

## نقش تغییر تراکم بر برخی فراسنجه‌های رشد و خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

وجیه مومنی<sup>۱</sup>، افشین قلیچی\*<sup>۱</sup>، سارا جرجانی<sup>۱</sup>

۱- گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران، صندوق پستی: ۳۰

تاریخ پذیرش: ۳ شهریور ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۲۲ فروردین ۱۳۹۶

### چکیده

در این تحقیق تأثیر تراکم‌های مختلف پرورش بر برخی فراسنجه‌های خونی و رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان جوان مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان ۳۰ گرمی در حوضچه‌های فایبرگلاس در سه تراکم (تراکم کم: ۱۴، تراکم معمول: ۲۲، و تراکم بالا: ۲۹ عدد در مترمربع) در دو مرحله ۳۰ روزه پرورش داده شدند. در روز سی‌ام آزمایش، ماهیان تراکم پایین در تراکم بالا و بالعکس پرورش یافتند. درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی در ۳۰ روز اول آزمایش بین ماهیان تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). بعد از تعویض تراکم نیز شاخص‌های افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در تیمار تراکم بالا به طور معنی‌داری کم‌تر از دو تیمار دیگر بود ( $P < 0/05$ ). نتایج حاصل از فراسنجه‌های خونی نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید در تراکم بالا به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقادیر گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) بین تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود. با تغییر تراکم بعد از روز سی‌ام هیچ اختلاف معنی‌داری در مقادیر گلبول‌های سفید، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. ولی مقادیر گلبول‌های قرمز و هموگلوبین دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود. در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمود که کاهش رشد ناشی از تراکم بالا را می‌توان با قرار دادن مجدد ماهیان در تراکم‌های پائین جبران نمود.

**کلمات کلیدی:** تراکم، فراسنجه‌های رشد، فراسنجه‌های خونی، قزل‌آلای رنگین کمان.

## مقدمه

یکی از راه‌کارها برای برآوردن نیازهای غذایی به ویژه پروتئینی انسان پرورش ماهی از جمله ماهیان سردآبی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان است. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نخستین گونه از خانواده آزادماهیان است که به عنوان غذای اصلی انسان پرورش یافت (درموند سدویک، ۱۳۷۹). امروزه با توجه به کاهش منابع آبی، استفاده بهینه از این منابع حائز اهمیت است و یکی از راه‌های رسیدن به این هدف افزایش تولید در واحد سطح می‌باشد. ولی تراکم بالا ممکن است باعث استرس و بیماری شود. تراکم و میزان زی‌توده ماهی معیارهای زیست‌شناختی بسیار مهم برای سیستم‌های پرورش متراکم ماهی هستند، زیرا معمولاً ملاحظات اقتصادی حکم می‌کند که حداکثر استفاده از آب و فضا به عمل آید. تراکم‌های پرورشی که نیازهای فیزیولوژی رفتاری به فضا می‌باشد، منجر به افت شرایط سلامتی و فیزیولوژی ماهی، کاهش تبدیل غذا به گوشت، کاهش رشد و در نهایت تلفات بیش‌تر می‌گردد. بنابراین تراکم به عنوان یک عامل استرس‌زای مزمن شناخته شده است (Rafatnezhad et al., 2008; Trenzado et al., 2006).

در آبی‌پروری افزایش تراکم ذخیره‌سازی، یکی از راه‌حل‌های مشکل کمبود زمین برای پرورش است. در بسیاری از گونه‌های پرورشی، رشد نسبت به تراکم ذخیره‌سازی نسبت عکس داشته و این مسئله به خصوص به دلیل برهم‌کنش‌های اجتماعی در طی رقابت برای غذا یا فضای زیستن، باعث ایجاد نوعی از استرس مزمن می‌شود که می‌تواند تاثیر منفی بر روی رشد ماهی داشته باشد. ماهی از طریق بسیاری از تغییرات فیزیولوژیکی برای حفظ هموستازی به عوامل

استرسی واکنش می‌دهد که این پاسخ‌ها شامل پاسخ‌های هماتولوژی، اسمزی، آزاد شدن هورمون‌ها و متابولیسم انرژی می‌باشد. Tawwab و همکاران (۲۰۰۵)، تراکم را به عنوان متغیری مهم در کارکرد رشد ماهی مورد پرورش دانسته‌اند. اگر چه مشاهده شده است که تراکم خیلی کم بر رشد گونه‌های که رفتار گروهی دارند مانند آزاد چار (Arctic charr) یا ماهی خاردار می‌تواند تاثیر منفی داشته باشد. تراکم ممکن است موجب کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش رشد ماهی شود (Jorgensen et al., 1993). قلی‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۵ در ارتباط با اثر تراکم بر رشد و ضریب تبدیل خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحقیق نمودند. رفعت‌نژاد و همکاران (۱۳۸۹) تاثیر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر برخی پارامترهای کیفی آب و فاکتورهای رشد فیل ماهی در مخازن پرورشی آزمایش نمودند. Lefrancois و همکاران (۲۰۰۱) و North و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش نمودند که تراکم به تنهایی تاثیر قابل توجهی بر رشد و بقاء ماهی‌ها ندارد. تراکم ممکن است موجب کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش رشد ماهی شود. Piper و همکاران (۱۹۸۲) اثر تراکم بر رشد فلاندر ژاپنی جوان (*Paraliathy olivaees*) بررسی نمودند. Rafatnezhad (۲۰۰۸) گزارش نمود که امروزه با توجه به کاهش منابع آبی، استفاده بهینه از این منابع حائز اهمیت است یکی از راه‌های رسیدن به این هدف افزایش تولید در واحد سطح می‌باشد، ولی تراکم بالا ممکن است باعث استرس، بیماری و غیره شود.

