بسم اللّه الرّحمن الرّحيم

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته شیلات

بررسی وضعیت سیستم تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان استخوانی

(کلمه، *Rutilus rutilus*؛ سفید، *Rutilus frisii kutum* و کپور دریایی، *Cyprinus carpio*)

در معرض شوری مستقیم و تدریجی

تحقیق و نگارش:

عبدالجبار قزل

اساتید راهنما:

دکتر محمدرضا ایمانپور

دکتر عبدالمجید حاجی‌مرادلو

اساتید مشاور:

دکتر ولی اله جعفری

مهندس علی اکبر پاسندی

تابستان ۱۳۹۲

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

تقدیم به

همسر مهربان

و

فرزندان گلم

محمد امین

و

محدثه

که تمام سختی ها را در طول تحصیل تحمل و اوقات خوب زندگی شان را فدای اینجانب کردند.

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

تشکر وقدردانی

حمد وسپاس مخصوص خداوندی است که پروردگار جهانیان است، بخشنده ومهربان است، مالک روز جزاست، (پروردگارا) تنها تو را می پرستیم و تنها از تویاری می جوئیم، ما را به راه راست هدایت کن، راه کسانی که به آنان نعمت داده ای، نه کسانی که مورد غضب واقع شده اند و نه گمراهان.

خداوند را شاکرم که نعمت تحصیل را برایم فراهم و افتخار شاگردی اساتید فرزانه ومجرب را داشته باشم.

بدین وسیله از زحمات اساتید راهنما دکتر محمدرضا ایمانپور و دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو که در انجام این تحقیق راهنمایی های ارزنده ای را داشته اند بی نهایت سپاسگزارم.

ازاساتید محترم مشاور آقایان دکتر ولی اله جعفری و مهندس علی اکبر پاسندی مدیر کل محترم شیلات استان گلستان که همواره مشوق و در اجرای پروژه نهایت همکاری را داشتند، بی نهایت متشکرم.

از داور گرانقدر جناب آقای دکتر حامد کلنگی به پاس قبول زحمات این پایان نامه و ارائه نقطه نظرات ارزشمند تشکر می نمایم.

از اساتید محترم گروه شیلات و مدیر گروه تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر شعبانپور، روسای محترم مراکز بازسازی ذخایر استان آقایان مهندس جباری و مهندس حسن پور و از تمام همکاران شیلاتی و مرکز تحقیقات استان کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای مهندس جافر و مهندس نعیمی که در اجرای تحقیق نهایت همکاری را داشتند تشکر و امیدوارم همیشه سربلند باشند.

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

چکیده

یکی از مهمترین عوامل فیزیولوژیک موثر در موفقیت رهاسازی ماهیان، توانایی تنظیم اسمزی، توسط بچه ماهیان در محل رهاسازی می باشد. در این مطالعه وضعیت سیستم تنظیم اسمزی بچه ماهیان استخوانی (کلمه، سفید و کپوردریایی) در دو مرحله تحت تنش مستقیم و افزایش تدریجی شوری بررسی شد. درمرحله اول تعداد ۵۰ قطعه از بچه ماهیان در شوری های مختلف ۰، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر در سه تکرار به داخل آکواریوم (با حجم آبگیری ۸۰ لیتر) منتقل شدند. نمونه گیری از بچه ماهیان در روز های اول، سوم، پنجم و هفتم جهت اندازه گیری پارامترهای کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت صورت گرفت. در مرحله دوم آزمایش بچه ماهیان تحت تاثیر افزایش تدریجی شوری های ۰، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر در سه تکرار (هر مرحله ۹۰ دقیقه) قرار گرفتند. شرایط و دمای محیط آزمایش وهمچنین نحوه نمونه گیری از بچه ماهیان (پایان هر مرحله) مانند آزمایش مرحله اول بود. بررسی نتایج در مرحله اول نشان داد که بچه ماهیان سفید در برابر شوری های مختلف ۰، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر نسبت به بچه ماهیان کلمه و کپوردریایی مقاوم است. اثر شوری روی میزان بازماندگی بچه ماهیان در هر سه گونه معنی دار بود($P<۰/۰۵$). اثرات شوری، زمان و اثر متقابل شوری و زمان روی مقادیر گلوکز و هماتوکریت بچه ماهیان هر سه گونه معنی دار نبود($P>۰/۰۵$). و در بچه ماهیان سفید اثرات شوری، زمان و اثر متقابل آن ها روی میزان کلسیم معنی دار بود($P<۰/۰۵$) ولی در بچه ماهیان کلمه و کپوردریایی روی میزان کلسیم معنی دار نبود($P>۰/۰۵$). بررسی نتایج در مرحله دوم نشان داد که میزان بازماندگی بچه ماهیان در هر سه گونه بیش از ۹۵% بود. اثر شوری روی مقادیر پارامترهای کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت بچه ماهیان در هر سه گونه معنی دار نبود($P>۰/۰۵$). وهمچنین طی این مطالعه، ارتباط مستقیمی بین تعداد و اندازه سلول های کلراید با شوری وجود داشت.

واژه های کلیدی: تنظیم اسمزی، شوری، ماهی کلمه، ماهی سفید، کپوردریایی

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول

۱- مقدمه ۲

۱-۲- تنظیم اسمزی در ماهیان ۲

۱-۳- تعریف مسئله و بیان سوال های اصلی تحقیق ..... ۳.

۱-٤- فرضیه های تحقیق ..... ۳.

