بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی سفید (*Rutilus frisii*) به استرس ناشی از ابزار صید گوشگیر

- **حجت احمدی‌فگجور**: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **احسان کامرانی***: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **علی‌اصغر خانی‌پور**: پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران
- **آرش اکبرزاده**: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **احمد همایی**: گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

چکیده

برای بسیاری از گونه‌های دریای خزر اطلاعات بسیار اندکی در مورد پاسخ استرس به ابزار و آلات صید و صیادی وجود دارد. در این تحقیق پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهیان سفید دریای خزر پس از تنش و استرس حاد وارده توسط ابزار صید گوشگیر مورد ارزیابی قرار گرفت. تور گوشگیر ثابت از ساحل در عمق ۰/۵ تا ۵ متر در دریا مستقر گردید. نمونه‌های خونی برای ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیک در فواصل زمانی صفر، ۱، ۳، ٦، ۱۲ و ۱۸ ساعت پس از درگیری ماهیان با تور گوشگیر جمع‌آوری گردید. نمونه‌برداری در دو دمای متفاوت (دمای حدود ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) انجام گرفت. سطوح کورتیزول، گلوکز پلاسما و پروتئین شوک حرارتی (HSP70) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پارامترهای مذکور نشان داد بین اثر استرس با دمای آب رابطه مستقیم وجود داشت، این نتیجه نشان داد که مقادیر شاخص‌های خونی در دمای بالاتر به نسبت بیش‌تر از دمای پایین‌تر بود. مقادیر کورتیزول در هر دو دما اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های خونی در فواصل زمانی را نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$). سطوح کورتیزول افزایش ۱۰۰ درصدی را به‌خود اختصاص داده بودند. مقادیر گلوکز پلاسما و پروتئین شوک حرارتی (HSP70) در هر دو دما اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های خونی در فواصل زمانی را نشان نداد ($P\geq ۰/۰۵$). در دوره سنجش، مقادیر گلوکز پلاسما و پروتئین شوک حرارتی (HSP70) روند افزایشی داشت که نشان‌دهنده تاثیر زمان استرس بر روی این پارامترها بود. ماهیان درگیر با تور گوشگیر پس از ۱۸ ساعت همگی تلف شدند. شروع این تلفات حدوداً شش ساعت پس از درگیری بود. این مطالعه نشان داد که استرس حاد ناشی از تور گوشگیر بسیار کشنده است و ماهی حتی قادر به تحمل استرس و بقاء را به‌مدت زمان ۱۸ ساعت نیز ندارد.

کلمات کلیدی: کورتیزول، گلوکز، پروتئین شوک حرارتی، تور گوشگیر، ماهی سفید (*Rutilus frisii*)