همان‌طور که پیشتر اشاره شد تحقیقات متعددی در خصوص تأثیر تراکم بر رشد فردی و فراسنجه‌های

استفاده گردید. داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوا کار گذاشته شد تا اکسیژن مورد نیاز تامین شود.

- تهیه بچه‌ماهیان و ذخیره‌سازی آن‌ها:

بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از یکی از مزارع پرورش ماهی سردابی واقع در شهرستان رامیان استان گلستان با میانگین وزن  $29/26 \pm 3/42$  گرم و میانگین طول اولیه  $237 \pm 13$  میلی‌متر تهیه گردید.

سازگار نمودن بچه‌ماهیان حدود یک هفته به طول انجامید. در پایان دوره سازگاری به علت جلوگیری از استرس به ماهیان تمامی آنها (۳۰۰ عدد) توسط پودر گل میخک با غلظت ۵ قسمت در میلیون بیهوش و زیست‌سنجی شدند. بچه‌ماهیان با میانگین وزن ابتدایی بالاتر از ۳۰ گرم در تراکم‌های مختلف به طور کاملاً تصادفی از لحاظ منبع تامین نور، آب و سایر شرایط محیطی در مخازن که قبلاً در سه ردیف سه تایی چیده و شماره‌گذاری شده بودند، توزیع شدند. از آب چاه برای تامین آب در طول دوره آزمایش استفاده گردید. میزان دما، اکسیژن و pH در طول آزمایش به ترتیب  $15/32 \pm 0/89$ ،  $10/26 \pm 0/93$  و  $7/06 \pm 0/12$  اندازه‌گیری شد.

- طرح آزمایش

این تحقیق در دو مرحله انجام شد:

مرحله اول: ۳ تیمار (با ۳ تکرار):

تیمار تراکم پایین با تعداد ۱۴ عدد ماهی در هر مترمربع، تیمار تراکم معمول پرورش با تعداد ۲۲ عدد ماهی در هر مترمربع، تیمار تراکم بالا با تعداد ۲۹ عدد ماهی در هر مترمربع

خونی ماهیان مختلف از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت گرفته است که می‌توان به تحقیق Alimahmoudi و همکاران (۲۰۱۵) بر روی فیل‌ماهی (*Huso huso*)، Docan و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، Lapatsch و همکاران بر روی ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، Ajani و همکاران (۲۰۱۵) روی گربه‌ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) و Kpundeh و همکاران (۲۰۱۳) روی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) اشاره نمود. با توجه به این که در برخی شرایط خاص پرورش دهنده مجبور است ماهیان را در یک حوضچه و در شرایط متراکم‌تر از حد معمول نگهداری نماید و بعد از رفع این شرایط ناخواسته، دوباره تراکم را به تراکم معمول و یا برای جبران رشد در تراکم کم‌تر از حد معمول نگهداری نماید، تاکنون تحقیقی در خصوص تأثیر تغییر تراکم بر رشد فردی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام نشده است. بنابراین با توجه به توضیحات فوق هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر تغییر تراکم بر فراسنجه‌های رشد و همچنین فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و معرفی تراکم مطلوب، برای ایجاد شرایط بهینه پرورشی و سلامت این گونه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

- محل اجرای تحقیق:

این پژوهش به مدت ۶۰ روز (در دو مرحله سی‌روزه) در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر انجام پذیرفت. در این آزمایش از ۱۲ عدد حوضچه فایبرگلاس با حجم ۳۰۰ لیتر که آب آن بطور مداوم تعویض می‌شود،

مرحله دوم: آب مخازن هر روز قبل از غذادهی سیفون گردید تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج شود. غذادهی ۳ بار در روز بر اساس جداول غذایی معمول و با توجه به وزن ماهی و دمای آب انجام شد. در انتهای آزمایش ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک بی‌هوش شد. فراسنجه‌های رشد بر اساس معادله‌های زیر محاسبه شد (Ricker, 1979):

در روز سی‌ام تعویض تراکم صورت گرفت. به این صورت که تعداد ماهیان تیمار تراکم پایین افزایش و به ۲۹ عدد (معادل تراکم تیمار تراکم بالا) رسانده شد. همچنین تعداد تیمار تراکم بالا به ۱۴ عدد ماهی در هر مترمربع (معادل تراکم تیمار پایین در مرحله اول) کاهش داده شد.