۱-٥- اهداف تحقیق ۳

فصل دوم

۲- مروری برتحقیقات انجام شده..... ٥

۲-۱- تحقیقات انجام شده در ایران..... ٥

۲-۲- تحقیقات انجام شده در خارج از کشور..... ٦

۲-۲-۱- تاثیر تنش شوری روی میزان بازماندگی..... ٦

۲-۲-۲- تاثیر تنش شوری روی تنظیم یونی..... ٦

۲-۲-۳- تاثیر تنش شوری روی شاخص هماتوکریت..... ٦

۲-۲-٤- تاثیر تنش شوری روی سلول های کلراید..... ۷

فصل سوم

۳- مواد وروش ها..... ۹

۳-۱- محل اجرای طرح..... ۹

۳-۲- تامین وانتقال بچه ماهیان..... ۹

۳-۳- بررسی کیفی بچه ماهیان..... ۹

۳-٤- تیمارهای آزمایشی..... ۹

۳-٥- کیفیت ونحوه تامین آب محیط آزمایش..... ۹

۳-٦- مراحل انجام تحقیق..... ۱۰

۳-٦-۱- مرحله اول آزمایش..... ۱۰

۳-٦-۲- مرحله دوم آزمایش..... ۱۰

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۳-۷- تعیین درصد بقاء..... ۱۰
۳-۸- تهیه سرم بدن..... ۱۰
۳-۹- اندازه گیری هماتوکریت..... ۱۱
۳-۱۰- اندازه گیری کلسیم، منیزیم و گلوکز..... ۱۱
۳-۱۱- نمونه برداری از آبشش ها..... ۱۳
۳-۱۲- آنالیز آماری..... ۱۳
۳-۱۲-۱- مرحله اول آزمایش..... ۱۳
۳-۱۲-۲- مرحله دوم آزمایش..... ۱۳

فصل چهارم

٤- نتایج..... ۱۵
٤-۱- کیفیت آب..... ۱۵
٤-۲- اثر تنش شوری روی بقاء بچه ماهیان..... ۱۵
٤-۲-۱- اثر تنش شوری روی بقاء بچه ماهیان سفید..... ۱۵
٤-۲-۲- اثر تنش شوری روی بقاء بچه ماهیان کلمه..... ۱٦
٤-۲-۳- اثر تنش شوری روی بقاء بچه ماهیان کپوردریایی..... ۱٦
٤-۳- اثر تنش شوری روی پارامترهای کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت بچه ماهیان..... ۱۷
٤-۳-۱- نتایج آزمایش در بچه ماهیان گونه سفید..... ۱۷
٤-۳-۱-۱- کلسیم..... ۱۷
٤-۳-۱-۲- منیزیم..... ۱۸
٤-۳-۱-۳- گلوکز..... ۱۸
٤-۳-۱-٤- هماتوکریت..... ۱۹
٤-۳-۲- نتایج آزمایش دربچه ماهیان گونه کلمه..... ۱۹
٤-۳-۲-۱- کلسیم..... ۱۹
٤-۳-۲-۲- منیزیم..... ۲۰
٤-۳-۲-۳- گلوکز..... ۲۰
٤-۳-۲-٤- هماتوکریت..... ۲۱

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

٤-٣-٣- نتایج آزمایش در بچه ماهیان گونه کپوردریایی..... ٢١
٤-٣-٣-١- کلسیم..... ٢٢
٤-٣-٣-٢- منیزیم..... ٢٢
٤-٣-٣-٣- گلوکز..... ٢٢
٤-٣-٣-٤- هماتوکریت..... ٢٣
٤-٤- اثر افزایش تدریجی شوری روی بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت بچه ماهیان..... ٢٣
٤-٤-١- اثر افزایش تدریجی شوری روی بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت در بچه ماهیان سفید..... ٢٣
٤-٤-٢- اثر افزایش تدریجی شوری روی بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت در بچه ماهیان کلمه..... ٢٤
٤-٤-٣- اثر افزایش تدریجی شوری روی بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت در بچه ماهیان کپوردریایی..... ٢٤
٤-٥- اثر تنش های شوری روی اندازه و تعداد سلول های کلراید..... ٢٥

فصل پنجم

٥- بحث..... ٢٧
٥-١- اثر تنش های شوری روی بقاء بچه ماهیان..... ٢٧
٥-٢- اثر تنش شوری روی کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت بچه ماهیان ٢٨
٥-٣- اثرتنش شوری روی هماتوکریت ..... ٢٨.
٥-٤- شوری تدریجی ٢٩
٥-٤-١- تعیین فاصله زمانی مناسب ٢٩
٥-٤-٢- بقاء در شوری تدریجی ٢٩
٥-٤-٣- اثرافزایش تدریجی شوری روی کلسیم، منیزیم و گلوکز بچه ماهیان..... ٢٩
٥-٤-٤- اثرافزایش تدریجی شوری روی هماتوکریت..... ٢٩
٥-٥- اثرتنش شوری روی اندازه و تعداد سلول های کلراید..... ٣٠
٥-٦- نتیجه گیری..... ٣١
٥-٧- پیشنهادات اجرایی..... ٣١
٥-٨- پیشنهادات پژوهشی..... ٣١
منابع
چکیده انگلیسی

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه گیری یون کلسیم سرم بدن

جدول ۳-۲- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه گیری یون منیزیم سرم بدن

جدول ۳-۳- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه گیری گلوکز سرم بدن

جدول٤-۱- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان سفید در شوری های مختلف و در زمان های متفاوت (در دمای ۲٤°c)

جدول٤-۲- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان کلمه در شوری های مختلف و در زمان های متفاوت (در دمای ۲۸°c)

جدول٤-۳- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان کپوردریایی در شوری های مختلف و در زمان های متفاوت (در دمای ۳۰°c)

جدول٤-٤- مقایسه میانگین داده های کلسیم (mg/dl) بچه ماهیان سفید تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۲٤°c)

جدول٤-٥- مقایسه میانگین داده های منیزیم(mg/dl) بچه ماهیان سفید تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۲٤°c)