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Eza47@yahoo.com

مقدمه

مدیریت صیدآبزیان درعصرجدیدبرپایه‌صیدمسئولانه‌پایه‌گذاری شده است. برای نیل به این هدف باید با مطالعه شرایط بوم‌شناختی منطقه‌صید و آگاهی از ذخایرگونه‌هدف،با ابزارصید انتخابی و دوستدار محیط زیست، سهم مجاز از ذخایر را برداشت نمود، تا ذخایر قابلیت تجدیدنسل پیدا نموده و پایدار گردد. یکی از ویژگی‌های بارز این‌چنین ابزار صیدی، مرگ و میر صیادی پایین و صید کم استرس می‌باشد. استرس دارای مفهوم فیزیولوژیک پیچیده‌ای می‌باشد، نیروهای تهدید کننده را عوامل استرس‌زا می‌نامند. ماهیان همواره درگیر استرس‌های گوناگون محیطی هستند. تغییر در کیفیت آب، فاکتورهای محیطی، شرایط فیزیولوژیکی خود ماهی و میزان تراکم ماهی در واحدحجم، تورکشی،دستکاری هریک عاملی‌برای ایجاداسترس در ماهیان هستند (Koeypudsaو Jongjareanjai، ۲۰۱۱).ماهی‌ها پاسخ‌های فیزیولوژیکی گسترده‌تری به صید و جابه‌جایی نسبت به بسیاری دیگر از مهره‌داران بزرگ‌تر واکنش نشان می‌دهند (Skomal و Mandelman، ۲۰۱۲؛ Skomalو Bernal، ۲۰۱۰).مفهوم‌فیزیولوژیک‌استرس‌درواقع، رویدادی است که جانور سعی و تلاش می‌کند، وضعیت به‌هم ریخته هموستازی خود را بعد از مواجهه با تهدیدات دریافتی به تعادل برساند (Ramsay و همکاران، ۲۰۰۶) و با قرار گرفتن ماهی در شرایطی ماوراء سطح تحمل عادی آن ایجاد می‌شود (Francis Floyd، ۲۰۰۹). استرس با مختل کردن تعادل سیستم‌های داخلی (هومئوستاز) باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، تولیدمثل، عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (Tanck و همکاران، ۲۰۰۰؛ Goos و Consten، ۲۰۰۲؛Chen و همکاران،۲۰۰۴؛Morales و همکاران،۲۰۰۵). استرس پاسخ کلی سیستم درون‌ریز ماهی را برمی‌انگیزد و این تحریک نیز موجب بروز اثرات ثانویه‌ای می‌شود، که تغییرات شدید منبع انرژی بدن را به‌دنبال دارد. زمانی‌که ماهی در معرض عوامل استرسی قرار می‌گیرد، پاسخ اولیه سبب تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز -فوق کلیه (HPI) و ترشح هورمون آدرنوکورتیکوئید (ACTH) و متعاقباً آزاد شدن کاتکول آمین‌ها به‌داخل جریان خون و افزایش سطوح کورتیزول می‌شود (Barton، ۲۰۰۲). سطوح بالای کاتکول آمین‌ها در پلاسما سبب تحریک تبدیل گلیکوژن ذخیره شده به گلوکز از طریق گلیکوژنز می‌شود که از این‌رو سطوح بالاتر گلوکز به‌عنوان پاسخ استرسی ثانویه مشهود است (Mazeaud و همکاران، ۱۹۹۷). مطالعات زیادی نشان داده است که استرس مقدار کورتیزول پلاسما (Pottinger و همکاران، ۲۰۰۳؛ Haukenes و همکاران، ۲۰۰۸) و غلظت گلوکز (Barton و همکاران، ۲۰۰۵؛ David و همکاران، ۲۰۰۵) را افزایش می‌دهد. میزان هورمون کورتیزول پلاسما و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها از قبیل میزان گلوکز می‌تواند به‌عنوان شاخص‌های اصلی استرس مورد استفاده قرارگیرد(Santos، ۱۹۹۶).بنابراین، تعیین غلظت کورتیزول و شاخص‌های متابولیک (مانند گلوکز) ابزارهای مفیدی برای ارزیابی وضعیت سلامت و شرایط استرسی ماهیان محسوب می‌شوند(Barton، ۲۰۰۲). پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) به‌عنوان پروتئین‌های استرس شناخته شده‌اند که شامل یک دسته از مولکول‌های هستند که نقش محوری در پاسخ استرس سلولی را بازی می‌کنند (Iwama و همکاران، ۱۹۹۹؛ Basu و همکاران، ۲۰۰۲). انواع مختلفی از HSP وجود دارد که HSP70 معروف‌ترین نوع آن‌ها می‌باشد. ژن HSP70 در شرایط بدون تنش نیز بیان می‌شود، ولی‌درشرایط تنش میزان بیان ژن این پروتئین افزایش می‌یابد و با اتصال به پروتئین‌های هدف به حفظ ساختار آن‌ها کمک می‌نماید. بنابراین تغییر میزان بیان آن می‌تواند به‌عنوان یک زیست نشانگر برای هر کدام از تغییرات ازجمله آلودگی با سموم و تغییرات محیطی به‌شمار آید (Xing و همکاران، ۲۰۱۳؛ Bauer و همکاران، ۲۰۱۳؛ Tedeschi و همکاران، ۲۰۱۵). ماهی سفید یکی از گونه‌های با ارزش و اقتصادی در حوزه جنوبی دریای خزر بوده که بیش از ۵۰ درصد از صید و بیش از ۶۰ درصد از درآمد صیادان ماهیان استخوانی را به‌خود اختصاص می‌دهد (عبدالملکی و غنی‌نژاد، ۱۳۸۶؛ دریانبرد و همکاران، ۱۳۸۸). خصوصیات هر یک از ادوات یا روش‌های صید که سبب افزایش احتمالی صید گونه هدف (با درنظر گرفتن ویژگی‌های آن) می‌گردد، را قابلیت انتخاب‌پذیری می‌نامند. تورهای گوشگیر (Gill net) دارای حالت انتخاب‌کنندگی(Selectivity)بالایی براساس انتخاب طولی و وزنی ماهی و انتخاب براساس عمق صید می‌باشد. تورهای گوشگیر ثابت جزء ابزار صید غیرفعال می‌باشند. صیادان جهت صید ماهی سفید از تورهای گوشگیر به‌طول ۱۸-۲۱ متر و عرض ۶-۸ متر از جنس نایلونی منوفیلامنت و یا مولتی فیلامنت با اندازه چشمه گره تا گره مجاور ۴۰-۵۰ میلی‌متر و بافت گره‌دار استفاده می‌کنند. روش صید بدین‌صورت است‌که تورهای‌گوشگیر ثابت به تعداد ۱۰-۲۰ رشته به‌صورت متوالی عمود بر خط نوار ساحلی و با استفاده از انواع ابزارهای نگه‌دارنده (پایه‌های چوبی، لنگر، میخ چوبی، کیسه شنی) در مسیر مهاجرت ماهی سفید از عمق ۵-۴۰ متری مستقر می‌گردند. ماهیان در مسیر مهاجرت بر اثر برخورد با دیواره تور وارد شبکه‌های تور شده و در چشمه‌ها گیرکرده و صید می‌شوند (خانی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸). مرگ و میر پس از رهایی از ادوات صیاد ی باعث نگرانی جدی شیلات برای‌مدیریت صیدضمنی‌می‌باشد،به‌خصوص برای گونه‌های در معرض خطر صید شده، که باید پس از صید رهاسازی گردند (Suuronen، ۲۰۰۵؛ Moyes و همکاران، ۲۰۰۶؛ Skomal، ۲۰۰۷). عوامل بسیاری، از جمله مدت زمان قرار گرفتن در معرض استرس (Wells و همکاران، ۱۹۸۶؛ Chopin و همکاران، ۱۹۹۶؛ Olla و همکاران، ۱۹۹۷؛