- افزایش وزن بدن (گرم) (WI):

$$BWI = (Bwf - Bwi) / Bwi \times 100$$

$Bwi$  = میانگین وزن انتهای دوره به گرم،  $Bwf$  = میانگین وزن ابتدای دوره به گرم  
S.G.R: نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

$$S.G.R = (\ln wt - \ln wo) / t \times 100$$

$\ln wo$  = لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم،  $\ln wt$  = لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم،  $t$  = مدت پرورش [تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره / تعداد بچه ماهیان باقی مانده در انتهای دوره]  $\times 100$  = درصد بازماندگی افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی -  
در انتهای هر مرحله از آزمایش ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنه ماندند و از ساقه دمی ماهیان نمونه خون تهیه شد. از هر تکرار ۲ ماهی و مجموعاً از هر تیمار از ۶ ماهی خون‌گیری به عمل آمد و شاخص‌های سلولی خونی (CBC) شامل WBC، RBC، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های گلبولی (MCH، MCV، MCHC) اندازه‌گیری شد.  
جهت تعیین تعداد گلبول‌های قرمز از لام هموسیتمتر نوبار استفاده شد. برای این منظور تعداد گلبول‌های قرمز پنج مربع کوچک شمارش شد. برای تعیین درصد هماتوکریت، نمونه‌های خون در لوله‌های

موئینه‌های ریخته شد و با دستگاه سانتی‌فیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) سلول‌خونی جدا شد. سپس درصد هماتوکریت از روی میکروهماتوکریت و با استفاده از خط‌کش‌های مخصوص، خوانده شد. جهت اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین از روش فوتومتری سیانومت هموگلوبین استفاده شد. اندیس‌های گلبول قرمز نیز با استفاده از فرمول‌های مربوطه انجام شد. برای مطالعه و شمارش مقادیر لکوسیت‌های خون (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، منوسیت) از دستگاه شمارنده دستی و میکروسکوپ نوری با لنز ۴۰ استفاده شد (Blaxhall, 1972).

موئینه‌های ریخته شد و با دستگاه سانتی‌فیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه) سلول‌خونی جدا شد. سپس درصد هماتوکریت از روی میکروهماتوکریت و با استفاده از خط‌کش‌های مخصوص، خوانده شد. جهت اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین از روش فوتومتری سیانومت هموگلوبین استفاده شد. اندیس‌های گلبول قرمز نیز با استفاده از فرمول‌های مربوطه انجام شد. برای مطالعه و شمارش مقادیر لکوسیت‌های خون (لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، منوسیت) از دستگاه شمارنده دستی و میکروسکوپ نوری با لنز ۴۰ استفاده شد (Blaxhall, 1972).

جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. در مرحله اول آزمایش میزان افزایش وزن بدن در تیمار تراکم پایین به طور معنی‌داری کم‌تر از دو تیمار دیگر بود ( $P < 0/05$ ). همچنین ضریب تبدیل غذایی در تیمار تراکم بالا به طور معنی‌داری بیش‌تر از دو تیمار دیگر بود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱). بعد از تغییر تراکم، میزان افزایش وزن بدن در تیمار تراکم بالا به طور معنی‌داری کم‌تر از دو تیمار دیگر و ضریب تبدیل غذایی در تیمار تراکم پایین به طور معنی‌داری کم‌تر از دو تیمار دیگر بود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

برای تجزیه و تحلیل آماری پس از کنترل همگنی داده‌ها (نرمال بودن داده) از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One-way Anova) استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح ۰/۰۵٪ اطمینان انجام شد. جهت آنالیز داده‌ها، نرم افزار آماری SPSS ۲۰ مورد استفاده قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج

نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رشد در دو مرحله قبل و بعد از تغییر تراکم به تفکیک در

جدول ۱: فراسنجه‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان قبل از تعویض تراکم (از روز اول تا روز سی‌ام)

شاخص	تراکم پایین	تراکم معمول	تراکم بالا
وزن اولیه (گرم)	۳۳/۵۷±۵/۵۷ a	۳۲/۳۶±۷/۹۳ a	۳۱/۹۳±۷/۲۳a
وزن نهایی (گرم)	۸۷/۳۸±۱۹/۱۲a	۸۶/۳۲±۱۶/۴۳a	۸۱/۱۷±۱۴/۹۶b
افزایش وزن بدن (گرم)	۵۴/۷۸±۲/۰۴a	۵۰/۳۶±۳/۴۳b	۴۹/۸۹±۶/۰۹b
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۳/۲۸±۰/۰۶a	۳/۲۸±۰/۱۲a	۳/۰۰±۰/۱۴b
بازماندگی (درصد)	۹۸/۶۶±۳/۲a	۹۶/۶۶±۵/۷۷a	۸۷±۱۹/۱۵a
ضریب تبدیل غذایی (گرم)	۰/۸۰±۰/۰۷a	۰/۹۶±۰/۰۶a	۱/۲۴±۰/۱۹b

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P \geq 0/05$ ).

جدول ۲: فراسنجه‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بعد از تعویض تراکم (از روز ۳۰ تا آخر دوره)

شاخص	تراکم پایین	تراکم معمول	تراکم بالا
وزن اولیه (گرم)	۸۵/۵۷±۱۵/۰۶a	۸۶/۳۲±۱۶/۴۲a	۸۹/۴۹±۱۵/۶۸a
وزن نهایی (گرم)	۱۴۳/۴۴±۱۶/۲۲a	۱۴۳/۶۳±۱۴/۷۱a	۱۴۳/۱۹±۱۵/۵۱a
افزایش وزن بدن (گرم)	۵۷/۸۷±۱/۳۶a	۵۷/۱۷±۳/۴۳a	۵۳/۹۰±۱/۵۷b
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۵۸±۰/۰۸a	۲/۵۴±۰/۱۹a	۲/۳۳±۰/۰۳a
بازماندگی (درصد)	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a
ضریب تبدیل غذایی	۰/۷۸±۰/۰۴a	۰/۹۹±۰/۰۳b	۱/۰۱±۰/۰۴b

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P \geq 0/05$ ).