جدول٤-٦- مقایسه میانگین داده های گلوکز (mg/dl) بچه ماهیان سفید تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای c ۲٤°)

جدول٤-۷- مقایسه میانگین داده های هماتوکریت بچه ماهیان سفید تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۲٤°c)

جدول٤-۸- مقایسه میانگین داده های کلسیم (mg/dl) بچه ماهیان کلمه تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۲۸°c)

جدول٤-۹- مقایسه میانگین داده های منیزیم (mg/dl) بچه ماهیان کلمه تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای c ۲۸°)

جدول٤-۱۰- مقایسه میانگین داده های گلوکز(mg/dl) بچه ماهیان کلمه تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۲۸° c)

جدول٤-۱۱- مقایسه میانگین داده های هماتوکریت بچه ماهیان کلمه تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای c ۲۸°)

جدول٤-۱۲- مقایسه میانگین داده های کلسیم (mg/dl) بچه ماهیان کپور دریایی تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۳۰°c)

جدول٤-۱۳- مقایسه میانگین داده های منیزیم (mg/dl) بچه ماهیان کپوردریایی تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۳۰°c)

جدول٤-۱٤- مقایسه میانگین داده های گلوکز (mg/dl) بچه ماهیان کپور دریایی تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۳۰°c)

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

جدول٤-١٥- مقایسه میانگین داده های هماتوکریت بچه ماهیان کپور دریایی تحت تنش شوری های مختلف در زمان های متفاوت (دردمای ۳۰°c)

جدول٤-١٦- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان سفید درافزایش تدریجی شوری در زمان های متفاوت (در دمای ۲٤°c)

جدول٤-١٧- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان کلمه در شوری های مختلف و در زمان های متفاوت (در دمای ۲۸°c)

جدول٤-١٨- مقایسه میانگین در صد بقاء بچه ماهیان کپوردریایی در شوری های مختلف و در زمان های متفاوت (در دمای ۳۰° c)

جدول ٤-١٩- مقایسه میانگین پارامترهای بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت اندازه گیری شده بچه ماهیان سفید در افزایش تدریجی شوری (در دمای ۲٤°c و فاصله زمان ۹۰ دقیقه)

جدول ٤-٢٠- مقایسه میانگین پارامترهای بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت اندازه گیری شده بچه ماهیان کلمه در افزایش تدریجی شوری (در دمای ۲۸°c و فاصله زمان ۹۰ دقیقه)

جدول ٤-٢١- مقایسه میانگین پارامترهای بازماندگی، کلسیم، منیزیم، گلوکز و هماتوکریت اندازه گیری شده بچه ماهیان کپوردریایی در افزایش تدریجی شوری (در دمای ۳۰°c و فاصله زمان ۹۰ دقیقه)

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

فصل اول

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۱-مقدمه

ماهی‌ها پست‌ترین گروه مهره‌داران هستند که در محیط‌های دریایی و آب شیرین از حدود ۵۰۰ میلیون سال قبل سازگاری یافته‌اند. انتخاب طبیعی، در ماهیانی که در این محیط‌های آبی به گستره‌ای بی‌کران از تفاوت‌ها سازگاری یافته‌اند، منجر به فیزیولوژی‌های متنوع شده است و اطلاعات بسیار مهمی را در جهت روشن ساختن اسرار تکاملی اولیه مهره‌داران بیان می‌کند(وانگ و لی، ۲۰۰۷).

دریاچه خزر با وسعتی در حدود ۴۰۰ هزار کیلومتر مربع بزرگترین دریاچه جهان و یک اکوسیستم آبی بسته است که به لحاظ دارا بودن ویژگی‌های منحصر به فرد اکولوژیکی، زیستگاه مناسبی برای زندگی ماهیان به حساب می‌آید(عبدالرحما نوف، ۱۹۶۲).

ماهیان دریای خزر شامل ۷۵ گونه از ۱۱ خانواده می‌باشند که ۳۳% از آن را خانواده کپورماهیان، ۲۸% را گاوماهیان و ۱۴% را شگ ماهیان تشکیل داده و در مجموع ۷۵% گونه و زیرگونه‌های ساکن در این دریا را تشکیل می‌دهند(عقیلی و همکاران، ۱۳۸۰).

اکثر گونه‌های اقتصادی ماهیان استخوانی سواحل ایرانی دریای خزر جزء گونه‌های مربوط به ذخایر ساحلی و رود کوچ بوده و به نقل از قلی اف (۱۹۹۷) طی دهه‌های ۱۳۶۰-۱۳۲۰، ذخایر ماهیان استخوانی به دلیل صید بی‌رویه، برداشت بیش از حد از آب رودخانه‌ها و از بین رفتن محل‌های تخم‌ریزی طبیعی ماهیان در رودخانه‌ها و تالاب‌های ساحلی و کاهش سطح آب دریای خزر روند کاهش شدیدی داشته است. لذا سالانه شیلات ایران اقدام به بازسازی ذخایر آن‌ها از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی میلیون‌ها قطعه از انواع بچه‌ماهیان استخوانی به رودخانه‌های منتهی به دریا می‌نماید(عقیلی و همکاران، ۱۳۸۰).

