییرات شدید آن‌ها جلوگیری می‌شود. این تحقیق با هدف بررسی اثر محرومیت غذایی بر تغییر الکترولیت‌های بدن بچه ماهیان سفید در زمان سازش‌پذیری با آب شور انجام شده است. بدین منظور بچه ماهیان با وزن تقریبی نیم گرم به دو گروه تقسیم‌بندی شدند: در یک گروه (گروه کنترل) در تمام طول دوره آزمایش غذادهی در حد سیری ظاهری انجام گردید و در گروه دیگر بچه ماهیان تحت تأثیر تیمار گرسنگی قرار گرفتند. بچه ماهیان به مدت ۷ روز در معرض تنش شوری (۱۲ گرم در لیتر) قرار گرفته و نمونه‌برداری از بچه ماهیان در روزهای دوم، سوم، چهارم و هفتم پس از تنش شوری انجام شد. در نهایت میزان گلوکز و پروتئین کل بدن، فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی و یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم و کلسیم عصاره بدن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در گروه بچه ماهیان گرسنه (تغذیه نشده) سطح گلوکز و پروتئین کل بدن، میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی و سطح یون‌های پتاسیم و کلسیم کاهش و میزان یون‌های سدیم و کلر افزایش یافت ($P<0/05$). برآیند نتایج به دست آمده از این بررسی حاکی از عدم موفقیت بچه ماهیان گرسنه در سازش‌پذیری با آب شور بود.

کلمات کلیدی: محرومیت غذایی، تنظیم یونی، سازگاری با آب شور، بچه ماهی سفید.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Mohiseni@ut.ac.ir

مقدمه

تطبیق‌پذیری با آب شور و حفظ هومئوستازی محیط داخلی بدن، یک مرحله بسیار مهم و حساس در حیات ماهیان رودکوچی نظیر بچه ماهیان سفید در زمان ورود به دریا می‌باشد. در نتیجه این امر، محتوا و ترکیب یونی پلاسما (به ویژه یون‌های سدیم، پتاسیم و کلر)، هورمون‌ها و ساختارهای بیوشیمیایی بدن دستخوش تغییرات عمده‌ای می‌گردند (Lerner *et al*., 2007a). یون‌های سدیم و کلر، الکترولیت‌های عمده مایعات بدن ماهیان را تشکیل داده و تنظیم این دو یون در فرایند تنظیم فشار اسمزی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Kaneko *et al*., 2008). در ساعات اولیه پس از مواجهه ماهیان استخوانی و غضروفی- استخوانی با افزایش شوری آب، به دلیل عدم آمادگی اندام‌های درگیر در تنظیم اسمزی و یونی (به خصوص آبشش و کلیه) در دفع املاح، یون‌ها از محیط خارج به بدن آن‌ها داخل می‌شوند. این امر سبب افزایش یون‌ها و اسمولاریته خون ماهیان می‌گردد (Marshall *et al*., 1999). ضمناً به همراه این تغییرات، بدلیل نفوذپذیری زیاد بدن و در کنار آن عدم آمادگی اندام‌های دفع کننده مایعات (کلیه‌ها)، آب از بدن ماهیان خارج می‌گردد و این امر سبب کاهش آب بافت‌های بدن آن‌ها می‌شود (Handeland *et al*., 1998). تنظیم میزان آب بدن و جلوگیری از کاهش شدید آب بدن توسط ترشحات هورمونی تعدیل می‌گردد. کورتیزول مهم‌ترین هورمون در تنظیم اسمزی ماهیان رودکوچ در زمان مهاجرت از آب شیرین به آب شور می‌باشد. عملکرد این هورمون موجب افزایش قابلیت تحمل شوری، افزایش فعالیت آنزیم پمپ سدیم- پتاسیم آبششی (NaK-ATPase) و تغییر در شکل و تعداد سلول‌های کلراید در گونه‌های مختلف ماهیان می‌گردد. کاهش در سطح پایه این هورمون موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در ترشح سدیم و همچنین کاهش فعالیت آنزیم پمپ سدیم- پتاسیم گشته و از این رو میزان ورود سدیم به بدن ماهی افزایش می‌یابد (Dean *et al*., 2003).

ظرفیت سازش‌پذیری ماهیان استخوانی یوری هالین نسبت به تغییر در شوری محیط به عوامل متعددی نظیر محتوای انرژی بدن ماهی و میزان انرژی مورد نیاز وابسته است. انرژی مورد نیاز برای سازش با محیط معلول میزان شوری آب و همچنین مقدار انرژی است که می‌بایست توسط موجود صرف شود تا محتوای الکترولیت‌های داخلی بدن ماهی دستخوش تغییرات شدید نگردد (Sangiao-Alvarellos *et al*., 2005). از این رو سازش با آب شور یک فرآیند انرژی خواه بوده و موفقیت در این فرآیند به تغییر مؤثر در نرخ سوخت و ساز ماهی جهت جبران تغییرات شوری مرتبط می‌باشد. حفظ هومئوستازی انرژی در زمان گرسنگی مستقیماً با ظرفیت انتقال انرژی از طریق منابع ذخیره نظیر چربی‌ها و گلیکوژن کبدی (دست کم در مراحل ابتدایی گرسنگی) ارتباط دارد (Polakof *et al*., 2006). پس از اتمام ذخایر انرژی، ماهی توانایی لازم جهت سازش با محیط را از دست داده و استرس شدیدی به ماهی وارد می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهند که گرسنگی در بچه ماهیان رهسپار شونده به سوی دریا موجب عدم عملکرد مناسب اندام‌های درگیر در سازش با آب شور شده و در نتیجه برآیند نهایی این مسئله عدم موفقیت کامل بچه ماهی در سازش با آب شور خواهد بود که به شدت از بازگشت شیلاتی آن‌ها می‌کاهد (Stefansson *et al*., 2009). نتایج مطالعات متعدد حاکی از اثر منفی

گرسنگی بر موفقیت در سازگاری با آب شور در گونه‌های مختلف ماهیان می‌باشد. Juell و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که آزادماهیان رهسپار شونده به دریا در زمان سازش با آب شور به شکل بالقوه‌ای نسبت به گرسنگی حساس هستند. کاهش در محتوای گلیکوژنی کبد و همچنین کاهش میزان چربی‌های ذخیره‌ای بدن در ماهی آزاد اقیانوس اطلس در زمان سازش با آب شور گزارش شده است (Stefansson *et al.*, 2003). گرسنگی در ماهی سیم دریایی موجب کاهش توانایی ماهی در تطبیق پذیری با آب شور گردید (Polakof *et al.*, 2006). همچنین گرسنگی در زمان سازش با آب شور در اسمولت‌های ماهی آزاد اطلس موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی و افزایش قابل توجه غلظت یون کلرید پلاسما در مقایسه با گروه شاهد شد (Stefansson *et al.*, 2009). نتایج مشابهی در خصوص سایر گونه‌های دیگر ماهیان استخوانی نظیر تیلاپیای موزامبیکی (Kultz and Jurss, 1991) و قزل آلای رنگین کمان (Nance *et al.*, 1987) گزارش شده است.