بالا، کمترین تعداد گلبول سفید را دارا بودند. به طوری که بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه مقدار این فراسنجه در بین این دو تیمار معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). با توجه به نتایج حاصله از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، درصد هیچ کدام از انواع لکوسیت‌ها دارای اختلاف معنی دار نبود ( $P \geq 0.05$ ) (جدول ۴).

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از عدم وجود اختلاف معنی دار در پارامترهای خونی مربوط به گلبول‌های قرمز در مرحله اول آزمایش بود ( $P \geq 0.05$ ) (جدول ۳). با توجه به اطلاعات جدول ۳، نمونه‌های تیمار تراکم پایین بیشترین تعداد گلبول سفید و تیمار تراکم

جدول ۳: میانگین فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های قرمز ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرورش داده شده در تراکم‌های مختلف (مرحله اول آزمایش)

تیمار	RBC ( $10^6/ml$ )	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
تراکم پایین	0.667 ± 0.061 a	6.73 ± 0.60 a	35.29 ± 4.35 a	52.75 ± 23.43 a	101.00 ± 3.11 a	19.14 ± 1.07 a
تراکم معمول	0.666 ± 0.030 a	6.46 ± 0.42 a	34.00 ± 3.16 a	51.26 ± 27.68 a	98.12 ± 3.35 a	19.00 ± 0.80 a
تراکم بالا	0.683 ± 0.036 a	6.77 ± 0.30 a	36.17 ± 1.47 a	53.16 ± 11.29 a	99.50 ± 1.22 a	18.67 ± 0.50 a

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است ( $P \geq 0.05$ ).

جدول ۴: میانگین فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های سفید ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرورش داده شده در تراکم‌های مختلف

تیمار	گلبول سفید (عدد/ $mm^3$ )	مونوسیت (درصد)	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)
تراکم پایین	7400 ± 574/61 a	4/14 ± 0/90 a	79/00 ± 1/41 a	13/00 ± 2/16 a	3/86 ± 0/57 a
تراکم معمول	6960 ± 445/50 ab	3/75 ± 1/22 a	79/60 ± 2/07 a	13/60 ± 1/82 a	3/80 ± 1/30 a
تراکم بالا	6383 ± 823/00 b	4/00 ± 0/63 a	79/00 ± 1/41 a	13/80 ± 2/32 a	3/17 ± 0/63 a

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است ( $P \geq 0.05$ ).

## بحث

نتایج حاصل از بررسی اثر تراکم ذخیره‌سازی و تغییر تراکم بر پارامترهای رشد و فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نشان داد که در انتهای دوره اول آزمایش، وزن نهایی ماهیان تیمار ۱ تراکم پایین با تیمار تراکم بالا دارای اختلاف معنی دار آماری بود. همچنین بعد از تعویض تراکم نیز بین ماهیان تیمار ۱ تراکم پایین با تیمار تراکم بالا اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد.

طبق نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه، تعداد گلبول قرمز در تیمار ۲ به طور معنی داری بیش‌تر از تیمار ۱ و ۳ بود ( $P < 0.05$ ). همچنین اختلاف میزان هموگلوبین بین تیمار ۳ و ۲ معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). بقیه شاخص‌های خونی مربوط به گلبول قرمز فاقد اختلاف معنی دار بودند ( $P \geq 0.05$ ) (جدول ۵). با توجه به نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه، پارامترهای خونی مربوط به گلبول‌های سفید در مرحله دوم آزمایش فاقد اختلاف معنی دار بودند ( $P \geq 0.05$ ) (جدول ۶).

جدول ۵: میانگین فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های قرمز ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از تغییر تراکم

تیما	( $\times 10^6/ml$ ) RBC	(g/dL) Hb	(%) Hct	(fl) MCV	(pg) MCH	(g/dL) MCHC
تراکم پایین	۰/۶۸۳±۰/۰۳۹ b	۶/۷۰±۰/۴۶ ab	۳۵/۸۳±۲/۶۰ a	۵۲۰/۱۷±۱۵/۹۲ a	۹۷/۳۳±۲/۳۷ a	۱۸/۵۸±۰/۵۷ a
تراکم معمول	۰/۷۲۷±۰/۰۲۲ a	۷/۱۷±۰/۲۷ a	۳۷/۶۷±۱/۷۵ a	۵۱۸/۵۰±۲۱/۷۱ a	۹۸/۶۲±۲/۲۸ a	۱۹/۰۳±۰/۴۱ a
تراکم بالا	۰/۶۸۸±۰/۰۶۹ b	۶/۶۳±۰/۴۳ b	۳۵/۳۰±۴/۱۸ a	۵۱۵/۲۸±۲۹/۵۴ a	۹۶/۹۲±۱/۹۰ a	۱۸/۹۰±۱/۰۷ a

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P \geq 0.05$ ).