۲-۱- تنظیم اسمزی در ماهیان

مهاجرت از جالب‌ترین و شگفت‌انگیزترین رفتارهای جانوران است. ماهیان نیز به عنوان یکی از گروه‌های بزرگ جانوری با پدیده مهاجرت بیگانه نیستند. از طرفی ماهیان دارای مکانیسمی هستند که مراحل اولیه تکامل در محل زادگاه خود را به خاطر می‌سپارند و در هنگام بلوغ آن محل را پیدا می‌کنند. در کشور روسیه سالیانه میلیون‌ها بچه‌ماهی را پس از پرورش در استخرهای خاکی، توسط کانال‌های مخصوص (که جهت انتقال بچه‌ماهیان تعبیه گردیده) وارد رودخانه ولگا می‌کنند و یا با سازگار شدن توسط کشتی‌های واجد آکواریوم در دریاها رهاسازی می‌گردند. مهاجرت ماهیان بین دو محیط متفاوت از نظر شوری نیازمند مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌باشد. بنابراین یکی از مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیک موثر در موفقیت رهاسازی ماهیان، توانایی تنظیم اسمزی توسط بچه‌ماهیان در محل رهاسازی و نیز در هنگام انتقال از محل رهاسازی به مقصد نهایی یعنی دریا است(عطایی‌مهر و همکاران، ۱۳۸۵). تنظیم اسمزی شامل تبادلات پمپ یونی در آبشش‌ها و سایر اندام‌های تنظیم اسمزی نظیر روده و کلیه می‌باشد که تابع عوامل متعددی نظیر دما است. شاخص‌های متعددی را می‌توان جهت بررسی نحوه تنظیم اسمزی در ماهیان رهاسازی شده در نظر گرفت. آبشش‌ها، اندامی منحصر به فرد هستند که بیشترین مطالعه در زمینه تنظیم اسمزی و یونی ماهیان روی آن صورت گرفته است و الگویی مناسب جهت مطالعه مکانیزم‌های تنظیمی و انتقال یونی را فراهم نموده است. ماهیان استخوانی (تکامل یافته‌ترین گروه از ماهیان)، نیازمند داشتن کاراترین مکانیزم‌های تنظیم یونی-اسمزی به منظور حفظ هموستازی مایع بدن هستند که برای عملکردهای طبیعی فرآیندهای بیوشیمیایی-فیزیولوژیکی ضروری است(وانگ و لی، ۲۰۰۷).

ماهیان استخوانی تحت تاثیر سازگاری با آب شور دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین کلیوی می‌گردند و به این ترتیب تغییراتی در غلظت یون‌ها، سلول‌های کلراید و هماتوکریت و برخی عوامل دیگر ایجاد می‌شود. به علاوه روند تنظیم اسمزی در ماهیان فرآیندی استرس‌زا و انرژی خواه است که می‌تواند باعث ایجاد تلفات در ماهیان شود(مارشال، ۲۰۰۲). لذا جایگاه‌های رهاسازی بچه‌ماهیان در رودخانه از با اهمیت‌ترین فاکتورها در زمان رهاسازی محسوب می‌گردد. مقاومت در برابر تنش شوری تحت تاثیر عواملی نظیر میزان شوری، عوامل محیطی نظیر دما، گونه، دستکاری، اندازه، سن، مراحل مختلف زیستی و شرایط تغذیه‌ای می‌باشد.

گونه های ماهی کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*)، سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) و کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) یوری‌هالین آب‌های لب شور و همه‌چیزخوار بوده، بیشتر زندگی خود را در آب‌های با شوری ۱۳ گرم در لیتر سپری می‌کنند.

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۳-۱- تعریف مسئله و بیان سوال‌های اصلی تحقیق

به دلیل صید بی‌رویه و تخریب بستر تخم‌ریزی، میزان ذخایر گونه‌های با ارزش دریای خزر به شدت کاهش یافته و جزء گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته‌اند. موفقیت در رهاسازی و افزایش ضریب برگشت شیلاتی نتیجه تلاش شبانه‌روزی پرسنل و سرمایه ملی خواهد بود. کم شدن آب رودخانه‌ها به خصوص در زمان رهاسازی تحت تاثیر پیشروی آب دریا تا چندین کیلومتر از مصب قرار گرفته و با بالا رفتن شوری آب منجر به مرگ بچه‌ماهیان می‌گردد. لذا بررسی توانایی تنظیم اسمزی و بحث سازگاری بچه ماهیان کمک شایانی در بهبود شرایط زیستی و پی بردن به زمان و مکان مناسب رهاسازی خواهد داشت. در این تحقیق وزن و دمای بچه‌ماهیان با شرایط کارگاهی در زمان رهاسازی یکسان و تلاش می‌شود به سوالات زیر پاسخ داده شود:

الف: تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان در واکنش به شوری‌های مختلف هنگام رهاسازی چگونه است؟

ب: تاثیر شوری‌های مختلف در اندازه و تعداد سلول‌های کلراید چیست؟

ج: تاثیر شوری‌های مختلف بر روی مقادیر هماتوکریت، یون‌های کسلیم، منیزیوم و گلوکز در سرم خون بچه ماهیان چیست؟

۴-۱- فرضیه‌های تحقیق

الف:سیستم تنظیم اسمزی و سازگاری بچه‌ماهیان با سن، اندازه و گونه در ارتباط است.

ب: با افزایش شوری، تعداد و اندازه سلول‌های کلراید تغییر می‌کند.

ج: با افزایش شوری مقادیر فاکتورهای خونی تغییر می‌کند.

۵-۱- اهداف تحقیق

الف: تعیین تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان در شوری‌های مختلف به صورت مستقیم و تدریجی

ب: تعین اثر سطوح مختلف شوری روی اندازه و تعداد سلول‌های کلراید

ج: تعیین اثر سطوح مختلف شوری بر روی مقادیر پارامترهای هماتوکریت، کلسیم، منیزیوم و گلوکز با هموژنیزه کردن بچه ماهیان

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

فصل دوم

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۲-مروری بر تحقیقات انجام شده

۲-۱- تحقیقات انجام شده در ایران:

ایمانپور در سال ۱۳۷۸ با بررسی روی بچه ماهیان قره‌برون *Acipenser persicus* رهاسازی شده به گرگان‌رود میزان تلفات قره‌برون در شوری ۵گرم در لیتر را پس از گذشت ۳۰ ساعت ۳ تا ۵% اعلام کرد.