ماهی سفید دریای خزر یک گونه رودکوچ است که بومی بخش‌های جنوبی دریای خزر بوده و به دلیل اهمیت بالای اقتصادی و بوم شناختی این ماهی، سازمان شیلات ایران، سالانه هزینه قابل توجهی را به تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان به رودخانه‌های شمال کشور در راستای حفظ ذخایر این ماهی با ارزش صرف می‌نماید (عبدالملکی، ۱۳۸۵). متاسفانه طی سال‌های اخیر علیرغم تداوم انجام این فعالیت‌های بازسازی، ذخایر این ماهی کاهش یافته است که آمار سالانه صید موید این مطلب می‌باشد. در ارتباط با شرایط و جنبه‌های مختلف اثرگذار بر تکثیر مولدین این ماهی و همچنین پرورش آن‌ها در استخرهای خاکی تا زمان رسیدن به وزن مطلوب جهت رهاسازی به رودخانه‌ها مطالعات گوناگونی انجام شده است (واردی و فضلی، ۱۳۸۴؛ فارابی و همکاران، ۱۳۸۶؛ امیری و همکاران، ۱۳۸۷؛ عطایی مهر، ۱۳۸۹). اما متاسفانه از وضعیت بچه ماهیان پس از رهاسازی در رودخانه‌ها اطلاع دقیق و مدونی در دست نیست. با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص سرنوشت بچه ماهیان رهاسازی شده به مصب رودخانه‌ها و چگونگی سازش آنان با آب لب‌شور، بررسی مولفه‌های گوناگون اثرگذار در این مورد نیازمند مطالعات دقیق‌تری می‌باشد. با عنایت به اینکه سازش با آب لب‌شور فرآیندی انرژی‌خواه می‌باشد، لذا بررسی نقش تغذیه بچه ماهیان در موفقیت آنان در تغییرات فیزیولوژیکی موفق جهت سازگاری با محیط دریا، به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر این پدیده ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به این مسئله و نظر به اهمیت اقتصادی و بوم شناختی ماهی سفید و همچنین کاهش ذخایر این ماهی علیرغم انجام تکثیر مصنوعی و رهاسازی سالانه ماهی به رودخانه‌های شمال کشور، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر محرومیت غذایی بر موفقیت بچه ماهیان سفید در سازش با آب شور بر مبنای تغییر سطح الکترولیت‌های بدن انجام شده است.

مواد و روش‌ها

سازش سازی و تیماربندی ماهیان

در این پژوهش از بچه ماهیان سفید با وزن تقریبی ۰/۵ گرم (وزن معمول رهاسازی بچه ماهیان) استفاده شد. بچه ماهیان به دو گروه کنترل و آزمایشی تقسیم

گردیدند. هر دو گروه به مدت ۱۵ روز، جهت انجام سازش پذیری با شرایط آزمایش نگهداری شده و در طول این مدت به میزان ۲ درصد وزن بدن با خوراک مرحله آغازین ماهی قزل آلای رنگین کمان (بیومار، فرانسه) تغذیه شدند (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005). تعویض آب به صورت روزانه و به میزان ۳۰ درصد حجم آب مخازن نگهداری بود. پس از اتمام دوره سازگاری، بچه ماهیان هر دو گروه به طور همزمان به آب با شوری ۱۲ گرم در لیتر (شوری غالب بخش جنوبی دریای خزر) انتقال داده شدند. آب شور مورد استفاده در این بررسی از فاصله یک کیلومتری خط ساحلی (به سمت دریا) در منطقه فرح آباد شهرستان ساری تهیه شد. تنش شوری در بچه ماهیان به مدت ۷ روز به طول انجامیده و طی این مدت بچه ماهیان گروه کنترل (تغذیه شده) تا حد سیری با غذای یاد شده تغذیه شده اما در مورد گروه آزمایشی (بچه ماهیان گرسنه) تا انتهای دوره آزمایش غذادهی انجام نشد. هر دو گروه آزمایشی و کنترل با سه تکرار انجام شدند.

نمونه‌برداری و سنجش‌های یونی و آنزیمی

نمونه برداری از ماهیان در روزهای دوم، سوم، چهارم و هفتم پس از شروع تنش شوری صورت گرفت. جهت سنجش فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبشش (Na^+K^+-ATPase)، پس از بیهوش نمودن ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک و نخاعی کردن آن‌ها، تیغه‌های آبششی سمت چپ برداشته شده و در بافر SEI (شامل ۲۵۰ میلی مول ساکارز، دی سدیم اتیلن دی آمین ترا استات یا EDTA ۱۰ میلی مولار، ایمیدازول ۵۰ میلی‌مولار با pH=7.3) قرار داده شده و بلافاصله در ازت مایع منجمد شدند (Lerner *et al*, 2007a). سنجش میزان گلوکز بدن با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (ایران) و به روش فتومتری انجام شد (Handy and Depledge, 1999). سنجش میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر در طول موج ۳۴۰ نانومتر و به شیوه ریز آزمایش[1] طبق روش برگ میر (Bergmeyer) انجام گردید (Schultz and Jakobs, 1984) و برای سنجش میزان پروتئین کل بدن و آبشش از روش لوری (تغییر داده شده برای استفاده در میکروپلیت ریدر) استفاده شد (Lowry *et al.*, 1951). به منظور اندازه‌گیری یون‌های بدن از هموژن کردن عصاره بدن با استفاده از هموژنایزر (مدل Buch and Holm، دانمارک) استفاده شد. بدین منظور نمونه-های برداشته شده به صورت ماهی کامل در آب مقطر دوبار تقطیر هموژن شده و پس از سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰g و به مدت ۱۰ دقیقه) از عصاره به دست آمده جهت اندازه‌گیری یون‌ها استفاده شد (Ramsay *et al.*, 2006; Prodocimo *et al.*, 2007). اندازه‌گیری میزان یون‌های سدیم و پتاسیم با روش اسپکتروسکوپی نشری شعله‌ای بوسیله دستگاه فلیم فتومتر[2] (ساخت شرکت شروود[3] انگلستان) و کلسیم نمونه‌ها با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون (ایران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biochrom libra S22، انگلستان) انجام شد (Handy and Depledge, 1999). اندازه-گیری یون کلر به روش رنگ سنجی و با استفاده از تیتراسیون با نیترات نقره انجام شد.

