

اثر میزان آب برگشتی بر شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم فیل ماهی (*Huso huso*) در سیستم پرورش بازگردشی

علی حسین پور زلی^{۱*}، علی طاهری میرقاند^۲

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

۲- گروه بهداشت و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف آب برگشتی بر شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم فیل ماهی (*Huso huso*) در سیستم پرورش بازچرخشی انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار شامل R_0 (۱۰۰٪ آب تازه)، R_{50} (۵۰٪ آب برگشتی) و R_{80} (۸۰٪ آب برگشتی) در سه تکرار اجرا گردید. ۱۸۰ قطعه فیل ماهی با میانگین وزن 66.68 ± 6.21 گرم به مدت ۸ ماه در ۹ حوضچه ۱۸ مترمکعبی پرورش یافتند. نتایج نشان داد که سطح پروتئین کل و آلبومین در تیمار R_{80} به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود، در حالی که گلوکز، چربی کل و کلسترول سرم در R_0 به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. آنزیم‌های کبدی ALT و AST در R_{80} نسبت به R_0 افزایش معنی‌داری داشتند، اما تفاوت بین R_{50} و R_0 از نظر آماری معنی‌دار نبود. مقدار آنزیم LDH در تیمارهای R_{50} و R_{80} کمتر از R_0 بود. در شاخص‌های ایمنی، فعالیت لیزوزیم، سطح ایمونوگلوبولین و فعالیت کمپلمان در تیمار R_{80} نسبت به R_0 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که تفاوت ایمونوگلوبولین بین تیمارهای آب برگشتی معنی‌دار نبود. در مجموع، استفاده از ۸۰ درصد آب برگشتی در سیستم بازگردشی موجب بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم شد و به بهره‌وری بیشتر از منابع آبی در پرورش فیل ماهی کمک کرده است.

کلید واژه‌ها: فیل ماهی، سیستم آب برگشتی، شاخص‌های بیوشیمیایی، پاسخ ایمنی

مقدمه

ماهیان خاویاری، از جمله فیل ماهی (*Huso huso*)، به عنوان فسیل‌های زنده، از اهمیت اقتصادی و اکولوژیکی فوق‌العاده‌ای برخوردارند. با این حال، ذخایر طبیعی این ماهیان، به ویژه در دریای خزر که زمانی بخش عمده‌ای از ذخایر جهانی را تشکیل می‌داد، به دلیل صید بی‌رویه و تخریب زیستگاه‌ها با کاهش شدیدی مواجه شده و در معرض خطر انقراض قرار گرفته‌اند. در پاسخ به این بحران، آبی‌پروری به عنوان یک راهکار حیاتی برای حفاظت از ذخایر و تأمین تقاضای جهانی ظهور کرده است. تولید جهانی گوشت این ماهیان در سال ۲۰۲۲ به حدود ۱۲۳،۵۰۰ تن رسید که چین با در اختیار داشتن بیش از ۸۵ درصد این بازار، بازیگر اصلی محسوب می‌شود^[۱]. در این چشم‌انداز جهانی، صنعت آبی‌پروری ایران یک مسیر رشد چشمگیر را پیموده است. این توسعه سریع، ضمن اهمیت بالای اقتصادی، فشار بی‌سابقه‌ای بر منابع محدود آب شیرین کشور وارد می‌آورد. در نتیجه، این توسعه سریع، حرکت به سمت فناوری‌های پایدار و کارآمد در مصرف آب، به‌ویژه سیستم‌های پرورشی بازگردشی، را از یک گزینه به یک ضرورت راهبردی و اجتناب‌ناپذیر برای آینده این صنعت تبدیل کرده است.

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵

تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰

*نویسنده مسئول:

ahpour.z@gmail.com

با وجود این، توسعه آبی‌پروری با چالش جهانی بزرگ بحران کمبود آب شیرین مواجه است. این محدودیت در ایران، با توجه به شرایط اقلیمی خشک (میانگین بارندگی ۲۵۰ میلی‌متر در برابر تبخیر ۲۱۰۰ میلی‌متر)، به یک مانع اساسی تبدیل شده است [۲]. این مشکل با مصرف بسیار بالای آب در روش‌های سنتی پرورش ماهیان خاویاری تشدید می‌شود. در این راستا، سیستم‌های پرورشی بازگردشی که قادر به کاهش مصرف آب تا بیش از ۹۰ درصد هستند، به عنوان یک فناوری کلیدی و پایدار مطرح شده‌اند. این سیستم‌ها با ایجاد یک محیط کنترل شده، امکان افزایش تراکم و بهره‌وری تولید را فراهم می‌کنند، اما این کنترل، چالش جدیدی را به همراه دارد: بازچرخش مداوم آب می‌تواند به تجمع متابولیت‌های بالقوه سمی مانند آمونیاک و دی‌اکسید کربن منجر شود که سلامت، عملکرد فیزیولوژیک و توانایی سیستم ایمنی ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۳، ۴]. بخش عمده‌ای از تحقیقات انجام‌شده بر روی ماهیان خاویاری در ایران، در سیستم‌های باز (جریان‌گذر) و با تمرکز بر عواملی چون تراکم [۵] یا افزودنی‌های خوراکی [۶، ۷] صورت گرفته است که نتایج آن‌ها لزوماً قابل تعمیم به شرایط منحصربه‌فرد سیستم‌های بازگردشی نیست. اخیراً، مطالعاتی مانند پژوهش حسین‌پور و همکاران [۸] نشان داده‌اند که استفاده از آب برگشتی می‌تواند بر شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای هماتولوژیک فیل‌ماهی تأثیر مثبتی داشته باشد. با این حال، با وجود این یافته‌های اولیه امیدوارکننده، شکاف دانشی عمیقی در زمینه تأثیر درصدهای مختلف آب برگشتی بر پاسخ‌های بیوشیمیایی و ایمنی این گونه حساس وجود دارد.