جبارزاده شیاده و همکاران(۱۳۷۹)، به بررسی چگونگی سازگاری بچه تاس‌ماهیان ایرانی، *A. persicus*، با شوری‌های مختلف ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر پرداختند. بچه ماهیان در سه وزن ۱/۵، ۳ و ۵ گرم از آب شیرین به آب شور با غلظت‌های بالا انتقال یافتند. غلظت سدیم، پتاسیم و کلر سرم خون و تغییرات اندازه و تعداد سلول کلراید در آبشش اندازه‌گیری شدند. غلظت سدیم در سرم خون در شوری‌های بالاتر دارای یک روند نامحسوس بوده ولی غلظت پتاسیم یک روند کاهشی را نشان داده است.سلول کلراید هم از لحاظ تعداد و هم از لحاظ اندازه با افزایش شوری و زمان افزایش می‌یابد. بر اساس این نتایج می‌توان بیان نمود میزان بقاء با افزایش وزن و شوری افزایش یافت.

بر اساس تحقیقات صورت پذیرفته توسط حافظ امینی و عریان در سال ۱۳۸۱ روی ماهیان کپور معمولی*C.carpio* با اوزان مختلف ۵۰ تا ۹۰ گرم مشخص شد که در غلظت ۱۸ گرم در لیتر کلرید سدیم کلیه ماهیان در کمتر از ۱۲ ساعت تلف می‌شوند. در خالی‌که در شوری ۱۵ گرم در لیتر تلفات دسته جمعی ماهیان در روز چهارم اتفاق می‌افتد. در این تحقیق میزان هماتوکریت ون پس از ایجاد تنش شوری افزایش می‌یابد و با گذشت زمان به تدریج از میزان آن کاسته می‌شود. کاظمی و بهمنی در سال ۱۳۸۱ گزارش کردند که مقاومت بدن در ماهی قره‌برون با افزایش وزن افزایش می‌یابد.

یوسفی فرد(۱۳۸۳)، به بررسی درصد بقاء و L_{C50}، تغییرات یون‌های سدیم، پتاسیم سرم خون در زمان‌های رهاسازی بچه ماهیان خاویاری قره‌برون، A.P، پرداخت. نتایج به دست آمده نشان داد که درصد بقاء در شوری‌های مختلف برای لاروهای ۲۰ روزه معنی‌دار نمی‌باشد و این امر فقط در آب شور دیگر صدق می‌کند. ضمنا اختلاف معنی‌داری بین مقادیر یون‌های پلاسما در شوری‌های مختلف وجود داشت ولی در وزن‌های مختلف معنی‌دار نبود. به طور کلی مشخص شد که با افزایش سن و وزن میزان مقاومت آن‌ها نسبت به شوری افزایش پیدا کرد. سن بالای ۲۵ روز و وزن ۱/۵ گرم و بالاتر می‌تواند مبنای رهاسازی قرار گیرند و نیز بیان شد که در رهاسازی در نظر گرفتن گروه‌های سنی نسبت به گروه‌های وزنی از دقت بالاتری برخوردار است.

عطایی‌مهر و همکاران(۱۳۸۵)، به بررسی تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبشش و میزان تلفات بچه‌آزاد ماهیان دریای خزر *Salmo trutta Caspicus* Kessler,1877 در مواجه با انواع شوری‌های مختلف آب پرداختند. نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد سلول‌های کلراید آبشش با افزایش در وزن، افزایش و نیز اندازه آن‌ها تغییر نامحسوسی در جهت افزایش از خود نشان می‌دهند. همچنین تعداد سلول‌های کلراید آبشش با افزایش شوری، افزایش پیدا کرده و اندازه آن‌ها تغییر نامحسوسی در جهت کاهش از خود نشان می‌دهند. فارابی(۱۳۸۵) به بررسی تغییرات ریخت‌شناسی ناشی از شوری‌های محیطی در چهار گونه از بچه‌ماهیان خاویاری خزر جنوبی و اثرات سن و اندازه آن‌ها پرداخت. نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش شوری، مقادیر یونی اسمولالیته پلاسما افزایش و هماتوکریت کاهش داشتند. همچنین ماهیان با اندازه بزرگتر در شرایط آب شور سازش حاصل می‌کند و اختلاف معنی‌داری در تعداد و حجم سلول‌های کلراید ماهیان آب شور(بیشتر) و شیرین(کمتر) وجود دارد.

۲-۲- تحقیقات انجام شده در خارج از کشور

۲-۲-۱-تاثیر تنش شوری روی میزان بازماندگی

با تحقیقات انجام شده توسط کلارک در سال ۱۹۸۲ روی آزاد ماهیان چام، سوکیو، چینوک، کوهو سالمون و استیل هد مشخص شد که میزان بازماندگی و تحمل ماهیان تحت تنش شوری با افزایش وزن به تدریج افزایش می‌یابد. که با تحقیقات دیگر محققین در این زمینه همخوانی دارد(کاتالدی و همکاران، ۱۹۹۵؛ یورا و همکاران، ۱۹۹۷). مطابق مطالعات صورت پذیرفته توسط شلوکین و همکاران در سال ۱۹۹۰ میزان تلفات در تاس ماهی روسی *A.guldenstaedtii* در درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شوری ۱۰/۵

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

گرم در لیتر پس از گذشت ۱۰ روز تنها ۲% بود. دوستون در سال ۱۹۹۴ اثرات بقاء و رشد آزادماهی اقیانوس اطلس Salmo salar هنگام انتقال به شوری‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر را طی ۴ ماه در دو مرحله پار و اسمولت بررسی کرد. در مرحله اسمولت در هیچ‌یک از سه گروه ذکر شده تلفاتی مشاهده نشد ولی میزان تلفات در شوری ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر در مرحله پار به ترتیب و به طور تقریبی ۰، ۱۰ و ۴۷ درصد بود.