1 Microassay
2 Flame Photometer
3 Sherwood

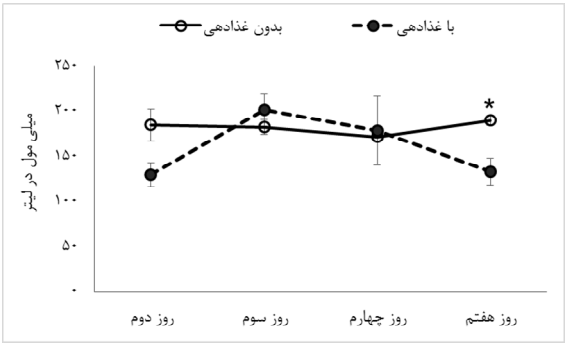
تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده پس از بررسی نرمال بوده داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و مقایسه نتایج حاصله با استفاده از آزمون t مستقل انجام شد. به منظور بررسی همبستگی بین فاکتورهای اندازه‌گیری شده نیز از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

نتایج

شکل‌های ۱ تا ۴ تغییرات یونی را در دو گروه آزمایشی طی دوره ۷ روزه تنش شوری نشان می‌دهند. در ارتباط با یون سدیم در گروه بچه ماهیان گرسنه افزایش محسوسی در محتوای یون سدیم عصاره بدنی تا پایان دوره تنش دیده شد. میزان افزایش در روزهای دوم و هفتم پس از تنش شوری اختلاف معنی‌داری را با گروه بچه ماهیان تغذیه شده نشان داد. در گروه بچه ماهیان تغذیه شده برخلاف گروه قبلی روند کاهشی در میزان یون سدیم بدن دیده شد (شکل ۱).

شکل ۱: مقایسه الگوی تغییرات میزان یون سدیم (میلی مول در لیتر) در عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

در ارتباط با یون کلر (شکل ۲) در گروه بچه ماهیان گرسنه تغییر خاصی دیده نشده و میزان این یون تا روز هفتم به شکل تقریباً ثابتی باقی ماند. در گروه بچه ماهیان تغذیه شده تا روز سوم پس از تنش روند افزایشی در محتوای یون کلر دیده شده اما پس از آن تا روز هفتم میزان یون به شکل محسوسی کاهش یافته و اختلاف معنی‌داری را با گروه بچه ماهیان گرسنه نشان داد ($P<۰/۰۵$).

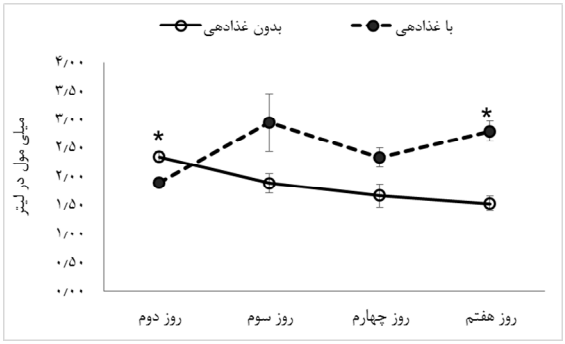


شکل ۲: مقایسه الگوی تغییرات میزان یون کلر (میلی مول در لیتر) در عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

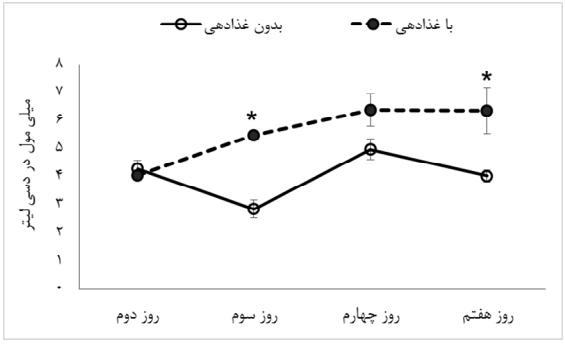
الگوی تغییرات یون پتاسیم روند افزایشی را تا روز هفتم پس از تنش شوری در گروه بچه ماهیان تغذیه شده نشان داد. در مورد بچه ماهیان گرسنه برخلاف گروه قبلی تا پایان آزمایش روند کاهشی در سطح این یون دیده شد (شکل ۳) و در روزهای دوم و هفتم پس از تنش اختلاف معنی‌دار میان دو گروه مشاهده شد.

در خصوص یون کلسیم نیز رویه تقریباً مشابهی با یون پتاسیم دیده شد. در گروه بچه ماهیان گرسنه سطح این یون تا روز هفتم علیرغم نوسانات جزیی تغییر خاصی را نشان نداد اما در مورد بچه ماهیان تغذیه شده

میزان یون کلسیم تا پایان دوره آزمایش روند افزایشی داشته و در روزهای سوم و هفتم پس از شروع تنش شوری افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه بچه ماهیان گرسنه نشان داد (شکل ۴).

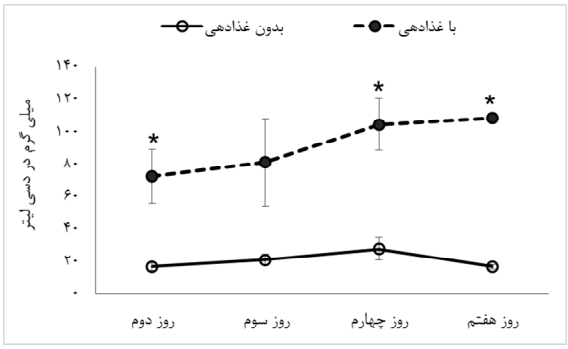


شکل ۳: مقایسه الگوی تغییرات میزان یون پتاسیم (میلی مول در لیتر) در عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد (P<۰/۰۵).

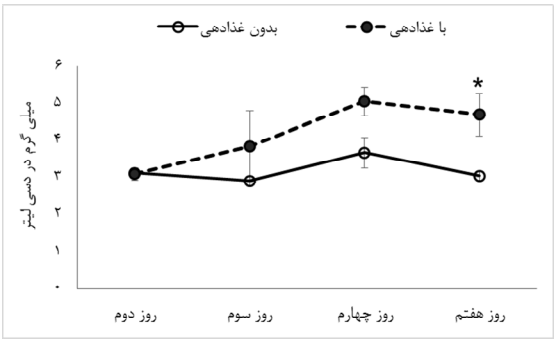


شکل ۴: مقایسه الگوی تغییرات میزان یون کلسیم (میلی مول در دسی لیتر) در عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد (P<۰/۰۵).

الگوی تغییرات میزان گلوکز عصاره بدن در شکل ۵ نشان داده شده است. میزان گلوکز عصاره بدن در بچه ماهیان تغذیه شده در طول دوره آزمایش در تمامی زمان‌های مورد بررسی بیش از گروه تغذیه نشده بوده و در روزهای دوم، چهارم و هفتم اختلاف معنی‌داری را نشان داد. بررسی الگوی تغییرات پروتئین کل عصاره بدن در بچه ماهیان تغذیه نشده تغییر چندانی نداشت این در حالی است که در گروه تغذیه شده روند افزایشی واضحی تا روز هفتم پس از تنش شوری مشاهده شده و در روز هفتم پس از تنش شوری اختلاف معنی‌داری با گروه بچه ماهیان گرسنه نشان داد (شکل ۶). نتایج همبستگی مثبتی را بین میزان پروتئین کل و گلوکز بدن و فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی نشان داد (شکل ۸).