برای ارزیابی واقعی سلامت یک ماهی در یک سیستم پرورشی، بررسی شاخص‌های رشد به تنهایی کافی نیست. پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون (مانند گلوکز، پروتئین کل، آنزیم‌های کبدی) و شاخص‌های ایمنی (نظیر فعالیت لیزوزیم و کمپلمان)، به عنوان بیومارکرهای حساس، تصویری دقیق از سطح استرس فیزیولوژیک و توانایی ماهی برای مقابله با بیماری‌ها ارائه می‌دهند [۹، ۱۰]. درک این پاسخ‌های ظریف برای بهینه‌سازی سیستم‌های بازگردشی و تضمین رفاه و سلامت گونه باارزشی مانند فیل‌ماهی ضروری است.

بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف پر کردن این شکاف تحقیقاتی و بررسی جامع تأثیر سطوح مختلف آب برگشتی (۵۰٪ و ۸۰٪) در مقایسه با سیستم جریان‌گذر (شاهد) بر شاخص‌های کلیدی بیوشیمیایی و ایمنی سرم خون فیل‌ماهی پرورشی طراحی گردید. انتظار می‌رود نتایج این تحقیق، دانش کاربردی لازم را برای بهینه‌سازی مدیریت آب و ارتقای سلامت ماهیان در مزارع پرورش ماهیان خاویاری فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و شرایط پرورشی

این پژوهش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و سه تکرار برای هر تیمار طی مدت ۸ ماه اجرا شد. تیمارها شامل گروه شاهد (R_0) با ۱۰۰٪ آب تازه، تیمار R_{50} با ۵۰٪ آب تازه و ۵۰٪ آب برگشتی، و تیمار R_{80} با ۲۰٪ آب تازه و ۸۰٪ آب برگشتی بودند. تعداد ۱۸۰ قطعه فیل‌ماهی با میانگین وزن اولیه $71/6162 \pm 68/66$ گرم به طور تصادفی در ۹ حوضچه بتنی گرد (با قطر ۳/۸ متر، سطح مقطع ۱۱/۳ مترمربع، عمق آبگیری ۱/۶ متر و حجم ۱۶ مترمکعب) توزیع شدند. دبی آب ورودی هر حوضچه ۲ لیتر بر ثانیه تنظیم شد که معادل ۱۰ بار تعویض آب در شبانه‌روز بود. سیستم تصفیه آب برگشتی شامل درام فیلتر (مش ۸۰ میکرون) برای حذف مواد جامد معلق و برج هوادهی برای اکسیژن‌رسانی و تبادلات گازی بود. ماهیان با جیره تجاری اکستروود مخصوص ماهیان خاویاری (GFS4، شرکت فرادانه) به میزان ۵/۰ تا ۷/۰ درصد وزن بدن در دو وعده صبح و عصر تغذیه شدند. پارامترهای کیفیت آب (اکسیژن محلول، دما و pH) به صورت هفتگی با دستگاه دیجیتال پرتابل (مدل WTW 330i، آلمان) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌های خون

در پایان دوره پرورش هشت‌ماهه، از هر واحد آزمایشی چهار قطعه فیل‌ماهی به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شده و مجموعاً ۱۲ نمونه خون از هر تیمار جمع‌آوری شد. به منظور کاهش آثار تنش ناشی از مواد بیهوشی، نمونه‌گیری بدون استفاده از بیهوش‌کننده انجام گرفت [۱۱]. خون‌گیری با حداقل میزان دستکاری از طریق ورید ساقه دمی و با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری صورت پذیرفت. از هر نمونه، حدود ۱/۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های آزمایش بدون ماده ضد انعقاد منتقل شد تا برای استخراج سرم مورد استفاده قرار گیرد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شده و سپس در دمای $3000 \pm g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم حاصل بلافاصله در دمای $-20^\circ C$ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون‌های بیوشیمیایی نگهداری شد.

سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

میزان پروتئین کل سرم بر اساس روش Modi-Biuret و با استفاده از کیت‌های تجاری بیوشیمیایی تعیین شد [۱۲]. این روش بر پایه تشکیل کمپلکس رنگی بین یون‌های مس و گروه‌های کربونیل و آمید در محیط قلیایی استوار است. تعیین میزان آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز

(ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون (www.parsazmun.com) و بر مبنای واکنش‌های آنزیمی مربوطه صورت گرفت. واکنش‌های ALT با معرف‌های حاوی L-Alanine, TRIS (pH 7.5) و NADH و برای AST با L-Aspartate, TRIS (pH 7.5)، لاکتات دهیدروژناز و مالات دهیدروژناز انجام شد. سنجش آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز با کیت پارس آزمون و استفاده از بافر فسفات (pH 7.5) و پیرووات انجام شد. مقدار گلوکز سرم با روش آنزیمی-نورسنجی و کیت پارس آزمون در حضور بافر فسفات (4-Aminoantipyrine, pH 7.5)، آنزیم گلوکز اکسیداز و پراکسیداز، در طول موج ۵۴۶ نانومتر و با استفاده از دستگاه اتوانالایزر BT-1500 (ایتالیا) اندازه‌گیری شد [۱۳]. برای تعیین میزان آلبومین، از روش بروموکرسول گرین در شرایط اسیدی استفاده گردید و قرائت‌ها با دستگاه اتوانالایزر Technicon RA-1000 (آمریکا) در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام شد [۱۴]. غلظت چربی کل بر پایه روش فتومتری و واکنش سولفوفسفوانیلین (ایجاد رنگ صورتی) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در مقایسه با محلول استاندارد تعیین شد [۱۵]. کلسترول سرم نیز با روش آنزیمی-کالریمتری (CHOD-PAP) و به کمک کیت پارس آزمون در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۶].