۲-۲-۲- تاثیر تنش شوری روی تنظیم یونی

هنگام انتقال ماهیان از آب شیرین به آب شور به دلیل بالا رفتن سطوح یونی پلاسمای خون در ماهیان و ایجاد استرس در آن‌ها، کورتیزول که محصول نهایی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین کلیوی است(وندلاربونگا، ۱۹۹۷؛ وانگ و همکاران، ۲۰۰۳)، افزایش می‌یابد و باعث تحریک فعالیت پمپ سدیم در بسیاری از ماهیان استخوانی آب شیرین از جمله آزادماهیان(ریچمن و زوگ، ۱۹۸۷)، کپورماهیان(آبوهگاب و هانک، ۱۹۸۴؛ بک، ۲۰۰۰) و ماهیان سیکلیده(دنگ و همکاران، ۲۰۰۰) می‌گردد.

مطابق تحقیقات انجام شده توسط بلانکو و مرکر در سال ۱۹۹۸ مشخص شد که سدیم-پتاسیم-آدنوزین تری فسفاتاز حاوی دو زیر واحد ضروری آلفا و بتا می‌باشد. زیرواحد آلفا حاوی مکان‌هایی جهت باند شدن آدنوزین تری فسفات، سدیم، پتاسیم و کاردیاک گلیکوسید می‌باشد و به عنوان زیرواحد تجزیه(کاتالیتیک) در نظر گرفته می‌شود. زیرواحد بتا نوع دوم از پلی‌پپتیدهای گلیکوسیلات شده می‌باشد که به چند برابر شدن و استقرار زیرواحد آلفا در غشاء سلول کمک می‌کند.

جنسن و همکاران(۱۹۹۸)، نشان دادند که فعالیت Na^{+}-$K^{-+}ATP_{ase}$ آبشش بعد از ۱۰ روز در باس دریایی اروپایی وقتی از شوری ۱۵ گرم در لیتر به شوری ۵۰ و ۶۰ گرم در لیتر منتقل می‌شود افزایش پیدا می‌کند و بنابراین پیشنهاد کرد که تغییرات متناسبی در ریخت‌شناسی سلول‌های کلراید اتفاق می‌افتد.

پارتریج و لیمبری(۲۰۰۸)، به بررسی اثر شوری روی نیاز به پتاسیم در بارامونـدی، *Lates calcarifer* ، (ماهی بزرگ رودخانه‌ایی و یا سوف غول پیکر)، در آب‌های زیرزمینی شور پرداختند. برای این کار اثر تراکم‌های مختلف پتاسیم بین ۱۰۰-۲۵% و آب شور(۵، ۱۵ و ۴۵ گرم در لیتر) روی رشد، بقاء و پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی مورد بررسی قرار گرفت. این ماهی‌ها کاهش آب ماهیچه‌ای داشتند ولی افزایش فعالیت Na^{+}-$K^{-+}ATP_{ase}$ در آبشش، کلیه و روده از خود نشان دادند. افزایش مقدار سدیم و کلر در خون این ماهیان نشان‌دهنده تجربه یک استرس اسمتیک توسط این ماهیان می‌باشد.

۲-۲-۳ تاثیر تنش شوری روی شاخص هماتوکریت

بخشی از حجم کل خون که توسط گلبول‌های قرمز اشغال می‌شود هماتوکریت نام دارد. این مقدار که یک کمیت نسبی بوده و از طریق سانتریفیوژ کردن خون قابل اندازه‌گیری است بر حسب درصد بیان می‌شود. هماتوکریت خون به عنوان یک شاخص مهم و رایج در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد(هوستون و روبرت، ۱۹۹۷).

جنسن و همکاران در سال ۲۰۰۲ با مطالعه روی کفشک ماهی اروپایی *Platichthyflesus* تحت تنش شوری گزارش کردند که استرس شوری موجب افزایش شاخص هماتوکریت در این ماهی می‌شود که با مطالعات صورت پذیرفته توسط وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی ماهی کپور بدون فلس *Gymnocypris przewalskii* مطابقت دارد.

۲-۲-۴- تاثیر تنش شوری روی سلول‌های کلراید

مطابق تحقیقات صورت پذیرفته توسط فلیک و همکاران در سال ۱۹۹۴ و همچنین پری در سال ۱۹۹۷ مشخص گردید که آبشش‌ها در ماهیان نقش قاطعی در هموستازی مواد معدنی موجود در آب دارند. آن‌ها افزودند که در ماهیان آب شیرین وظیفه سلول‌های کلراید در اپی‌تلیوم آبشش جذب یون‌ها از محیط آب اطراف می‌باشد در حالی‌که پس از قرار گرفتن در آب شور سعی می‌کنند این یون-ها را دفع کنند. با مطالعات صورت پذیرفته توسط مک کورمیک در سال ۱۹۹۵ مشخص شد مهم‌ترین و متراکم‌ترین آنزیم در سلول-های کلراید، سدیم پتاسیم آدنوزین‌تری‌فسفاتاز می‌باشد که به عنوان پمپ سدیم مطرح و تحت کنترل چندین هورمون است و کورتیزول

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

و پرولاکتین مهم‌ترین هورمون‌ها در این رابطه هستند که مشابه تحقیقات صورت پذیرفته توسط سایر محقیقن در این زمینه می‌باشد(یانگ و همکاران، ۱۹۹۵؛ ایوانز، ۲۰۰۲).