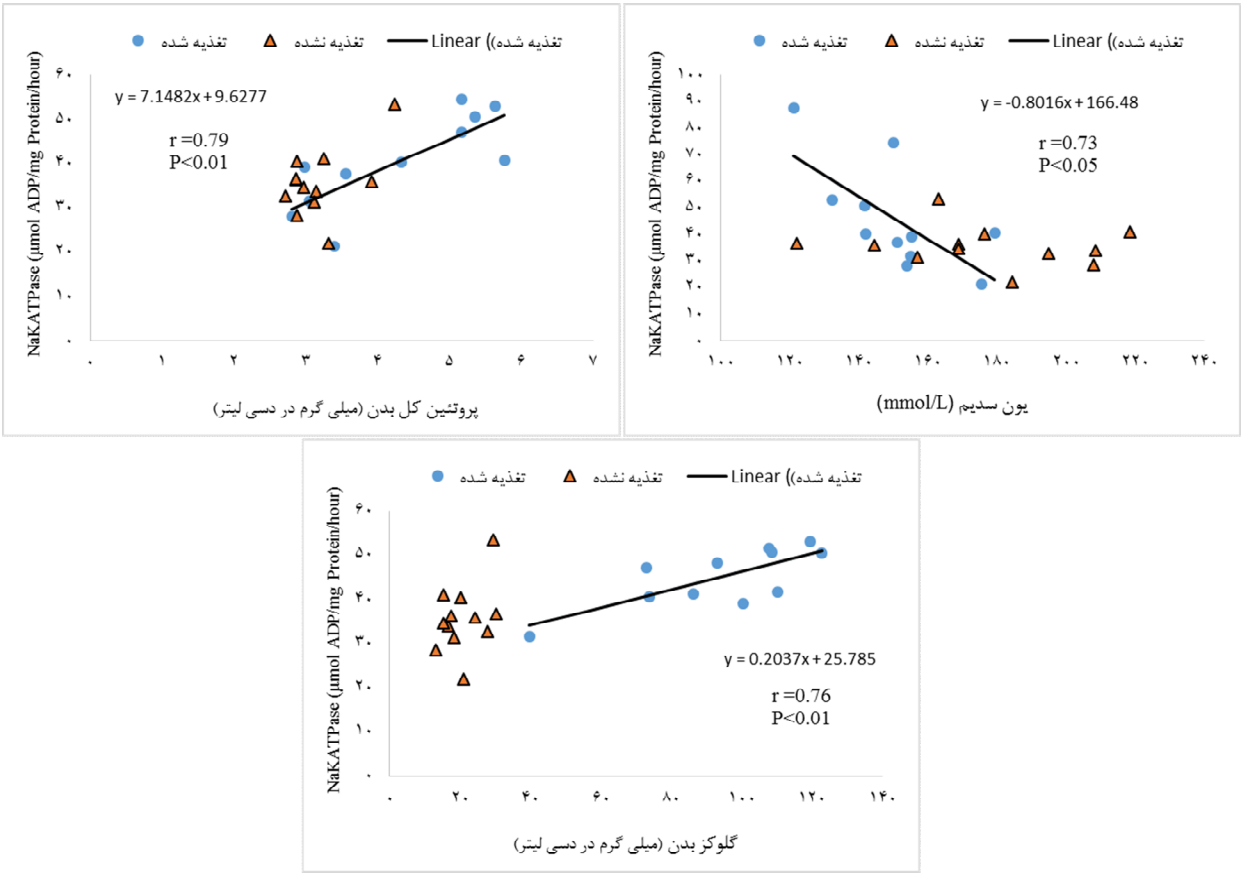
شکل ۵: مقایسه الگوی تغییرات گلوکز عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد (P<۰/۰۵).



شکل ۶: مقایسه الگوی تغییرات پروتئین کل عصاره بدن بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد (P<۰/۰۵).

بر اساس نتایج به دست آمده در گروه ماهیان تغذیه شده پس از شروع تنش شوری تا روز هفتم روند افزایشی در میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی دیده شده و در روز هفتم اختلاف معنی داری با گروه گرسنه نشان داد. در گروه گرسنه افزایش جزیی در فعالیت آنزیم دیده شده اما این افزایش بسیار کمتر از گروه بچه ماهیان تغذیه شده بود (شکل ۷). انجام آزمون همبستگی پیرسون، ارتباط منفی معنی‌داری را بین میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی و میزان یون سدیم نشان داد. با افزایش میزان فعالیت این آنزیم مقدار یون سدیم بدن بچه ماهی به شکل معنی‌داری کاهش نشان می‌دهد (شکل ۸).

شکل ۷: مقایسه الگوی تغییرات فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی بچه ماهیان سفید در دو گروه آزمایشی طی روزهای مختلف پس از تنش شوری. ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در یک زمان مشابه می‌باشد (P<۰/۰۵).



شکل ۸: همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی با سطح یون سدیم، پروتئین کل و گلوکز بدن.

بحث

میزان یون‌های سدیم و کلر در این بررسی در گروه بچه ماهیان گرسنه در تمامی زمان‌های مورد بررسی در سطح بالایی باقی ماند در حالی که در مورد بچه ماهیان تغذیه شده در مورد هر دو یون مذکور ابتدا افزایش و متعاقباً تا روز هفتم کاهش یافت. ورود ماهی به آب شور مستلزم تغییرات قابل توجهی در سیستم تنظیم اسمزی ماهی است به نحوی که این سیستم از حالت هایپراسموتیک (در آب شیرین) به حالت هایپواسموتیک تغییر می‌یابد (Hwang and Lee, 2007). استرس ناشی از ورود ماهی از آب شیرین به آب شور، افزایش جریان یونی به داخل بدن آبزی را به دنبال دارد (Wendelaar Bonga, 1997; Ackerman *et al*., 2000. Lerner *et al*., 2007b). یکی از دلایل احتمالی این پدیده افزایش ترشح هورمون‌های کاتکولامینی در ساعات اولیه پس از مواجهه با عامل استرس‌زا می‌باشد. این امر موجب کاهش مقاومت غشایی مویرگ‌های آبششی شده و با افزایش نفوذپذیری غشایی، بر نرخ انتشار یونی (بر اساس شیب غلظت) افزوده شده و در نتیجه میزان یون‌های سدیم، پتاسیم و کلر (و همچنین برخی از یون‌های دوظرفیتی) در بدن افزایش می‌یابند (در آب شور). افزایش در میزان هورمون کورتیزول طی فرآیند تطبیق با آب شور که به دنبال افزایش ترشح هورمون‌های کاتکولامینی ایجاد می‌شود، در واقع یک مکانیسم جبرانی است که با توسعه سلول‌های کلراید آبششی و متعاقب آن افزایش فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی (و همچنین پمپ سدیم-پتاسیم روده‌ای و پوستی) مقادیر اضافی یون‌های وارد شده به بدن را دفع نموده و شرایط یونی بدن را به حالت طبیعی بازمی‌گرداند (Perry and Bernier, 1999; McCormick, 2001). آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی مسئول ترشح و دفع یون‌های تک ظرفیتی در زمان مواجهه ماهی با آب شور می‌باشد. کاهش فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم آبششی در واقع بیانگر عدم توانایی کامل در دفع یون‌های اضافی در بچه ماهیان سفید گرسنه قرار گرفته در معرض آب شور می‌باشد. با توجه به اینکه افزایش فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی به توسعه سلول‌های کلراید آبششی وابسته است، بنابراین در زمان مواجهه با آب شور در ابتدا سطح یون‌های تک ظرفیتی در خون افزایش پیدا نموده و متعاقباً با افزایش فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم میزان یون‌های اضافی بدن دفع شده و سطح آن‌ها به کمی بالاتر از سطح استاندارد قبلی (زمان اقامت در آب شیرین) باز می‌گردد (Hiroi and McCormick, 2007). رویه یاد شده به شکل مشهودی در گروه بچه ماهیان تغذیه شده دیده می‌شود. در حالی‌که در گروه بچه ماهیان گرسنه الگوی خاصی در تغییرات سطح یون‌های سدیم و کلر دیده نشده و میزان آن‌ها در تمامی زمان‌های مورد بررسی در سطح بالایی باقی ماند.