جدول ۶: میانگین فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های سفید ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از تغییر تراکم

تیما	گلبول سفید ( $mm^3$ عدد)	مونوسیت (درصد)	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل (درصد)	اِئوزینوفیل (درصد)
تراکم پایین	۷۱۱۷±۲۹۲/۰۰ a	۳/۶۷±۱/۳۷ a	۷۹/۵۰±۲/۶۶ a	۱۳/۱۰±۲/۷۸ a	۳/۶۷±۱/۳۷ a
تراکم معمول	۷۵۳۳±۴۱۳/۰۰ a	۴/۳۳±۱/۲۱ a	۷۷/۰۰±۰/۸۹ a	۱۵/۲۰±۱/۴۷ a	۳/۵۰±۰/۸۴ a
تراکم بالا	۷۵۶۷±۵۷۵/۰۰ a	۴/۰۰±۱/۲۶ a	۷۸/۵۰±۲/۸۸ a	۱۳/۶۷±۲/۱۶ a	۳/۸۰±۲/۳۱ a

حروف لاتین یکسان در هر ستون بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P \geq 0.05$ ).

(۲۰۰۹) نیز اکسیژن‌دهی و دفع  $CO_2$  را از مؤلفه‌های ضروری در سیستم‌های با استفاده مجدد از آب دانسته‌اند. در آزمایشی که محمدی‌زاده خوشرو و همکاران (۱۳۹۰) در خصوص پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و افزایش تراکم آن در محیط پرورش با استفاده از پساب خروجی در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند، مشاهده شد که با افزایش سرعت آب تراکم ذخیره‌سازی نیز می‌تواند افزایش یابد. نتایج تأثیر سرعت‌های مختلف آب بر بار آلودگی آن و تراکم ذخیره‌سازی در این پژوهش با نتایج مطالعات Colt و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد که با نتایج مشاهده شده در این آزمایش که ماهیان تیمار تراکم کم نسبت به ماهیان تیمار تراکم بالا دارای درصد رشد بیشتر و تلفات کمتر بوده است، مطابقت دارد. در تحقیق حاضر سرعت جریان آب در تمامی حوضچه‌ها ثابت نگه داشته شد. بنابراین یکی از دلایل تلفات در تیمار تراکم بالا را می‌توان به کاهش کیفیت آب نسبت داد.

تراکم‌های پرورشی که نیازهای فیزیولوژی رفتاری به فضا می‌باشد، منجر به افت شرایط سلامتی و فیزیولوژی ماهی، کاهش تبدیل غذا به گوشت، کاهش رشد و در نهایت تلفات بیش‌تر می‌گردد. بنابراین تراکم به عنوان عامل استرس‌زای مزمن شناخته شده است (Rafatnezhad *et al.*, 2008; Trenzado *et al.*, 2006). همچنین تراکم ممکن است موجب کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش رشد ماهی شود (Jorgensen *et al.*, 1993).

Piper و همکاران (۱۹۸۲) در مطالعه اثر تراکم بر رشد فلاندر ژاپنی جوان پیشنهاد کردند که استرس ناشی از افت کیفی آب، تماس و تنش‌های گروهی بیشتر و تراکم بالا می‌تواند از دلایل مهم کاهش رشد این ماهی باشد. دامنه تحمل تراکم می‌تواند تحت تأثیر عواملی از جمله دمای آب، میزان اکسیژن محلول، مقدار غذا، تراکم ذخیره و یا سرعت تعویض آب باشد که با نتایج تحقیق حاضر کاملاً مشابهت داشت. Summerfelt و همکاران (۲۰۰۰) و Good و همکاران

طبق نتایج فرحمند (۱۳۷۲) اثر تراکم بالا بر افت کیفی آب منجر به کاهش اشتهای ماهی شده که این وضعیت بر رشد ماهی بی‌تاثیر نیست. Al Harbi و همکاران (۲۰۰۰) اثر تراکم را در پرورش ماهی تیلاپیا بر رشد و کیفیت آب مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که تراکم ماهی و مقدار ورودی غذا روی کیفیت آب اثر معنی‌دار دارند و تراکم بالا همراه با تغذیه زیاد می‌تواند سبب ایجاد غلظت‌های بالای از نیتروژن آمونیاکی و نیتريت، فسفر و مقادیر پایین اکسیژن محلول در آب مخازن شود. رفعت‌نژاد و همکاران (۱۳۸۹) نیز تاثیر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر برخی پارامترهای کیفی آب و فاکتورهای رشد فیل ماهی در مخازن پرورشی آزمایش نمودند. طبق این نتایج تراکم ذخیره اثر قابل توجهی بر کیفیت آب و رشد فیل ماهی جوان طی مدت ۵۶ روز پرورش داشته، به طوری که علاوه بر افت کیفی آب منجر به کاهش عملکرد تغذیه‌ای و رشد ماهی خواهد شد. بنابراین در تحقیق حاضر احتمالاً به علت کاهش کیفیت آب و همچنین تنش حاصل از تراکم، وزن ماهیان تیمار تراکم بالا نسبت به تیمار تراکم پایین، کم‌تر بوده است.