ارزیابی شاخص‌های ایمنی

فعالیت مسیر آلترناتیو کمپلمان (ACH50) با استفاده از روش نورسنجی و بر پایه میزان همولیز سلول‌های قرمز خون خرگوش (RaRBC) ارزیابی شد [۱۷]. غلظت ایمونوگلوبولین M (IgM) سرم با استفاده از روش نفلومتری و کیت تجاری شرکت Binding Site (www.bindingsite.co.uk) تعیین شد [۱۸]. فعالیت آنزیم لیزوزیم با روش کدورت‌سنجی (Turbidimetric Assay) و در حضور باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) به‌عنوان سوبسترا تعیین شد. واکنش‌ها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از دستگاه ELISA Reader (مدل StatFax-2100 USA) در طول موج ۵۳۰ نانومتر انجام شد. برای تعیین غلظت آنزیم، از لیزوزیم لیوفیلیزه سفیده تخم‌مرغ به‌عنوان استاندارد استفاده گردید [۱۹].

آنالیز آماری

به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

فراسنجه‌های کیفیت آب

در طول دوره پرورش هشت‌ماهه، فراسنجه‌های فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH در تیمارهای مختلف مورد پایش قرار گرفت. میانگین دمای آب در ماه مرداد با مقدار 0.36 ± 19.51 درجه سانتی‌گراد به بیشترین میزان و در ماه آذر با مقدار 1.19 ± 16.79 درجه سانتی‌گراد به کمترین میزان رسید. اگرچه تغییرات فصلی مشاهده شد، اما اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها از نظر دما وجود نداشت ($p > 0.05$). میزان اکسیژن محلول نیز در بازه‌ای بین 5.12 ± 1.18 تا 7.23 ± 0.47 میلی‌گرم بر لیتر در نوسان بود که به ترتیب مربوط به ماه‌های تیر و آبان بوده و این شاخص نیز تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). شاخص اسیدیته (pH) آب در همه تیمارها در محدوده نسبتاً ثابتی قرار داشت و اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد، هرچند بیشترین مقدار آن در تیمار R80 طی ماه آبان (8.92 ± 0.07) و کمترین مقدار در گروه R0 در ماه خرداد (8.18 ± 0.03) ثبت شد. به‌طور کلی، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش در محدوده مطلوب و بدون تفاوت آماری بین تیمارها باقی ماند.

نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون

نتایج حاصل از ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم نشان داد که استفاده از آب برگشتی، به‌ویژه در سطح ۸۰ درصد (R80)، تأثیر معنی‌داری بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی داشت (جدول ۱). میزان پروتئین کل در تیمار R80 با مقدار 3.26 ± 0.1 گرم بر دسی‌لیتر به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای R50 و R0 بود ($p < 0.05$). همچنین، آلبومین سرم در R80 نیز با مقدار 1.58 ± 0.3 گرم بر دسی‌لیتر به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها گزارش شد ($p < 0.05$). غلظت گلوکز سرم در تیمار R0 بیشترین مقدار را داشت (68.67 ± 2.92 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و در تیمار R80 به 59.25 ± 1.36 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کاهش یافت؛ این کاهش بین R0 و تیمارهای آب برگشتی از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

ولی بین R50 و R80 تفاوتی مشاهده نشد ($p > 0.05$). میزان چربی کل نیز از $324/92 \pm 20/26$ میلی گرم بر دسی لیتر در R0 به $294/92 \pm 15/90$ میلی گرم بر دسی لیتر در R50 کاهش یافت ($p < 0.05$)، هرچند تفاوت بین R50 و R80 معنی دار نبود. کلسترول سرم در تیمار R0 بیشترین مقدار ($114/25 \pm 3/33$ میلی گرم بر دسی لیتر) و در R80 کمترین مقدار ($94/25 \pm 3/33$ میلی گرم بر دسی لیتر) را نشان داد که کاهش آن تنها در مقایسه R0 با R80 معنی دار بود ($p < 0.05$). از نظر آنزیم‌های کبدی، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در R80 به $20/58 \pm 1/40$ واحد بر لیتر رسید که به‌طور معنی داری بیشتر از R50 و R0 بود؛ کمترین مقدار آن در R0 ($13/92 \pm 0/71$ واحد بر لیتر) مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در تیمار R80 با مقدار $481/42 \pm 36/58$ واحد بر لیتر نسبت به R50 و R0 افزایش معنی داری ($p < 0.05$)، در حالی که کمترین مقدار ($297/83 \pm 16/76$ واحد بر لیتر) در R0 ثبت شد. فعالیت لاکتات دهیدروژناز (LDH) در تیمار R0 با مقدار $853 \pm 28/71$ واحد بر لیتر بیشترین و در R80 با $567/92 \pm 45/87$ واحد بر لیتر کمترین میزان را داشت ($p < 0.05$). کاهش معنی دار LDH در تیمارهای دارای آب برگشتی مشاهده شد و بین همه تیمارها تفاوت آماری معنی دار وجود داشت ($p < 0.05$).