Manire و همکاران، ۲۰۰۱؛ De Lestang و همکاران، ۲۰۰۴) و غلظت گلوکز (Barton و همکاران، ۲۰۰۵؛ David و همکاران، ۲۰۰۵) درجه حرارت آب و اکسیژن محلول (Olla و همکاران، ۱۹۹۸؛ Parsons و Carlson، ۲۰۰۳) وضعیت تغذیه‌ای، تقلای ماهی در زمان گرفتار شدن در ادوات صیادی، می‌تواند تاثیر زیادی بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی داشته‌باشد که در طبیعت قابل کنترل نیست. در استرس‌های فیزیولوژیکی، آسیب‌های فیزیکی، یا تلفیقی از این دو، مرگ ومیر فوری یا با تاخیر را امکان‌پذیر می‌سازد (Skomal، ۲۰۰۷). ماهیان مهاجر به استرس ناشی از شکارچی پاسخ داده و اقدام به مهاجرت می‌کنند و تا زمان حذف آن استرس‌فاکتور در آن محیط به آن‌جا رجعت نمی‌کنند (Skov، ۲۰۱۳). بنابراین احتمالاً استرس ناشی از ادوات صید، کاهش جمعیت صید و صیادی را دربر داشته باشد به‌نظر می‌رسد در جهت کاهش استرس‌های ناشی از ادوات صید باید گام برداشته شود. مطالعه حاضر، باهدف تعیین میزان استرس ناشی از تور گوشگیر صیادی نسبت به ماهی سفید با سنجش برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پس از بررسی و مطالعه اولیه و آماده‌سازی مواد و وسایل و تجهیزات لازم، مراحل اجرایی در منطقه صیادی انزلی (طالب‌آباد) انجام گرفت. در این آزمایش ابزار صید، تور گوشگیر ثابت (Fixed Gill net) بود، که از ساحل تا عمق ۵ متری را در بر گرفته بود. زمان‌های نمونه‌برداری برای این تحقیق زمان‌های مجاز صید بود. زمان مجاز صید از مهرماه تا حدوداً پایان فروردین ماه که از طرف سازمان شیلات اعلام شده بود.