با توجه به افزایش جریان یونی به محیط داخلی بدن ماهی در آب شور، افزایش سطح فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی جهت دفع یون‌های اضافی مسئله ای است که مورد تأیید گزارش‌های علمی بشماری قرار گرفته است (Madsen *et al*., 1995; Tipsmark and Madsen, 2001; Tipsmark *et al*., 2002; Hiroi and McCormick, 2007; Bodinier *et al*., 2010). با توجه به نتایج به دست آمده در این بررسی افزایش فعالیت آنزیم پس از تنش شوری در گروه بچه ماهیان تغذیه شده کاملاً روند افزایشی داشته در حالی‌که در گروه بچه ماهیان گرسنه این افزایش

چشمگیر نیست. افزایش فعالیت پمپ سدیم پتاسیم آبششی نیازمند انرژی زیادی بوده و از این رو به نظر می‌رسد که این فرآیند افزایش در سطح متابولیسم بدن ماهی را به دنبال دارد (Laiz-Carrion *et al*., 2003). در همین راستا افزایش سهم انرژی مورد نیاز برای تنظیم اسمزی از متابولیسم پایه در ماهی قزل آلای رنگین کمان از آب شیرین به شور ۲۰ به ۲۷ و تیلاپیای نیل ۱۹ به ۲۹ درصد گزارش شده است (Febry and Lutz, 1987). افزایش میزان گلوکز عصاره بدن و همبستگی مثبت آن با فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی در بچه ماهیان تغذیه شده در این مطالعه نیز به خوبی بر این صحت این مسئله تاکید می‌کند. بررسی‌های موجود نشان می‌دهند که گرسنگی به شکل معنی‌داری کاهش در محتوای گلوکز بدن را در ماهیان به دنبال دارد. Riley و همکاران (۲۰۰۸) پس از ۳ و هفت روز گرسنگی در ماهی تیلاپیای موزامبیکی، کاهش معنی‌دار غلظت گلوکز پلاسمای خون را گزارش کردند. بررسی گرسنگی بلند مدت ۳۰ روزه نیز در ماهی یاد شده نتایج مشابهی را به همراه داشته است (Rodger *et al*., 1992). هشت روز گرسنگی در ماهی تیلاپیای موزامبیکی کاهش معنی‌داری را در میزان گلوکز خون این ماهی نشان داد (Fox *et al*., 2009). عصاره و همکاران (۱۳۹۱) نیز کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز خون کپور معمولی را در طول مدت ۶ هفته گرسنگی گزارش کردند. گزارش مشابهی در نتیجه اعمال گرسنگی در آزادماهی دریایی خزر طی یک مدت زمان دو هفته‌ای منتشر شده است (رحمتی و همکاران، ۱۳۸۹). انتقال ماهی به آب شور میزان و چگونگی نقل و انتقالات یونی را در ماهی تغییر می‌دهد. در نهایت ماهی سعی می‌کند از طریق مکانیسم‌های سازشی، سیستم فیزیولوژیک بدن خود را با شرایط جدید وفق دهد. فرآیند سازش‌پذیری در چنین شرایطی با تغییراتی همچون تغییر در میزان مصرف اکسیژن همراه است که این مسئله متعاقباً تغییر در سطح متابولیسم ماهی را به همراه دارد. در این زمینه نیاز به انرژی در بخش‌های مختلف بدن نظیر آبشش، کلیه، قلب، مغز و ... افزایش پیدا می‌کند، اما آبشش‌ها احتمالاً بیشترین سهم را در مصرف انرژی در زمان سازش پذیری اسمزی به خود اختصاص می‌دهند. علت این امر به نقش مهم آبشش‌ها در تنظیم غلظت مایعات درون و برون سلولی می‌باشد. پس از انتقال ماهی به آب شور مکانیسم جذب یون‌های سدیم و کلر که در آب شیرین برقرار بود به یک مکانیسم ترشحی برای یون-های ذکر شده بدل می‌گردد. دفع یون‌های سدیم و کلر از طریق ناقل‌ها و کانال‌های یونی و همچنین پروتئین-های ناقل و به وسیله ATP انجام می‌گردد (Marshal, 2002). بنابراین با توجه به نیاز بیشتر ماهی به انرژی و از آنجایی‌که بخش قابل توجهی از انرژی مورد نیاز ماهی از طریق شکسته شدن ذخایر گلیکوژن کبدی (و بافتی) و تبدیل آن به گلوکز تأمین می‌شود، غلظت گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (Sangiao-Alvarellos *et al*., 2003). بنابراین افزایش سطح گلوکز عصاره بدن در بچه ماهیان پس از شروع تنش شوری منطقی به نظر می‌رسد. اما نکته قابل توجه اختلاف واضح سطح گلوکز بین دو گروه آزمایشی می‌باشد. در گروه بچه ماهیان تغذیه نشده سطح گلوکز عصاره بدن در تمامی زمان‌ها کمتر از گروه تغذیه شده بود. از آنجایی‌که انرژی مورد نیاز برای فرآیندهای مختلف زیستی از جمله تنظیم اسمزی از طریق تغذیه تأمین می‌گردد بنابراین کاهش میزان گلوکز در ماهیان گرسنه امری