جدول ۱- فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون (میانگین $\pm$ انحراف معیار) فیل‌ماهی پس از هشت ماه پرورش تحت سطوح مختلف آب برگشتی.

حروف متفاوت در هر ردیف، نشانگر تفاوت معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

شاخص های رشد	R0	R50	R80
توتال پروتئین	$2/53 \pm 0/07^c$	$2/89 \pm 0/05^b$	$3/26 \pm 0/10^a$
چربی کل	$324/92 \pm 20/26^a$	$294/92 \pm 15/90^b$	$294/92 \pm 15/90^b$
آلبومین	$1/37 \pm 0/04^b$	$1/38 \pm 0/03^b$	$1/58 \pm 0/03^a$
گلوکز	$68/67 \pm 2/92^a$	$60/17 \pm 1/23^b$	$59/25 \pm 1/36^b$
کلسترول	$118/58 \pm 8/63^a$	$102/50 \pm 5/45^{ab}$	$94/25 \pm 3/33^b$
آنزیم آلانین آمینوترانسفراز	$13/92 \pm 0/71^b$	$15/83 \pm 0/86^b$	$20/58 \pm 1/40^a$
آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز	$297/83 \pm 16/76^b$	$354/17 \pm 20/25^b$	$481/42 \pm 36/58^a$
آنزیم لاکتات دهیدروژناز	$853 \pm 28/71^a$	$747/17 \pm 24/47^b$	$567/92 \pm 45/87^c$

نتایج شاخص‌های ایمنی

یافته‌های مربوط به شاخص‌های ایمنی نشان داد که استفاده از آب برگشتی، به‌ویژه در سطح ۸۰ درصد (R80)، تأثیر مثبتی بر تقویت پاسخ‌های ایمنی فیل‌ماهی داشته است (جدول ۲). فعالیت آنزیم لیزوزیم در تیمار R80 به‌طور معنی داری نسبت به تیمارهای R50 و R0 افزایش یافت ($p < 0.05$)، به‌طوری که بیشترین مقدار آن $41/83 \pm 0/89$ واحد در میلی لیتر و کمترین آن $35/78 \pm 0/78$ واحد در میلی لیتر به‌ترتیب در تیمار R80 و گروه شاهد ثبت شد. هرچند تفاوت بین R50 و R0 از نظر آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$)، اما اختلاف کلی بین تیمارها معنی دار بود ($p < 0.05$).

جدول ۲- شاخص‌های ایمنی سرم خون (میانگین $\pm$ انحراف معیار) فیل‌ماهی در تیمارهای مختلف پرورشی با سطوح متفاوت آب برگشتی. حروف متفاوت در هر ردیف، نشانگر تفاوت معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

شاخص های رشد	R0	R50	R80
فعالیت آلترناتیو کمپلمان	$124/42 \pm 0/89^c$	$128/67 \pm 0/75^b$	$132/25 \pm 0/82^a$
لیزوزیم	$35 \pm 0/78^b$	$37/83 \pm 0/82^b$	$41/83 \pm 0/89^a$
ایمونوگلوبین	$45/50 \pm 1/08^b$	$49/17 \pm 0/63^a$	$51/25 \pm 1/08^a$

میزان ایمنوگلوبولین (IgM) سرم نیز در تیمارهای R50 و R80 نسبت به R0 افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$)، با این حال، تفاوت بین دو تیمار آب برگشتی (R50 و R80) از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). بالاترین غلظت IgM در تیمار R80 با مقدار $1/0.8 \pm 51/25$ میلی گرم بر دسی لیتر و پایین‌ترین آن در R0 با $1/0.8 \pm 45/50$ میلی گرم بر دسی لیتر مشاهده گردید. فعالیت سیستم آلترناتیو کمپلمان (ACH50) نیز در تیمارهای R50 و R80 به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد ($p < 0.05$) و اختلاف بین تمام تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بیشترین فعالیت کمپلمان در R80 با مقدار $1/82 \pm 33/25$ واحد در میلی لیتر و کمترین آن در گروه R0 با $1/89 \pm 24/42$ واحد در میلی لیتر ثبت شد.

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش به‌روشنی نشان داد که استفاده از سیستم پرورشی با آب برگشتی تا سطح ۸۰ درصد، نه تنها تأثیرات نامطلوبی بر فیل ماهیان مورد آزمایش نداشت، بلکه به‌طور معنی‌داری منجر به بهبود شاخص‌های کلیدی فیزیولوژیک، متابولیک و ایمنی گردید. این نتایج، فرضیه‌ای را تقویت می‌کنند مبنی بر اینکه مزیت اصلی سیستم‌های مدار بسته صرفاً محدود به کاهش مصرف آب نبوده، بلکه در فراهم آوردن محیطی پایدار و کم‌استرس نهفته است؛ محیطی که به ماهیان امکان می‌دهد تا پتانسیل ژنتیکی خود را برای رشد و سلامت به حداکثر برسانند. این نتایج همسو با بسیاری از مطالعات در زمینه آبی‌پروری است که بر برتری عملکرد فیزیولوژیک ماهیان در سیستم‌های مدار بسته با مدیریت مناسب تأکید دارند [۲۰، ۲۱].