طراحی آزمایش: برای انجام این تحقیق، ابتدا تور گوشگیر در دریا استقرار داده شد، ماهیان سفید در تور گوشگیر درگیر شدند (اولین نمونه‌برداری خونی زمان صفر نمونه‌برداری). تعداد حدود ۶۵ قطعه ماهی سفید با وزن متوسط ۱۸۰±۹۵۰ گرم در فواصل زمانی صفر، ۱، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت اقدام به نمونه‌برداری خونی از آن‌ها گردید (Fast و همکاران، ۲۰۰۸). ضمناً این تحقیق در دو دمای متفاوت (دمای پایین حدود ۹/۵ درجه سانتی‌گراد و دمای بالا حدود ۱۵ درجه سانتی‌گراد) در شرایط کاملاً طبیعی انجام گرفت. هم‌چنین فاکتورهای اکسیژن، دما، PH و EC آب در هر بار نمونه‌گیری خونی مورد سنجش قرارگرفت .

نمونه‌برداری پارامترهای خونی: به‌منظور بررسی تاثیر استرس ناشی از ادوات صید بر پارامترهای خونی اقدام به خونگیری به‌میزان مورد نظر از سیاهرگ ساقه دمی (Frick و همکاران، ۲۰۰۹) و با استفاده از سرنگ‌های هپارینه انجام گرفت. جهت جمع‌آوری نمونه‌های خونی، ماهی را به‌آرامی به وان منتقل، تا با استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک بی‌هوش شدند. پس از بی‌هوشی، ۱-۰/۷ میلی‌لیتر نمونه خون از سیاهرگ دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه ۲ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. در پایان نمونه‌های خون به‌سرعت به‌داخل میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری هپارینه منتقل گردید. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور/دقیقه سانتریفوژ شدند. نمونه‌های پلاسما جدا و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های سنجش گلوکز، کورتیزول و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP70) نگه‌داری شدند. غلظت گلوکز پلاسما با روش رنگ‌سنجی گلوکزاکسیداز (کیت پارس آزمون) تعیین گردید. اندازه‌گیری کورتیزول پلاسما با روش آزمایشگاهی رادیوایمونواسی (RIA) انجام شد (Gehris و همکاران، ۱۹۹۰). اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خون (نانو گرم/میلی‌لیتر) با روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک Gamma counter مدل L.K.B ساخت کشور فنلاند و با به‌کارگیری کیت‌های هورمونی ایمونوتک (Immunotech) ساخت کشور فرانسه (I RIA Kit۱۲۵) انجام شد. به این منظور ابتدا ۱۰ میکرولیتر از پلاسما و ۵۰۰ میکرولیتر از هورمون کورتیزول نشاندار به میکروتیوب‌های موجود در کیت اضافه و سپس میکروتیوب‌ها پس از ورتکس شدن، به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از آن محتوای میکروتیوب‌ها خالی شده و پس از خشک شدن میکروتیوب‌ها، مقدار تشعشعات گامای آن‌ها در دستگاه Counter Gamma اندازه‌گیری شد.