طبق نتایج حاصله از نرخ رشد ویژه در ۳۰ روز اول آزمایش بین ماهیان تیمار تراکم پایین با ماهیان تیمار تراکم بالا اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. Soils و همکاران (۱۹۸۸) در آزمایشی گزارش نمودند که با افزایش تراکم از میزان رشد طولی و وزنی کاسته می‌شود. زمانی که تراکم افزایش می‌یابد رقابت برای بدست آوردن غذا و مکان زندگی نیز زیاد می‌شود که این خود یک عامل کنترل‌کننده و شاید هم مهمترین عامل کنترل‌کننده جمعیت حیوانات باشد. نتیجه مطالعه اخیر مطابق با نتایج تحقیق حاضر بود.

نتایج حاصل از بررسی ضریب تبدیل غذایی در ۳۰ روز اول آزمایش نشان داد که با افزایش تراکم میزان ضریب تبدیل غذایی افزایش می‌یابد، به این صورت که این فراسنجه در تیمار تراکم پایین با تیمار تراکم بالا اختلاف معنی‌دار داشت. بنابراین افزایش بیش از حد تراکم بدون در نظر گرفتن شرایط کیفی آب و فیزیولوژی ماهی باعث افزایش ضریب تبدیل غذا خواهد شد.

در دوره دوم تحقیق (بعد از تعویض تراکم)، نرخ رشد ویژه، درصد بازماندگی، فاکتور وضعیت و وزن نهایی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نداشت، ولی میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. بعد از تعویض تراکم، ضریب تبدیل غذایی بین تیمار تراکم بالا و تیمار تراکم پایین اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. نتایج نشان داد که در تراکم بالا (در هر دو دوره) ضریب تبدیل غذایی افزایش می‌یابد.

در کل همه تحقیقات کاهش رشد و بقا را در ماهیان تیمار تراکم بالا نشان داده‌اند، که از مهم‌ترین دلایل آنها مهیا نبودن فضا و خوراک کافی، افزایش همنوع‌خواری، کاهش کیفیت، آب و کمبود اکسیژن و ... می‌باشد. بررسی نتایج در این تحقیق نشان می‌دهد، که فرضیه اثر معکوس افزایش تراکم بر روی رشد (طولی و وزنی) صحت می‌یابد، بدین ترتیب که هر چه بر میزان تراکم افزوده گردد، از میزان طول و وزن کاسته می‌شود.

سیستم فیزیولوژی ماهی می‌تواند توسط مجموعه‌ای از عوامل بیولوژی، شیمیایی و فیزیکی تحت تأثیر قرار گیرد. وقتی شرایط از محدوده تحمل

در واکنش به افزایش تراکم افزایش یافته است (Kjartansson et al., 1988).

میزان هماتوکریت و هموگلوبین به عنوان شاخص‌های خونی استرس ثانویه در ماهی مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات صورت گرفته علت افزایش هماتوکریت در سطوح استرس را ناشی از عواملی از قبیل کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن تعداد بیش‌تری گلبول قرمز خون از بافت‌های خون ساز نسبت داده‌اند. تغییر هر یک از فاکتورهای فوق منجر به تغییر هماتوکریت می‌گردد (Barton and Iwama, 1991). شاخص‌هایی خون‌شناسی تحت تأثیر عوامل مختلف نظیر گونه ماهی، اندازه، ژنتیک و شرایط محیطی (فصل سال، شوری، دوره‌های نوری، دما) می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصله، تعداد گلبول‌های قرمز ماهیانی که از تراکم بالا به تراکم پایین منتقل شدند، تغییری نکرد. ولی تعداد گلبول‌های قرمز ماهیانی که از تراکم پایین به تراکم بالا منتقل شدند، افزایش یافت.

بر طبق نظر Jensen و Weber (۱۹۸۸) ساخت گلبول‌های قرمز و سنتز هموگلوبین نیاز به زمان طولانی بوده و فقط در سازگاری‌های بلندمدت انجام می‌شود. همچنین تغییرات فراسنجه‌های خونی به عنوان پاسخ‌های ثانویه به عوامل استرس‌زا وابسته به مقدار اکسیژن می‌باشد (Zanjani et al., 1967). بنابراین تأمین اکسیژن محلول مناسب در طول آزمایش ممکن است تأثیر استرس ناشی از تراکم را کاهش دهد.

اندیس‌های گلبول قرمز (MCH، MCV) و MCHC بر اساس مقادیر گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به اینکه مقادیر فراسنجه‌های مذکور تفاوت‌چندانی در تیمارهای

فیزیولوژیک ماهی فراتر رود، رشد، فعالیت، پاسخ به بیماری‌های عفونی و بقا تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. پاسخ ثانویه به استرس را می‌توان از طریق اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی ثانویه نظیر تغییر در فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ارزیابی نمود.

مطالعات بسیاری در خصوص اهمیت مطالعه شاخص‌های خونی برای ارزیابی استرس ناشی از افزایش تراکم انجام شده است. تغییر در بیوشیمی خون نشان‌دهنده شرایط نامساعد محیطی و یا وجود عوامل استرس‌زا می‌باشد (Barcellos et al., 2004). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیانی که در تراکم بالا پرورش داده شده بودند، در مقایسه با دو تیمار دیگر بالاتر بود. هر چند این اختلاف در سی روز اول معنی‌دار نبود. Charoo و همکاران (۲۰۱۳) نیز هنگام مطالعه در مورد استرس ناشی از تراکم ذخیره‌سازی باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. Omar و Kamal (۲۰۱۱) نیز به چنین نتایجی در هنگام مطالعه اثر تراکم ذخیره‌سازی بر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی کپور نقره‌ای دست یافتند. افزایش میزان گلبول‌های قرمز و هموگلوبین احتمالاً به علت کاهش اکسیژن آب در تیمار با تراکم بالا است و ماهی در شرایط کمبود اکسیژنی سعی می‌کند بازده انتقال اکسیژن را از طریق افزایش این فراسنجه‌ها جبران نماید.