یکی از نتایج شاخص این تحقیق، افزایش همزمان پروتئین کل و آلبومین در کنار کاهش معنی‌دار گلوکز سرم در تیمار ۸۰ درصد آب برگشتی بود. پروتئین کل و آلبومین به عنوان شاخص‌های حیاتی برای ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای و سلامت عمومی در ماهیان شناخته می‌شوند [۲۲]. افزایش این پروتئین‌ها نشانگر تخصیص بهینه انرژی به فرآیندهای آنابولیک (رشد و سنتز) است [۲۳]. در مقابل، گلوکز خون اولین و حساس‌ترین شاخص بیوشیمیایی در پاسخ به استرس حاد و مزمن محسوب می‌شود [۲۴]. افزایش سطح کورتیزول ناشی از استرس، فرآیندهای کاتابولیک مانند گلیکوژنولیز را تحریک کرده و منجر به هائپرگلیسمی (افزایش قند خون) می‌شود [۲۵]. بنابراین، کاهش گلوکز در تیمار ۸۰ درصد آب برگشتی، دلیل محکمی بر کاهش بار آلوستاتیک و استرس فیزیولوژیک در این ماهیان است. این دو یافته در کنار هم، تصویری قدرتمند از یک تغییر متابولیک از حالت "مقابل با استرس" به حالت "رشد و پایداری" ارائه می‌دهند. این نتایج با مطالعاتی که استرس را عامل کاهش پروتئین کل می‌دانند [۲۶]، همسو است. علاوه بر این، مطالعاتی نظیر Vasilyev و همکاران [۲۷] که در سیستم‌های مدار بسته، عدم تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد فیل ماهیان را در تراکم‌های مختلف نشان دادند، نیز مؤید این امر است که پایداری محیطی سیستم مدار بسته می‌تواند امکان رشد مطلوب را حتی در تراکم‌های معین فراهم آورد. تفاوت مشاهده‌شده با نتایج حسینی‌فر و همکاران [۲۸] و رفعت‌نژاد و همکاران [۲۹]، که در آن‌ها افزودنی خوراک یا تراکم تأثیر معنی‌داری بر پروتئین کل یا گلوکز نداشتند، قابل توجیه است؛ زیرا متغیر اصلی در مطالعه حاضر "پایداری کلی سیستم" بوده که اثری فراگیرتر از یک افزودنی غذایی یا تراکم خاص دارد. این پایداری در مطالعه Dorojan و همکاران [۲۸] نیز مشاهده شد، جایی که پارامترهای بیوشیمیایی سرم اوزون‌برون در سیستم مدار بسته تفاوت معنی‌داری نداشتند و نشان‌دهنده یک محیط فیزیولوژیکی با ثبات بود. علاوه بر این، کاهش سطح کلسترول و چربی کل در تیمار با آب برگشتی ۸۰ درصد، نشانگر عدم وجود اختلال در متابولیسم لیپیدها است. استرس مزمن می‌تواند منجر به افزایش این لیپیدها در خون شود [۲۹]، لذا کاهش آن‌ها در این تحقیق، تفسیر مبنی بر بهبود سلامت متابولیک را تقویت می‌کند.

تحلیل آنزیم‌های کبدی، بینش عمیق‌تری از وضعیت فیزیولوژیک ماهیان ارائه داد. آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، به عنوان شاخص‌های بالقوه آسیب کبدی شناخته می‌شوند [۳۰]، که در تیمار ۸۰ درصد آب برگشتی، افزایش جزئی اما معنی‌داری را نشان دادند. تفسیر این یافته در کنار سایر پارامترها اهمیت دارد. از آنجا که این آنزیم‌ها همچنین نقش کلیدی در مسیرهای متابولیکی مانند ترانس آمیناسیون اسیدهای آمینه دارند [۳۱]، افزایش آن‌ها ممکن است بازتابی از فعال شدن مسیرهای آنابولیک و افزایش فعالیت کبد برای پردازش مواد مغذی باشد، به‌ویژه در شرایطی که افزایش پروتئین کل و کاهش کلسترول نیز مشاهده شده است. با این حال، باید تأکید کرد که بدون شواهد هیستوپاتولوژیک، نمی‌توان افزایش این آنزیم‌ها را به‌صورت قطعی مثبت یا منفی تفسیر کرد. قوی‌ترین شاهد برای عدم وجود آسیب بافتی، کاهش معنی‌دار لاکتات دهیدروژناز (LDH) در تیمارهای دارای آب برگشتی است. LDH شاخصی حساس برای آسیب سلولی و استرس بی‌هوازی محسوب می‌شود [۳۲] و کاهش آن نشان می‌دهد که ماهیان در این تیمارها دچار هیپوکسی یا تخریب سلولی نبوده‌اند. بنابراین، با در نظر گرفتن مجموعه‌ای از شاخص‌های بیوشیمیایی، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش جزئی ALT و AST بیشتر ناشی از ارتقاء عملکرد متابولیکی

کبد بوده تا آسیب فیزیولوژیک، اما برای تایید قطعی این موضوع، انجام مطالعات تکمیلی بافت‌شناسی ضروری است. این امر در تضاد با یافته‌های Zhang و همکاران^[۳۵] است که افزایش غلظت آمونیاک را در سیستم مدار بسته عامل کاهش فعالیت‌های آنزیمی مانند ALT و لیزوزیم و افزایش کورتیزول دانستند؛ این نشان‌دهنده آن است که مدیریت مؤثر کیفیت آب در مطالعه حاضر، مانع از بروز چنین آسیب‌هایی شده است. در سیستم‌های با مدیریت ضعیف، تجمع آمونیاک یا نیتريت می‌تواند منجر به آسیب‌های بافتی شود^[۳۶].