کورتیزول باعث افزایش در تعداد(ریچمن و زوگ، ۱۹۸۷؛ مک کورمیک، ۱۹۹۰) و اندازه(مدسن، ۱۹۹۰؛ مک کورمیک، ۱۹۹۰؛ دنگ و همکاران، ۲۰۰۰) سلول‌های کلراید می‌شود. هم‌چنین با افزایش کورتیزول، تراکم پمپ سدیم در غشاء پلاسمایی سلول‌های کلراید در آبشش ماهیان استخوانی نیز افزایش می‌یابد(دوکورت و همکاران، ۱۹۹۵؛ کلومب و همکاران، ۲۰۰۰؛ دنگ و همکاران، ۲۰۰۰؛ سلومان و همکاران، ۲۰۰۱). اما پرولاکتین هورمونی است که باعث جلوگیری(پیک فورد و همکاران، ۲۰۰۰؛ مدسن و برن، ۱۹۹۲) یا کاهش(فسکت و همکاران، ۱۹۸۲) فعالیت پمپ سدیم در ماهیان آب شیرین می‌شود. به علاوه پرولاکتین باعث تحریک جذب کلسیم(فلیک و همکاران، ۱۹۹۴) شده و محدود کننده قابلیت نفوذپذیری آبشش‌ها نسبت به آب و یون‌ها است(هیرانو، ۱۹۸۶؛ وندلاربونگا و همکاران، ۱۹۹۰؛ ایوانز، ۲۰۰۲). با افزایش وزن و شوری اندازه(مدسن، ۱۹۹۰؛ مک کورمیک، ۱۹۹۰؛ دنگ و همکاران، ۲۰۰۰) و تعداد(ریچمن و زوگ، ۱۹۸۷؛ مک کورمیک، ۱۹۹۰) سول‌های کلرید افزایش می‌یابد.

اوآتارا و همکاران(۲۰۰۹)، تغییرات ریخت‌شناسی و عملکردی سلول‌های کلراید ماهی *Sarotherodon melanotheron*(از خانواده تیلاپیا)، بعد از انتقال از آب شیرین به آب‌هایی با شوری بالاتر را مورد بررسی قرار دادند. در آب شیرین Na^{+}-K-ATP_{ase} فقط در پایه فیلامنت‌ها مشاهده شد در حالی‌که در آب شور و مخصوصا در آب خیلی شور در فیلامنت‌ها و به شکل بسیار وسیعی در لاملاها قرار داشتند که به تنش عملکردی که این ماهیان با آن روبه‌رو شدند، اشاره می‌کند. بعد از انتقال از آب شیرین به شور و خیلی شور، افزایش معنی‌داری در تعداد و اندازه مناطق سطحی سلول‌های کلراید آبشش مشاهده شد، اگرچه تعداد این سلول‌ها بین شوری‌های ۷۰ و ۹۰ PSU[1] بدون تغییر باقی ماند ولی اندازه آن‌ها زمانی که از آب شیرین به آب‌های خیلی شور منتقل شدند، افزایش پیدا کرد. این افزایش در تعداد و اندازه می‌تواند بیانگر شدت بالای عملکرد این سلول‌ها در آب‌های خیلی شور باشد.

1-Preactical salinity unit (conductivity ratio of seawater sample to standard KCL solution)

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

فصل سوم

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۳- مواد و روش‌ها

۳-۱- محل اجرای طرح:

با توجه به فضای مناسب، حوضچه‌های ونیرو و دسترسی آسان به امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز، سالن ونیرو شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، واقع در مجتمع پردیش دانشگاه در ابتدای ورودی شهرستان گرگان، به عنوان محل اجرای تحقیق در نظر گرفته شد. آب مورد نیاز این سالن از آب شهر تامین شد و پس از ماندن به مدت ۴۸ ساعت در داخل مخازن فایبرگلاس جهت انجام تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۲- تامین و انتقال بچه‌ماهیان

تحقیق روی گونه های کلمه، سفید و کپور دریایی با وزن رهاسازی(در حدود یک گرم) انجام گرفت. بچه‌ماهیان از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال واقع در ۵ کیلومتری بندرترکمن تامین و توسط کیسه‌های حمل نوزاد ماهی در حالی‌که یک سوم آن از آب و بقیه از هوا پر شده بود به سالن ونیرو دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال یافت.

۳-۳- بررسی کیفی بچه‌ماهیان

در طول سازش‌پذیری به محیط جدید قبل از انجام تحقیق بچه‌ماهیان در حوضچه‌های ونیرو به دقت از نظر ظاهری بررسی شدند. این بررسی‌ها شامل مشاهده مستقیم آن‌ها در حوضچه‌های نگهداری و توجه به حرکات، رفتارهای تغذیه‌ای، نحوه شنا کردن و غیر طبیعی شدن بدن یا آبشش‌ها بود.

۳-۴- تیمارهای آزمایشی

تحقیق بر روی سه گونه و دمای آب محیط آزمایش با در نظر گرفتن زمان رهاسازی برای هر کدام متفاوت بود(کلمه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و میانگین وزن بچه‌ماهیان ۱/۳۳ گرم، سفید در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین وزن بچه‌ماهیان۷/. گرم و کپور دریایی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و میانگین وزن بچه‌ماهیان ۱/۴۴ گرم).

نمونه‌ها جهت بررسی وضعیت سیستم تنظیم اسمزی در ۵ تیمار شوری شامل ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر(هر تیمار در سه تکرار)، در دو مرحله مستقیم و تدریجی مورد مطالعه قرار گرفتند.