بدیهی است. از سوی دیگر تغییرات میزان پروتئین کل بدن در این مطالعه نیز روند مشابهی را نسبت به میزان گلوکز بدن نشان می‌دهد (شکل ۶). عوامل استرس‌زای محیطی (نظیر تغییر شوری و آلاینده‌ها) می‌توانند ساختار، نفوذپذیری و نظم غشاهای لیزوزومی را تغییر داده و در نتیجه این امر، آنزیم‌ها به درون سیتوسول تراوش پیدا می‌کنند. در نتیجه این فرآیند، فعالیت آنزیم‌های پروتئاز افزایش یافته و این امر موجب افزایش نرخ شکسته شده پروتئین و شکل گیری اسیدهای آمینه آزاد می‌گردد. به نظر می‌رسد چنین فرآیندی به منظور تنظیم و ایجاد تعادل در فشار اسمزی و همچنین الکترولیت‌های بدن ماهی در مقابل تغییرات محیطی ضروری باشد. علاوه بر این، اسیدهای آمینه آزاد پیش سازهای تولید انرژی تحت شرایط استرسی محسوب شده و همچنین جهت سنتز پروتئین‌های لازم جهت مقابله با عوامل استرس زای محیطی نیز مورد نیاز می‌باشند (Prasath and Arivoli, 2008). از سوی دیگر نتایج گزارش‌های علمی موجود نشان می‌دهند که گرسنگی موجب کاهش میزان پروتئین کل در ماهی‌ها و پستانداران می‌گردد. بررسی تأثیر گرسنگی بر روی ماهی کپور معمولی کاهش میزان پروتئین کل پلاسما را نشان داد (Rehulka, 1993). ایجاد گرسنگی ۱۴ روزه در ماهی سیم دریایی نیز موجب کاهش سطح پروتئین کل خون در ماهی گردید (Sala-Rabanal *et al.*, 2003). به طور کلی پروتئین کل پلاسما از سه بخش آلبومین، گلوبولین و فیبرینوژن تشکیل شده است. در این میان آلبومین عمده‌ترین پروتئین خون می‌باشد، به نحوی که در مورد پستانداران حدود ۶۴ درصد، در ماهی تیلاپیا حدود ۵۰-۴۵ و در مورد کپورماهیان ۳۵-۲۵ درصد از پروتئین کل پلاسما را به خود اختصاص می‌دهد. تنظیم فشار اسمزی خون، تنظیم تعادل یونی و نقش فعال در ساخت و تجزیه پروتئین‌های خون از مهم‌ترین نقشهای منتسب به آلبومین می‌باشد. می‌توان دریافت که با انجام تنش شوری، افزایش سطح پروتئین کل بدن احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش میزان آلبومین (در کنار سایر پروتئین‌های دیگر) جهت تنظیم فشار اسمزی بدن در محیط هایپرتونیک تحمیل شده باشد. همان‌گونه که نتایج این بررسی نشان می‌دهند افزایش میزان پروتئین کل بدن به ویژه در گروه بچه ماهیان تغذیه شده کاملاً موید این مسئله می‌باشد. نکته‌ای که در گروه بچه ماهیان گرسنه دیده نمی‌شود (شکل ۶).

از سوی دیگر بسیاری از عوامل و ناقلینی که در ترشح نمک‌های اضافی در آب شور دخیل هستند ماهیت پروتئینی داشته و از آنجایی‌که پروتئین مورد نیاز بدن از طریق تغذیه تأمین می‌گردد، از این رو بدیهی است که عدم تغذیه کافی، کاهش در سطح اسیدهای آمینه و اختلال در ساخت پروتئین‌های دخیل در تنظیم اسمزی در آب شور را به دنبال داشته باشد (Kaushik *et al.*, 1977; Jurss *et al.*, 1983). همبستگی پیرسون نیز رابطه مثبتی را بین افزایش پروتئین کل بدن و فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی نشان داد (شکل ۸). بنابراین کاهش در میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی در گروه ماهیان گرسنه توجیه‌پذیر به نظر می‌رسد. گزارش‌های علمی موجود نیز بر کاهش میزان فعالیت این آنزیم متعاقب اعمال گرسنگی دلالت دارند. Jurss و همکاران (۱۹۸۳) کاهش ۴۴ درصدی در فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی را در ماهیان قزل آلای رنگین کمان گرسنه در مقایسه با ماهیان تغذیه شده در مواجهه با آب شور گزارش کردند. در مطالعه ای دیگر روی ماهی سیم دریایی همبستگی

مثبتی بین افزایش شوری محیطی، افزایش فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی و همچنین افزایش سطح متابولیسم و مصرف انرژی گزارش شد (Sangiao-Alvarellos *et al*., 2003). بر مبنای نتایج آزمایش دیگری گرسنگی ۱۴ روزه در ماهی سیم دریایی منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی و همچنین افزایش سطح یون‌های سدیم و پتاسیم پلاسما شد. محققین بررسی یاد شده بر کاهش سطح فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی در این ماهیان به عنوان یکی از مهم‌ترین دلایل وقوع این مسئله تاکید کردند. بر مبنای مطالعه یاد شده مشخص شد که عدم تغذیه می‌تواند به شکل منفی نحوه پاسخ فیزیولوژیک ماهی به آب شور را تحت تأثیر قرار دهد. (Polakof *et al*., 2006). انجام آزمون همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی و تغییرات یون سدیم نیز به خوبی بر صحت مورد یاد شده تاکید می‌کند. همان‌گونه که در نتایج ذکر شد، در گروه بچه ماهیان تغذیه شده ارتباط منفی معنی‌داری بین افزایش سطح فعالیت آنزیم و محتوای میزان یون سدیم در بدن ماهی دیده شد (شکل ۸). به بیان دیگر با افزایش فعالیت آنزیم سطح یون سدیم کاهش یافت. این در حالی است که در گروه بچه ماهیان گرسنه ارتباط خاصی بین میزان فعالیت آنزیم و میزان یون سدیم دیده نشده و محتوای یون سدیم بدن همواره در یک سطح بالا باقی مانده است. در بررسی دیگری که روی وزغ ماهی (*Opsanus beta*) انجام شد، از تغذیه به عنوان یک فاکتور بسیار مهم و حیاتی در تطبیق پذیری با آب شور یاد شده و عنوان شد که حتی نوع ماده غذایی مصرفی توسط ماهی بر غلظت متابولیت‌ها و الکترولیت‌های خون ماهی اثرگذار است (Taylor and Grosell, 2006). Olsen و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش سطح یون کلر را در پلاسمای خون بچه ماهیان کاد گرسنه قرار گرفته در معرض استرس در مقایسه با بچه ماهیان تغذیه شده گزارش کردند. در ارتباط با یون‌های پتاسیم و کلسیم یافته‌های این تحقیق در تناقض با گزارش‌های علمی موجود قرار دارند. در گروه بچه ماهیان تغذیه شده مقدار یون‌های مذکور بیشتر از غلظت این یون‌ها در بچه ماهیان تحت تیمار گرسنگی بود. علت این مسئله احتمالاً به استفاده از عصاره بدن ماهی جهت بررسی یون‌های مذکور بستگی داشت. متعاقب مصرف غذا توسط ماهی، یون‌های تک ظرفیتی موجود غذای وارد شده به روده به سرعت از طریق اپیتلیوم روده‌ای جذب شده و یون‌های دوظرفیتی باقی می‌مانند. اما بایستی توجه داشت که غلظت یون‌های تک و دوظرفیتی در بخش ابتدایی روده کوچک زیاد بوده و با حرکت غذا در طول روده فرآیند جذب یون‌های تک ظرفیتی به وقع می‌پیوندد. پس از جذب یون‌های تک ظرفیتی غلظت یون‌های دوظرفیتی در روده غالب می‌شوند. این مسئله به کاهش فشار اسمزی این یون‌ها در مجرای لومن منجر شده و در نهایت جذب مؤثر آن‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد (Taylor and Grosell, 2006). با توجه به این مسئله افزایش میزان یون‌های پتاسیم و کلسیم در عصاره بدن را می‌توان به مصرف غذا در بچه ماهیان گروه تغذیه شده نسبت داد.