یکی از نتایج این مطالعه، تقویت همه‌جانبه سیستم ایمنی بود. فعالیت لیزوزیم، سطح ایمونوگلوبولین کل (Ig) و فعالیت مسیر آلترناتیو کمپلمان (ACH50) همگی افزایش معنی‌داری در تیمار ۸۰ درصد آب برگشتی نشان دادند. لیزوزیم و کمپلمان، اجزای حیاتی سیستم ایمنی ذاتی هستند که به عنوان اولین خط دفاعی در برابر پاتوژن‌ها عمل می‌کنند^[۳۷، ۳۸]. افزایش سطح ایمونوگلوبولین نیز نشان‌دهنده تقویت بخش هومورال سیستم ایمنی اکتسابی است. این بهبود جامع در عملکرد ایمنی را می‌توان مستقیماً به کاهش استرس مزمن نسبت داد. هورمون استرس، کورتیزول، یک عامل سرکوب‌کننده قدرتمند سیستم ایمنی محسوب می‌شود^[۳۹]. با کاهش استرس در محیط پایدار سیستم مدار بسته، اثر مهاري کورتیزول بر سلول‌های ایمنی برداشته شده و منابع انرژی و متابولیسم برای حفظ و تقویت یک سیستم ایمنی کارآمد آزاد می‌شود. نکته حائز اهمیت این است که در مطالعه حسین‌پور زلتی و همکاران^[۸] بر روی فیل‌ماهی در سیستم با آب برگشتی، افزایش معنی‌دار درصد گلبول‌های سفید و نوتروفیل در تیمار ۸۰ درصد آب برگشتی نیز مشاهده شد که کاملاً با یافته‌های این مطالعه در تقویت سیستم ایمنی همسو است. این نتایج مثبت در تضاد با برخی مطالعات است که در آن‌ها افزودنی‌های خوراکی نتوانستند این شاخص‌ها را به طور معنی‌داری بهبود بخشند^[۳۸، ۳۹]، اما با مطالعاتی که در آن‌ها سین‌بیوتیک‌ها موفق به تقویت ایمنی شدند^[۳۹]، همسو است. این تفاوت‌ها مجدداً تأکید می‌کند که ایجاد یک محیط پرورشی بهینه و کم‌استرس می‌تواند تأثیری پایدارتر و جامع‌تر از مداخلات تغذیه‌ای خاص بر سلامت ماهی داشته باشد.

این یافته‌ها در راستای بخش بزرگی از تحقیقات مدرن آبی‌پروری قرار دارد. برای مثال، Badiola و همکاران^[۲۱] اشاره می‌کنند که اگرچه سیستم‌های مدار بسته می‌تواند ریسک تجمع موادی مانند نیتريت را داشته باشد، اما توانایی آن در ایجاد یک محیط پایدار، اغلب به کاهش پاسخ‌های استرسی مزمن منجر می‌شود. Pérez-Fuentes و همکاران^[۴۰] در تحقیقی بر روی ماهی سی‌باس اروپایی، مشاهده کردند که ماهیان پرورش‌یافته در سیستم مدار بسته در مقایسه با سیستم‌های قفس دریایی، سطوح پایین‌تری از کورتیزول و گلوکز را نشان دادند که مؤید استرس کمتر بود. همچنین، نتایج حاصل از مطالعه حسین‌پور زلتی و همکاران^[۸] که بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد را گزارش کردند، به طور مستقیم برتری سیستم با آب برگشتی را در دستیابی به عملکرد پرورشی بهینه نشان می‌دهد. در مقابل، سیستم‌های باز ماهیان را مجبور به تخصیص مداوم انرژی برای حفظ هموستازی می‌کنند^[۲۵]. Davidson و همکاران^[۴۱] در تحقیقی بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند که ثبات پارامترهای کیفی آب در سیستم مدار بسته، به بهبود شاخص‌های رشد و کاهش استرس در مقایسه با سیستم‌های باز منجر شد.

با وجود نتایج مثبت این تحقیق، لازم به ذکر است که برتری سیستم مدار بسته یک امر مطلق نیست. همانطور که Martins و همکاران^[۲۰] اشاره کرده‌اند، تجمع نیتريت، فسفات و دی‌اکسید کربن می‌تواند به عنوان عوامل استرس‌زا عمل کند. مطالعه Long و همکاران^[۴۲] بر روی تاس‌ماهی چینی به وضوح نشان داد که تراکم‌های بالا منجر به سرکوب رشد، افزایش هورمون‌های استرس و کاهش شاخص‌های ایمنی می‌شود. مطالعه Andrei و همکاران^[۴۳] نیز بر تأثیر منفی تراکم بالا تأکید دارد. همچنین، Zhang و همکاران^[۳۵] گزارش دادند که غلظت بالای آمونیاک می‌تواند رشد و ایمنی ماهیان خاویاری چینی را به شدت تحت تأثیر قرار دهد. مطالعه Fazekas و همکاران^[۴۵] نشان داد که حتی در مراحل حساس لاروی، سیستم مدار بسته می‌تواند تراکم‌های بالا را با موفقیت مدیریت کند. علاوه بر این، Petrea و همکاران^[۴۴] بر اهمیت بهینه‌سازی میزان تغذیه برای دستیابی به بهترین رشد و کارایی تأکید کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه به دلیل برقراری شرایط پرورشی مناسب (حدود ۱۰ بار تعویض آب در طی شبانه‌روز و تراکم نهایی مناسب ۲۵ کیلوگرم در متر مربع) و با ایجاد یک محیط فیزیکیوشیمیایی پایدار، نه تنها استرسی بر ماهیان مورد آزمایش وارد نشد، بلکه استرس فیزیولوژیک کاهش یافت (کاهش گلوکز و LDH) و منابع متابولیسمی ماهی به سمت فرآیندهای آنابولیک و تقویت جامع سیستم ایمنی (افزایش پروتئین کل، لیزوزیم و کمپلمان) هدایت شد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از آب برگشتی تا سطح ۸۰ درصد با حفظ شرایط پرورشی مناسب، برای پرورش فیل‌ماهیان در دامنه وزنی پروراری (۶ کیلوگرم) تا پیش مولدین (۱۴ کیلوگرم) طی دوره ۸ ماهه پرورشی بدون بروز آثار منفی فیزیولوژیکی و حتی با بهبود وضعیت بیوشیمی سرم و ایمنی امکان‌پذیر بوده است.