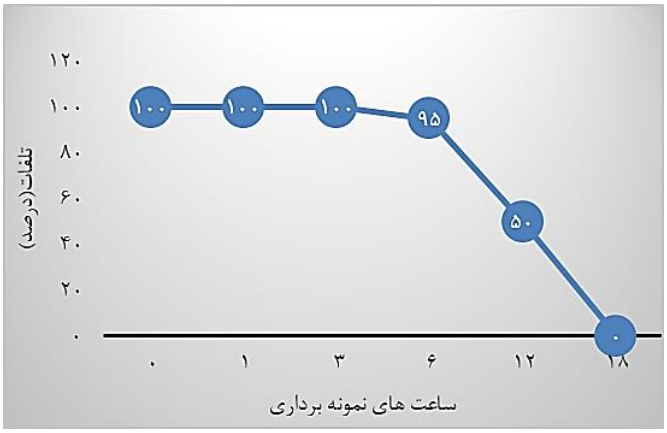
سنجش میزان تولید HSP70 به‌روش الیزا: میزان تولید HSP70 در پلاسمای خون ماهی با کیت تجاری (Hangzhou CO, LTD, USA) براساس دستورالعمل کارخانه سازنده انجام شد (Wang و همکاران، ۲۰۱۵). به‌طور خلاصه واکنش‌ها در چاهک‌های میکروپلیت انجام شد که از قبل این چاهک‌ها با منوکلونال آنتی‌بادی پوشیده شده بودند. در مرحله بعد آنتی‌پلی کلونال اختصاصی ثانویه اضافه شده و پس از واکنش با محلول سوبسترا، فرایند خاتمه یافت و سپس جذب با استفاده از دستگاه الیزا نگار (Bio-Tek Inc, Winooski, VT, USA) و در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد و مقدار HSP70 موجود در نمونه تعیین و به‌صورت نانو گرم/میلی‌لیتر گزارش گردید.

آنالیز آماری: کلیه داده‌های کسب شده در نرم‌افزار Excel ثبت گردید و پس از کنترل همگنی داده‌ها با Colmogornov-smirnov با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one–Way ANOVA) جهت مقایسه میانگین آن‌ها با کمک آزمون توکی (Tukey's) در سطح اطمینان ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه عملیات مربوطه به‌وسیله نرم‌افزار SPSS ۱۷,۰ انجام پذیرفت.

نتایج

به‌طورکلی ماهیان در فواصل زمانی مشخص نمونه خونی از آن‌ها گرفته شد. اما به‌دلیل درگیری شدید و استرس فوق حاد ناشی از ابزار

صید گوشگیر آخرین زمان نمونه‌برداری خونی همگام با لحظات پایانی عمر و بقاء آن‌ها درنظر گرفته شد که در این تحقیق پس از گذشت ۱۸ ساعت همه ماهیان درگیر با تور در هر دو دما تلف شدند (شکل ۱).



شکل ۱: روند تلفات ماهیان سفید پس از گرفتار شدن در تور گوشگیردر فواصل زمان‌های نمونه‌برداری

میزان‌سنجش برخی ازفاکتورهای فیزیکوشیمیایی در دو زمان مختلف (دمای پایین و بالا) در فواصل زمانی مختلف خونگیری در جدول ۱ آمده است. نتایج آماری میانگین شاخص‌های خونی ماهیان سفید در دو زمان مختلف (دماهای بالا و پایین) در جدول ۲ نشان داده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده مجموع مقادیر گلوکز، کورتیزول و پروتئین شوک حرارتی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

شاخص‌های استرس در دمای پایین

مقادیر کورتیزول خون ماهی سفید در زمان‌های مختلف پس از استرس وارده توسط ابزار صید گوشگیر در شکل ۲ نشان داده شده است . میزان کورتیزول اختلاف معنی‌داری را در بین ماهیان استرس دیده در زمان‌های مختلف نشان داد($P\leq ۰/۰۵$). پس‌از استرس تغییرات مقادیر کورتیزول روند افزایشی به‌خود گرفت. حداکثر مقدار کورتیزول ۳ ساعت پس از استرس وارده با رشد بالای ۱۰۰٪ توسط ابزار صید دیده شد و پس از آن نیز مقادیر کورتیزول نسبت به نمونه‌برداری اول از میزان بالایی برخوردار بود (شکل۲) .

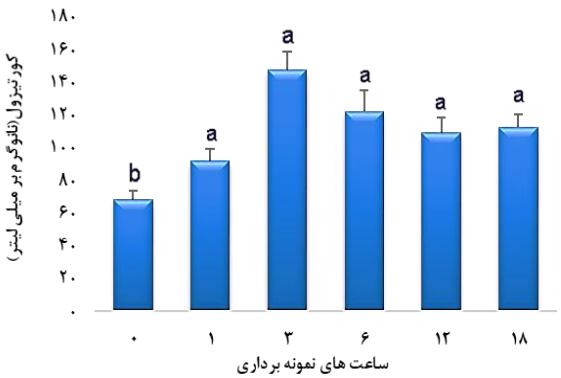
جدول۱: مقادیر برخی از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی در دو دما متفاوت در زمان‌های نمونه‌برداری در شرایط طبیعی در دریای خزر