به طور کلی بر مبنای نتایج به دست آمده از این مطالعه می‌توان این‌گونه استنباط نمود که تغذیه یک فاکتور بسیار مهم و اساسی در موفقیت بچه ماهیان سفید در زمان مواجهه و سازش‌پذیری با آب شور به حساب می‌آید. انجام تیمارگرسنگی در این بررسی کاهش در سطح گلوکز و پروتئین کل بدن و همچنین کاهش

فعالیت آنزیم پمپ سدیم-پتاسیم آبششی و متعاقب آن افزایش در میزان یون‌های سدیم و کلر را در بدن بچه ماهیان نشان داد. برآیند نتایج به دست آمده حاکی از عدم موفقیت بچه ماهیان گروه گرسنه در سازش‌پذیری با آب شور بود. همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد سازش‌پذیری موفق با آب شور در حیات بچه ماهیان رودکوچی نظیر ماهی سفید دریای خزر، ارتباط مستقیمی با زنده‌مانی آن‌ها در حیات دریایی داشته و میزان بازگشت شیلاتی را افزایش می‌دهد. از این رو به نظر می‌رسد که توجه به بحث تغذیه بچه ماهیان سفید (در کنار سایر مولفه‌های تاثیرگذار) در زمان رهاسازی به آب‌های طبیعی مسئله‌ای است که می‌بایست در سیاست گذاری بازسازی ذخایر این گونه ارزشمند مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی باشماره ۵۰-۲۰-۹۲ بوده و با حمایت مالی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان انجام شده است.

منابع

۱. امیری، آ.، صیادبورانی، م.، مرادی، م.، پورغلامی، آ.، ۱۳۸۷. اثر شوری‌های مختلف بر روی رشد و ماندگاری بچه ماهی سفید انگشت قد (*Rutilus frisii kutum*)، مجله علمی شیلات ایران، ۷ (۱)، ۲۳ - ۲۹.

۲. رحمتی، ف.، فلاحتکار، ب.، خارا، ح.، ۱۳۸۹. اثرات گرسنگی و تغذیه مجدد بر عملکرد رشد و فاکتورهای بیوشیمیایی خون در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). علوم زیستی، ۴ (۲)، ۶۹-۵۹.

۳. عبدالملکی، ش.، ۱۳۸۵. بررسی روند تغییرات ذخایر ماهی سفید دریای خزر (ایران). مجله علمی شیلات ایران، ۱۵ (۲)، ۹۹-۸۷.

۴. عصاره، ر.، محمدنژاد شموشکی، م.، فغانی لنگرودی، ح.، ۱۳۹۱. بررسی اثر دوره‌های گرسنگی بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون بچه ماهی کپور(*Cyprinus carpio*). فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۶ (۱)، ۹-۱.

۵. عطایی مهر، ب.، مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع.، نظامی، ش.، ریاضی، غ.، ۱۳۸۹. اثر شوری‌های مختلف بر میزان املاح، فشار اسمزی، آب بافت بدن، سلول‌های کلراید آبششی و درصد تلفات بچه ماهی سفید(*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) . مجله علمی شیلات ایران، ۷۱ (۲)، ۱۳۰-۱۱۵.

۶. فارابی، س. م. و.، رستمی، ح. خ.، تهرانی، م. ق. قیاسی، م.، آذری، ع.، بهروزی، ش.، موسوی، ه.، فیروز کندیان، ش.، حبیبی، ف.، زاهدی طبرستانی، آ.، ملائی، ح.، امیری، الف. م.، عقلمندی، ف.، بینائی، م. ۱۳۸۶. بررسی وضعیت تکثیر مولدین و رهاسازی بچه ماهیان سفید در حوزه جنوبی دریای خزر (استان مازندران، سال ۱۳۸۳). پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۷۴، ۱۵۶- ۱۶۶.

۷. واردی، آ.، فضلی، ح.، ۱۳۸۴. بررسی کیفیت آب برخی از رودخانه‌های استان مازندران طی دوره رهاسازی بچه ماهی سفید. مجله علمی شیلات ایران، ۴ (۴)، ۱۸۲- ۱۶۷.

8. Ackerman, P.A., Forsyth, R.B., Mazur, C.F., Iwama, G.K., 2000. Stress hormones and the cellular stress response in salmonids. Fish Physiolology and Biochemistry, 23, 327–336.
9. Bodinier, C., Scure, E., Lecurieux-Belfond, L., Blondeau-Bidet, E., Charmantier, G., 2010. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, (157), 220–228.
10. Dean, D.B., Whitlow, Z.W., Borski, R.J., 2003. Glucocorticoid receptor upregulation during