تشکر و قدردانی

در این بخش از همه کسانی که به نحوی در انجام کار همکاری داشته اند، تشکر و قدردانی می‌شود. نوشتن نام و نام خانوادگی افراد الزامی است.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: در صورت وجود ذکر شوند. توجه فرمایید که ذکر جمله از محل هزینه‌های شخصی امکان پذیر نیست.

سهم نویسندگان: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

- [1] FAO. Fishery and Aquaculture Statistics. Global aquaculture production 1950-2022 (FishStatJ). Rome: FAO; 2024.
- [2] Gisbert E, Ruban G. Global Sturgeon Aquaculture: A Case for Diversification of the Production. Rev Fish Sci Aquac. 2022;30(2):229-247.
- [3] Fatemi M, Kochanian P, Banaee M. Physiology and Breeding of Sturgeons. Tehran: University of Tehran Press; 2019. [In Persian].
- [4] Timmons MB, Losordo TM. Aquaculture water reuses systems: engineering design and management. Elsevier; 1994.
- [5] Rafatnezhad SM, Falahi M, Sayad borani M. The effect of different stocking densities on some growth factors of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2008; 17(1):51-58. [In Persian].
- [6] Akrami R, Rezaei M, Khara H, Falahi M. The effect of probiotic Biomin® Imbo on some hematological and serum biochemical parameters of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2015;24(1):1-12. [In Persian].
- [7] Hosseini far SH, Mirzaei N, Rostamikola-ger M, Hedayatifard M, Akrami R, Abbasi K, et al. The effect of different levels of *Saccharomyces cerevisiae* on growth and some blood parameters of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2011;20(1):43-54. [In Persian].
- [8] Hosseinpour Zelati A, Rafiee G, Akrami R, Pourgholam R, Soltani M. The effect of water exchange rate on growth indices and some hematological parameters of great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2023;32(1):1-15. [In Persian].
- [9] Barton BA, Iwama GK. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu Rev Fish Dis. 1991;1:3-26.
- [10] Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview). Fish Shellfish Immunol. 2006;20(2):137-151.
- [11] Torrecillas S, Montero D, Caballero MJ, Robaina L, Zamorano MJ, Sweetman J, et al. Effects of dietary concentration of n-3 HUFA and vitamin E on the fatty acid composition and immunological responses in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) juveniles. Fish Shellfish Immunol. 2011;31(6):1055-1064.
- [12] Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J Biol Chem. 1949;177(2):751-766.
- [13] Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem. 1969;6(1):24-27.

- [14] Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clin Chim Acta. 1971;31(1):87-96.
- [15] Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. Am J Clin Pathol. 1970;53(1):89-91.
- [16] Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem. 1974;20(4):470-475.
- [17] Yano T. Assays of hemolytic complement activity. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, editors. Techniques in Fish Immunology. SOS Publications; 1992. p. 131-141.
- [18] Siwicki AK, Anderson DP. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, and opsonizing effect of serum and mucus. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, editors. Fish immunology. SOS Publications; 1993. p. 105-111.
- [19] Ellis AE. Lysozyme assays. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, editors. Techniques in Fish Immunology. SOS Publications; 1990. p. 101-103.
- [20] Martins CIM, Eding EH, Verdegem MCJ, Heinsbroek LTN, Schneider O, Blancheton JP, et al. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. Aquacultural Engineering. 2010;43(3):83-93.
- [21] Badiola M, Mendiola D, Bostock J. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. Aquacultural Engineering. 2012;51:26-35.
- [22] Bani A, Khara H, Soltani M, Ahmadi R. Haematological parameters in juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Fish Physiol Biochem. 2010;36(4):1017-1022.
- [23] Pérez-Jiménez A, Guedes MJ, Morales AE, Oliva-Teles A. Metabolic responses to dietary protein and lipid levels in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Fish Physiol Biochem. 2012;38(2):403-413.
- [24] Barton BA. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integr Comp Biol. 2002;42(3):517-525.
- [25] Bonga SEW. The stress response in fish. Physiol Rev. 1997;77(3):591-625.
- [26] Hosseini SM, Yousefi M, Ghelichpour M, Rajabiesterabadi H. Physiological, biochemical and immunological responses of common carp (*Cyprinus carpio*) to transportation stress in water with different concentrations of coriander (*Coriandrum sativum*) essential oil. Aquaculture. 2018;483:136-142.
- [27] Vasilean V, Cristea V, Petrea SM. The influence of stocking density on growth of *Huso huso* juveniles in a recirculating aquaculture system. Lucrări Științifice-Seria Zootehnie. 2009;52:330-334.
- [28] Dorojan I, Petrea SM, Cristea V, Grecu I. Researches concerning the influence of vitamin E and thyme (*Thymus vulgaris*) on some blood parameters of sterlet (*Acipenser ruthenus*) reared in a recirculating aquaculture system. Scientific Papers. Series D. Animal Science. 2014;57:113-117.
- [29] Firat K, Yilgin M. The effects of chronic stress on some blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Limnol Freshw Fish Res. 2018;4(2):92-97.
- [30] Akrami R, Rafiee G, Ahmadiania F. Principles of Fish Blood Biochemistry and Applied Histology. Tehran: University of Tehran Press; 2011. [In Persian].
- [31] Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 8th ed. W. H. Freeman; 2021.
- [32] Vieira DS, et al. Metabolic responses of silver catfish (*Rhamdia quelen*) to acute and chronic ammonia exposure. Aquaculture. 2017;479:47-53.
- [33] Martin DW, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Review of Biochemistry. 19th ed. Lange Medical Publications; 1983.
- [34] Kieffer JD. Limits to exhaustive exercise in fish. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2000;126(2):161-179.
- [35] Zhang S, et al. Effects of water temperature and total ammonia nitrogen (TAN) on growth, hematology and immune responses of juvenile Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. Fish Shellfish Immunol. 2019;93:648-655.