Montero و همکاران (۱۹۹۹) افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را در پاسخ به افزایش تراکم ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) گزارش نموده‌اند. همچنین در ماهی آزاد (*Salmo salar*) نیز مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC

مختلف نداشت، مقادیر این اندیس‌ها نیز تحت تأثیر تراکم قرار نگرفت.

تعداد گلبول‌های سفید و ترکیب آن یکی از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی بوده و نشان دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش بدن به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد. از جمله عوامل موثر در تعداد گلبول‌های سفید می‌توان به عواملی چون بیماری‌های عفونی، التهاب، استرس، دما، وضعیت تغذیه، سن، جنس و تغییر در میزان هورمون‌ها اشاره کرد (سراجیان و همکاران، ۱۳۸۵). همچنین یکی از بارزترین پارامترهای خونی اندازه‌گیری شده، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌باشد که نشان‌دهنده درصد انواع سلول‌های سفید خون می‌باشد. تعداد گلبول‌های سفید در مطالعه حاضر در سی روز اول کاهش یافت. نتایج این تحقیق مطابق تحقیق Pickering و Pottinger (۱۹۸۷) بود که گزارش نمودند مقدار گلبول‌های سفید با افزایش تراکم در ماهیان خال‌قرمز (*Salmo trutta*) و رنگین‌کمان کاهش یافت. به نظر می‌رسد استرس ناشی از افزایش تراکم و تغییرات محیطی ناشی از آن باعث کاهش تعداد گلبول‌های سفید شده است. نتایج مشابهی نیز در تحقیقات دیگر گزارش شده است (Wedemeyer et al., 1990; Alimahmoudi et al., 2015).

هدف اکثر تحقیقات انجام شده در آبرزی پروری افزایش تولید در واحد سطح می‌باشد. بنابراین افزایش تراکم یکی از راه‌حل‌های مهم در این زمینه است. ولی افزایش بیش از حد تراکم شانس ابتلا به بیماری را در آبزیان پرورشی به سبب پایین آمدن کیفیت آب و به وجود آمدن شرایط استرس‌زا، افزایش می‌دهد. با توجه به نتایج حاصل، اگر پرورش‌دهنده تحت شرایط خاص

مجبور به افزایش تراکم در حوضچه‌های پرورشی شود، بعد از رفع شرایط ناخواسته می‌تواند با کم کردن تراکم، کاهش رشد ناشی از تراکم بالا را جبران نماید. در کل همه تحقیقات کاهش رشد و بقا را در ماهیان تیمار تراکم بالا نشان داده‌اند، که از مهم‌ترین دلایل آنها مهیا نبودن فضا و خوراک کافی، افزایش هم‌نوع‌خواری، کاهش کیفیت، آب و کمبود اکسیژن می‌باشد. در نتیجه‌گیری نهایی افزایش تراکم بالاتر از حد معمول باعث کاهش رشد می‌شود. از طرفی تراکم‌های خیلی پایین نیز باعث اتلاف هزینه و در نتیجه کاهش سودآوری مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد شد. بنابراین به دست آوردن تراکم بهینه در پرورش آبزیان می‌تواند ضامن تولید و افزایش بهره‌وری از این صنعت شود.

### سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

### منابع

۱. دروموندسدویک، ا.، (۱۳۷۹). راهنمای تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا. ترجمه: مهرداد عبدا... مشائی. انتشارات آسمان، ۲۰۸ صفحه.
۲. رفعت‌نژاد، س.، فلاحتکار، ب.، طلوعی‌گیلانی، م.ح.، ابراهیم‌زاده‌شیخانی، م.، حیدری‌قادی کلایی، م.، ۱۳۸۹. اثر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر برخی پارامترهای کیفی آب و فاکتورهای رشد فیل ماهی (*Huso huso*) در مخازن پرورشی. مجله دامپزشکی ایران، ۶(۴)، ۴۷-۳۸.