۳-۵- کیفیت و نحوه تامین آب محیط آزمایش

آب مورد استفاده در این آزمایش، با استفاده از وانت ۲ متر مکعبی ویژه حمل ماهی با پشتیبانی اداره کل شیلات استان گلستان-مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال از اسکله بندر ترکمن به محل انجام آزمایش منتقل شد. برای به دست آوردن شوری‌های مورد نظر آب دریای خزر با آب شیرین شهر رقیق شدند. شوری توسط دستگاه شوری سنج دیجیتال(Water quality checher U10) اندازه‌گیری شد. محیط آزمایش آکواریوم(با حجم آبگیری ۸۰ لیتر) با ۵۰ لیتر آبگیری به تعداد ۱۵ عدد(۵ تیمار در سه تکرار) و به صورت تصادفی چیدمان شدند. در طول آزمایش جهت تامین اکسیژن لازم از پمپ هوا استفاده شد.

۳-۶- مراحل انجام تحقیق

۳-۶-۱- مرحله اول آزمایش

در این مرحله پس از سازش‌پذیری بچه‌ماهیان در شرایط آزمایشگاهی به تعداد ۵۰ قطعه در هر آکواریوم(با حجم آبگیری ۸۰ لیتر) مستقیماً در شوری‌های ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر قرار گرفتند و میزان تلفات روزانه به مدت یک هفته شمارش و روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم از بچه‌ماهیان جهت اندازه‌گیری پارامترهای هماتوکریت، کلسیم، منیزیم و گلوکز نمونه‌گیری و از آبشش نیز مقاطع بافتی تهیه شد.

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

۳-۶-۲- مرحله دوم آزمایش

قبل از انجام آزمایش افزایش تدریجی شوری، تست تعیین فاصله زمانی مناسب قابل اجرا در شرایط کارگاهی بر روی سه گونه با فاصله زمانی نیم، یک و یک و نیم ساعت در بین پنج تیمار و سه تکرار شوری شامل ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ گرم در لیترقرار گرفتند.در نهایت فاصله زمانی یک و نیم ساعت را به لحاظ درصد بقای بالا نسبت به بقیه جهت انجام آزمایش افزایش شوری انتخاب شد. در این مرحله تعداد ۷۵ قطعه در هر آکواریوم منتقل و در فاصله زمانی یک و نیم ساعت قبل از انتقال به شوری بالاتر از بچه‌ماهیان جهت اندازه‌گیری پارامترهای هماتوکریت، کلسیم، منیزیم و گلوکز نمونه‌گیری و از آبشش نیز مقاطع بافتی تهیه شد. در طول آزمایش تلفات شمارش و در پایان به مدت ۷۲ ساعت اضافی در شوری ۱۲ گرم در لیتر جهت برآورد درصد بقاء باقی ماندند.

۳-۷- تعیین درصد بقاء

در مرحله آزمایش مستقیم شوری برای هر یک از گونه‌ها میزان تلفات روزانه در هر آکواریوم جهت تعیین درصد بقاء به مدت یک هفته شمارش شدند. در مرحله دوم آزمایش افزایش تدریجی شوری تلفات ۷۲ الی ۹۶ ساعت پس از پایان آزمایش به صورت روزانه جهت تعیین درصد بقاء ثبت و شمارش شدند.

۳-۸- تهیه سرم بدن

به علت کوچک بودن اندازه بچه‌ماهیان و مشکل تهیه نمونه‌های خونی، تعدادی از بچه‌ماهیان(گونه سفید ۴ قطعه ، گونه کلمه و کپور دریایی ۳ قطعه) با دستمال کاغذی خشک و بلافاصله سر بچه ماهی با قیچی(جهت جلوگیری از استرس و تغییرات پارامترهای یونی) از بدن جدا شدند و در آزمایشگاه با اضافه کردن ۱ سی‌سی آب دیونیزه یا دو بار تقطیر برای ۴ قطعه بچه‌ماهی توسط دستگاه هموژنایزر مدل $T_{25}D$ هموژنیزه شدند. سپس نمونه ها داخل اپندورف های ۲سی سی قرار گرفته توسط دستگاه سانتریفوژ بدون یخچال در دور ۱۳ هزار به مدت ۲۰ دقیقه در۲ الی۳ بار ساتریفیوژ شدند. در نهایت ماده رویی اپندورف که در حکم جایگزین سرم بدن می باشد در دمای۸۰- درجه سانتی‌گراد یخچال فریزر Hettich تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای کلسیم، منیزیم و گلوکز قرار گرفتند.

۳-۹- اندازه‌گیری هماتوکریت

نمونه‌برداری از خون با استفاده از لوله‌های موئینه هپارینه با قطع ساقه دمی انجام شد. جهت تامین خون از یک الی ۲ قطعه بچه-ماهی(سفید دو قطعه، کلمه و کپور دریایی ۱ قطعه) خون‌گیری و در پایان با استفاده از خمیر هماتوکریت ته لوله بسته شده بلافاصله جهت اندازه‌گیری هماتوکریت مورد استفاده قرار گرفت. برای این کار لوله‌های موئینه محتوی خون، در داخل محل مورد نظر در سانتریفوژ با ۴۰۰۰ دور در دقیقه جای گرفتند و پس از بسته شدن درب سانتریفیوز به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژ شدن خون با استفاده از میکروهماتوکریت خوان میزان هماتوکریت اندازه‌گیری شد.

۳-۱۰- اندازه‌گیری کلیسم، منیزیم و گلوکز

جهت اندازه‌گیری پارامترهای کلیسم، منیزیوم و گلوکز از اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای اندازه‌گیری پارامترهای کلسیم، منیزیم و گلوکز از کیت‌های شرکت پارس آزمون استفاده شد. کیت کلسیم شامل ۲ معرف شماره ۱ و شماره ۲ می‌باشد. در انجام تست به صورت تک محلول، محلول‌های شماره ۱ و ۲ به نسبت ۴ به علاوه ۱ با یکدیگر مخلوط می‌شوند.

Create PDF files without this message by purchasing novaPDF printer (http://www.novapdf.com)