- [36] Randall DJ, Tsui TKN. Ammonia toxicity in fish. Mar Pollut Bull. 2002;45(1-12):17-23.
- [37] Ellis AE. Innate host defence mechanisms of fish against viruses and bacteria. Dev Comp Immunol. 2001;25(8-9):827-839.
- [38] Nikbakhsh F, Vahabzadeh Roodsari H. The effect of some medicinal plants on growth and immunity indices of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2019;28(3):115-128. [In Persian].
- [39] Akrami R, Pouramini M, Ahmadifar E, Khara H. The effect of different levels of synbiotic on growth, survival and immune indices of juvenile great sturgeon (*Huso huso*). Iran Sci Fish J. 2020;29(2):1-14. [In Persian].
- [40] Pérez-Fuentes JA, et al. Comparing the performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in a recirculating aquaculture system (RAS) and an open-sea cage. Aquacultural Engineering. 2016;74:53-61.
- [41] Davidson J, Good C, Welsh C, Summerfelt ST. Comparing the effects of high vs. low density on the performance and welfare of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in water recirculation aquaculture systems. N Am J Aquacult. 2009;71(3):268-278.
- [42] Long L, et al. Effects of stocking density on growth, stress and immune responses of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in a recirculating aquaculture system. Aquaculture. 2019;511:734237.
- [43] Andrei M, Petrea SM, Cristea V, Dediu L, Ion S. Comparative study on growth performance and physiological responses of two sturgeon hybrids, bester and its back-cross progeny, under density stress in a recirculating aquaculture system. Anim Sci Biotechnol. 2016;49(1):9-15.
- [44] Petrea SM, et al. The influence of feeding rate on the growth performance of sterlet (*Acipenser ruthenus*) reared in a recirculating aquaculture system. Scientific Papers. Series D. Animal Science. 2019;62(1):323-328.
- [45] Fazekas G, et al. Effects of different stocking densities on the survival and growth of sterlet (*Acipenser ruthenus*) larvae reared in a recirculating aquaculture system. Animals. 2022;12(15):1924.

Effect of Water Recirculation Rate on Serum Biochemical and Immunological Parameters of Beluga (*Huso huso*) in a Recirculating System

Ali Hosseinpour Zelati^{1*}, Ali Taheri Mirghaed²

1- Iranian Fisheries Science Research Institute, Faculty, Tehran, Iran

2- Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of different levels of reused water on serum biochemical and immunological indices of beluga (*Huso huso*) in a recirculating aquaculture system. The experiment was conducted in a completely randomized design with three treatments: R₀ (100% fresh water), R₅₀ (50% recycled water), and R₈₀ (80% recycled water), each with three replicates. A total of 180 beluga sturgeons with an average initial weight of 6162.71 ± 68.66 g were reared for eight months in nine circular tanks with a volume of 18 m³ each. The results showed that total protein and albumin levels were significantly higher in the R₈₀ treatment compared to other groups, while serum glucose, total lipid, and cholesterol were significantly higher in R₀. Hepatic enzyme activities (ALT and AST) were significantly elevated in R₈₀ compared to R₀, whereas no significant differences were observed between R₅₀ and R₀. LDH levels were lower in R₅₀ and R₈₀ than in R₀. Regarding immune parameters, lysozyme activity, immunoglobulin M (IgM) levels, and complement activity (ACH50) were significantly higher in R₈₀ compared to R₀; however, IgM differences between the reused water treatments were not statistically significant. Overall, the use of 80% reused water in the recirculating system improved serum biochemical and immune parameters, contributing to more efficient water resource utilization in beluga aquaculture.

KEYWORDS: *Huso huso*, recirculating system, Biochemical indicators, immune response

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 05 July 2025

Revised: 09 Aug. 2025

Accepted: 06 Sept. 2025

Published: 21 Sept. 2025

* Corresponding Author:

Email address: ahpour.z@gmail.com

Tel: 09112178521

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513