11. Barton, B.A., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Disease, 1, 3-26.
12. Blaxhall, P.C., 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish: a review of selected literature. Journal of Fish Biology, 4, 593-604.
13. Charoo, S.Q., Chalkoo, S.R., Qureshi, T.A., 2013. Effect of Stocking Density Stress on the Hematological Profile of *Oncorhynchus mykiss*. International Journal of Advanced Agricultural Sciences and Technology, 2, 23-27.
14. Colt, J., 2005. Water quality requirements for reuse systems. Aquaculture Engineering, 34(3), 143-158.
15. Docan, A., Cristea, V., Dediu, L., Mocanu, M., and Grecu, I., 2011. The impact of level of the stocking density on the haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in recirculating aquaculture systems. International Journal of the Bioflux Society, 4(4), 536-541.
16. Good, C., Daridson, J., Welsh, C., Snekvik, K., Summerfelt, S., 2010. The effects of carbon dioxide on performance and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in water recirculation aquaculture systems. Aquaculture Engineering, 42(2), 51-56.
17. Jorgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M., 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Aquaculture, 110, 191-204.
18. Kamal, S.M., Omar, W.A., 2011. Effect of different stocking densities on hematological and biochemical parameters of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* fingerlings. Life Science Journal, 8(4), 580-586.
19. Kjartansson, H., Fivelstad, S., Thomassen, J.M., Smith, M.J., 1988. Effects of stocking densities on physiological parameters and growth of adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in circular tanks. Aquaculture, 73, 261-274.
20. Kpundeh, M.D., He, J., Qiang, J., Hong, Y., Xu, P., 2014. Stocking densities and zero culture-water exchange can modulate growth and hemato-immunological functions in juvenile gift strain Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. International Journal of Life Sciences Research, 2(3), 114-126.
21. Lefrancois, C., Claireaux, G., Mercier, C., Aubin, J., 2001. Effect of density on the routine metabolic expenditure of farmed
3. سراجیان، ش.، ۱۳۸۵. بررسی و مقایسه برخی از فاکتورهای خونی و هورمون‌های استروئیدی در ماهیان ماده نارس و بالغ کفال طلایی دریای خزر ( *Liza auratus*). پایان نامه دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۱۳ صفحه.
4. فرحمند، ح.، ۱۳۷۲. ایجاد تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه منابع طبیعی نور. ۱۲۷ صفحه.
5. قلی‌پور، ف.، علامه، س.ک.، محمدی، م.، نصر، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر تراکم بر رشد و ضریب تبدیل خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۷۰، ۲۷-۲۳.
6. محمدی‌زاده خوشرو، م.، شمسایی‌مهرجان، م.، نظری، ک.، افسر، ع.، و پاک‌زاد، م.، ۱۳۹۰. پرورش ماهی قزل‌آلا و افزایش تراکم آن در محیط پرورش با استفاده از سپاب خروجی در شرایط آزمایشگاهی. مجله شیلات، ۵(۳)، ۹۸-۹۱.
7. Aalimahmoudi, M., Salehipour Bavarsad, S., Saeid Moghdani, S., 2015. Effect of different stocking densities on haematological and biochemical parameters of great sturgeon juveniles (*Huso huso* Linnaeus, 1758). Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences, 5(8), 348-352.
8. Al-Harbi, A.H., Truax, R., Thune, R.L., 2000. Production and characterization of monoclonal antibodies against tilapia *Oreochromis niloticus* immunoglobulin. Aquaculture, 188, 219-227.
9. Ajani, E.K., Setufe, S.B., Oyebola, O.O., 2015. Effects of stocking density on haematological functions of juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) fed varying crude protein levels. African Journal of Food Science, 9(2), 65-69.
10. Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., De Souza, C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad, J., Lacerda, L.A., Terra, S., 2004. Hematological changes in jundia (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. Aquaculture, 237, 229-236.

28. Soils, N.B., 1988. Biology and Ecology and culture of *Penaeus monodon*. SEAFDE, AQD, 3-37.
29. Summerfelt, S.T., Vinci, B.J., Piedrahita, R.H., 2000. Oxygenation and carbone dioxide control in water reuse systems. *Aquacultural Engineering*, 22, 87- 108.
30. Tawwab, M.A., Mousa, M., Sharaf, S., Ahmad, M., 2005. Effect of crowding stress on some physiological functions of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fed different dietary protein levels. *International Journal of Zoological Research* 1(1), 41-47.
31. Trenzado, C.E., Morales, A.E., Higuera, M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*), selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture*, 258, 583-593.
32. Weber, R.E., Jensen, F.B., 1988. Functional adaptations in hemoglobins from ectothermic vertebrates. *Annual Review of Physiology*, 50, 161-179.
33. Wedemeyer, G.A., Barton, B., Mcleay, D.J., 1990. Stress and acclimation. *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 451-489.
34. Zanjani, E.D., Contrera, J.F., Gorwn, A.S., Cooper, G.W., Wong, K.K., Katz, R., 1967. The renal erythropoietic factor (REF). III. Enzyme role in erythropoietin production. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicin*, 125, 505.
- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 195 (3-4), 269 -277.
22. Montero, D., Iyquierdo, M.S., Tort, L., Roaina, L., Vergara, J.M., 1999. High stocking density produces crwoding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiological Biochemistry*, 20, 53-60.
23. North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N.R., 2006. The impact of stocking density on the welfare rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 255, 466-479.
24. Pickering, A.D., Pottinger, T.G., 1987. Crowding causes prolonged leucopenia in salmonid fish, despite interrenal acclimation. *Journal of Fish Biology*, 30, 701-702.
25. Piper, R.G., McElwain, I.B., Orme, L.E., McCraren, J.P., Fowler, L.G., Leonard, J.R., 1982. In: *Fish Hatchery Management*, US Fish and Wildlife Service, Washington DC, USA. P, 517.
26. 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, 1506-1513.
27. Ricker, W., 1979. Growth rates and models. In: *Fish physiology. Bioenergetics and growth*. Hoar, S., Randall, D., Brett, J., Eds). pp 677-743 Academic Press, New York, USA.