seawater adaptation in a euryhaline teleost, the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). General and Comparative Endocrinology, 132, 112–118.
11. Febry, R., Lutz, P. 1987. Energy partitioning in fish: the activity related cost of osmoregulation in a euryhaline cichlid. Journal of Experimental Biology, 128(1), 63-85.
12. Fox, B.K., Breves, J.P., Hirano, T., Grau, E.G. 2009. Effects of short-and long-term fasting on plasma and stomach ghrelin, and the growth hormone/insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Domestic animal endocrinology, 37(1), 1-11.
13. Handeland, S.O., Berge, A., Bjornsson, B.Th. Stefansson, S.O., 1998. Effects of temperature & salinity on osmoregulation growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in seawater. Aquaculture, 168, 289-302.
14. Handy, R.D., Depledge, M.H., 1999. Physiological responses: Their measurement & use as environmental biomarkers in ecotoxicology. Ecotoxicology, 8, 329-349.
15. Hiroi, J., McCormick, S.D., 2007. Variation in salinity tolerance, gill Na^+-K^+-ATP_{ase}, $Na^+/K^+/2Cl^-$ Cotransporter and mitochondria rich cell distribution in three salmonids *Salvelinus namaycush, Salvelinus fontinalis* and *Salmo salar*. Journal of Experimental Biology, 210, 1015-1024.
16. Hwang, P.P., Lee, T.H., 2007. New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, 148, 479–497.
17. Juell, J.E., Furevik, D.M., Bjordal, A., 1993. Demand feeding in salmon farming by hydroacoustic feed detection. Aquaculture Engineering, 12, 155–167.
18. Jürss, K., Bittorf, T., Vökler, T., Wacke, R. 1983. Influence of nutrition on biochemical sea water adaptation of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 75(4), 713-717.
19. Kaneko, T., Watanabe, S., Kyung Mi, L., 2008. Functional morphology of mitochondrion-rich cells in euryhaline and stenohaline teleost. Aquatic Bioscience and Monitoring, 1(1), 1-62.
20. Kaushik, S.J., Harache, Y., Luquet, P., 1977. Variation in the total free amino acids level in rainbow trout muscle and blood during its adaptation to sea water. Annales Hydrobiology, 8, 145-151.
21. Kültz, D., Jürss, K., 1991. Acclimation of chloride cells and Na/K-ATPase to energy deficiency in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Zoological Journal of Physiology, 95, 39–50.
22. Laiz-Carrión, R., Sangiao-Alvarellos, S., Guzmán, J.M., del Río, M.P.M., Míguez, J.M., Soengas, J.L., & Mancera, J.M. 2003. Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. Fish Physiology and Biochemistry, 27(3-4), 179-188.
23. Lerner, D.T., Bjornsson, B.T., McCormick, S.D., 2007a. Aqueous exposure to 4-nonylphenol and 17βestradiol increases stress sensitivity and disrupts ion regulatory ability of juvenile Atlantic salmon. Environmental Toxicology and Chemistry, 26(7), 1433-1440.
24. Lerner, D.T., Bjornsson, B.T., McCormick, S.D., 2007b. Effects of aqueous exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) on physiology and behavior of smolt development of Atlantic salmon. Aquatic Toxicology, 81, 329-336.
25. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193, 265-275.
26. Madsen, S.S., Jensen, M.K., Nohr, J., Kristiansen, K., 1995. Expression of Na+-K+-ATPase in the brown trout, *Salmo trutta*: in vivo modulation by hormones and seawater. American Journal of Physiology, 269, 1339–1345.
27. Marshall, W.S., 2002. Na^+, Cl^-, Ca^{2+} and Zn^{2+} transport by fish gills: retrospective review and prospectives synthesis. Journal of Experimental Zoology, 293, 264–283.
28. Marshall, W.S., Emberley, T.R., Singer, T.D., Bryson. S.E., McCormick, S.D., 1999. Time course of salinity adaptation in a strongly euryhaline estuarine teleost (*Fundulus heteroclitus*): A multivariable approach. The Journal of Experimental Biology, 202, 1535-1544.
29. Martinez-Alvarez, R.M., Sanz, A., Garcia-Gallego, M., Domezain, A., Domezain, J., Carmona, R., Ostos-Garido, M., Morales, A.E., 2005. Adaptive branchial mechanisms in the sturgeon *Acipenser naccarii* during acclimation to saltwater. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 141, 183 – 190.
30. McCormick, S.D., 2001. Endocrine Control of Osmoregulation in Teleost Fish. American Zoology, 41, 781–794.
31. Nance, J.M., Masoni, A., Sola, F., Bornancin, M., 1987. The effects of starvation and sexual maturation on Na+ transbranchial fluxes following direct transfer from freshwater to seawater in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).

Comparative Journal of Biochemistry and Physiology, 87A, 613–622.
32. Olsen, R.E., Sundell, K., Ringø, E., Myklebust, R., Hemre, G.-I., Hansen, T., Karlsen, Ø. 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod *Gadus morhua* L. Aquaculture, 280(1), 232-241.
33. Perry, S.F., Bernier, N.J., 1999. The acute humoral adrenergic stress response in fish: Facts and fiction. Aquaculture, 177, 285–295.
34. Polakof, S., Arjona, F.J., Sangiao-Alvarellos, S., del Río, M.P.M., Mancera, J.M., Soengas, J.L. 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. Journal of Comparative Physiology B, 176(5), 441-452.
35. Pordocimo, V., Galves, F., Ferire, C.A., Wood, C.M., 2007. Unidirectional Na+ and Ca++ fluxes in two euryhaline teleost fishes *Fundulus hetericlitus* and *Oncorhynchus mykiss* acutely submitted to a progressive salinity increase. Journal of Comparative Physiology, 177, 519-528.
36. Prasath, P.M.D., Arivoli, S., 2008. Biochemical study of freshwater fish *Catla catla* with reference to mercury chloride. Iranian Journal of Health Science and Engeneering, 5(2), 109-116.
37. 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, 565-574.
38. Rehulka, J., 1993. Erythrodermatitis of carp, *Cyprinus carpio* L: An electrophoretic study of blood serum protein fraction levels. Acta Vet. Brno, 62, 187–197.
39. Riley, L.G, Fox, B.K., Breves, J.P., Kaiya, H., Dorough, C.P., Hirano, T., Grau, E.G., 2008. Absence of effects of short-term fasting on plasma ghrelin and brain expression of ghrelin receptors in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Zoological Science, 25, 821–7.
40. Rodgers, B.D., Helms, L.M., Grau, E.G., 1992. Effects of fasting, medium glucose, and amino acid concentrations on prolactin and growth hormone release, in vitro, from the pituitary of the tilapia *Oreochromis mossambicus*. General Comparative Endocrinology, 86, 344–51.
41. Sala-Rabanal, M., Sánchez, J., Ibarz, A., Fernández-Borràs, J., Blasco, J., Gallardo, M., 2003. Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Fish physiology and biochemistry, 29(2), 105-115.
42. Sangiao-Alvarellos, S., Laiz-Carrión, R., Guzmán, J.M., del Río, M. P.M., Miguez, J.M., Mancera, J.M., Soengas, J.L. 2003. Acclimation of *S. aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and nonosmoregulatory organs. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 285(4), 897-907.
43. Schultz, G., Jakobs, K., 1984. Adenylate cyclase. In: Bergmeyer HU, ed. Methods of enzymatic analysis. 3rd ed. Weinham, Germany: Verlag Chemie; 369–378.
44. Stefansson, S.O., McGinnity, P., Björnsson, B.Th., Schreck, C.B., McCormick, S.D., 2003. The importance of smolt development to salmon conservation, culture, and management: perspectives from the 6th International Workshop on Salmonid Smoltification. Aquaculture, 222(1-4), 1-14.
45. Sangiao-Alvarellos, S., Arjona, F.J., del Río, M.P.M., Míguez, J.M., Mancera, J.M., Soengas, J.L., 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in *Sparus auratus*. Journal of Experimental Biology, 208, 4291-4304.
46. Stefansson, S.O., Imsland, A.K., Handeland, S.O., 2009. Food-deprivation, compensatory growth and hydro-mineral balance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts in sea water. Aquaculture, 290, 243-249.
47. Taylor, J.R., Grosell, M., 2006. Feeding and osmoregulation: dual function of the marine teleost intestine. Journal of Experimental Biology, 209(15), 2939-2951.
48. Tipsmark, C.K., Madsen, S.S., 2001. Rapid modulation of Na+/K+-ATPase activity in osmoregulatory tissue of a salmonid fish. The Journal of Experimental Biology, 204, 701–709.
49. Tipsmark, C.K., Madsen, S.S., Seidelin, M., Christensen, A.S., Cutler, C.P., Cramb, G., 2002. Dynamics of Na+,K+,2Cl- Cotransporter and Naþ,Kþ-ATPase Expression in the Branchial Epithelium of Brown Trout (*Salmo trutta*) and Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Journal of Experimental Zoology, 293, 106–118.
50. Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. Physiological Review, 77, 591–625.