ساعات نمونه برداری	۰	۱	۳	۶	۱۲	۱۸
دمای پایین (سانتی‌گراد)	۹,۸	۹,۴	۹,۲	۹,۱	۱۲	۹,۵
PH	۸,۳۵	۸,۴۲	۸,۳۴	۸,۲۹	۸,۳۲	۸,۳۴
هدایت الکتریکی(میکروموس بر سانتی‌متر)	۱۴,۳۴	۱۵,۳۲	۱۵,۳۷	۱۵,۴۸	۱۵,۲۴	۱۵,۳۶
اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	۸,۶۵	۸,۸۵	۸,۹۲	۸,۲۹	۸,۳۲	۸,۳۳
دمای بالا (سانتی‌گراد)	۱۵,۷	۱۵,۴	۱۵	۱۲,۸	۱۲	۱۳
PH	۸,۳۲	۸,۳۸	۸,۳۶	۸,۳۹	۸,۲۷	۸,۳۱
هدایت الکتریکی(میکروموس بر سانتی‌متر)	۱۵,۳۴	۱۵,۳۹	۱۵,۴۴	۱۵,۴۵	۱۶,۰۲	۱۵,۶۶
اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	۸,۴۳	۸,۲۵	۸,۲۹	۸,۴۹	۸,۳۷	۸,۳۲

جدول ۲: میانگین مقادیر شاخص‌های خونی ماهی سفید (*Rutilus frisii*) تحت‌استرس توسط صید گوشگیر در دماهای مختلف

شاخص	دما	میانگین	خطای معیار
کورتیزول	پایین	۱۰۱,۰۴	۳۳,۹
(نانوگرم بر میلی‌متر)	بالا	۱۰۸,۶۲	۳۶,۲۲
گلوکز	پایین	۵۳,۹۳	۲۰,۳۳
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بالا	۸۵,۸۹	۱۵,۳۵
پروتئین شوک حرارتی	پایین	۲۶۷,۶۴	۶۵,۶۴
(نانوگرم بر میلی‌لیتر)	بالا	۳۹۰,۶	۷۲,۷۴

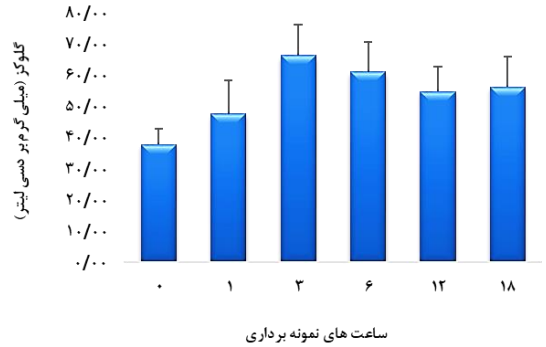
عدم وجود حروف در ستون‌ها نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های مذکور است ($P\geq ۰/۰۵$).



شکل ۲: تغییرات مقادیر کورتیزول در ماهیان سفید پس از قرار گرفتن در معرض صید گوشگیردر فواصل زمانی

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار

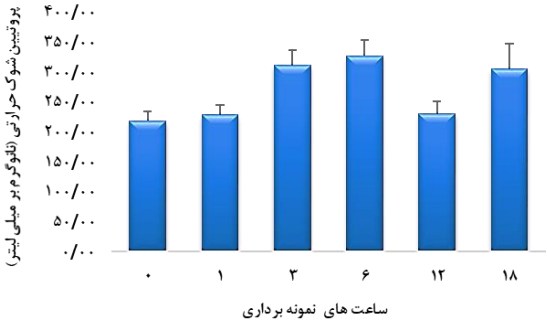
میزان گلوکز در بین ماهیان استرس دیده شده ناشی از صید گوشگیر در دمای پایین اختلاف معنی‌داری یافت نشد (شکل۳). مقادیر تغییرات گلوکز در ماهیان پس از استرس‌وارده به‌خصوص در سه ساعت اولیه پس از استرس روند صعودی را نشان داد.



شکل ۳: تغییرات مقادیر گلوکز در ماهیان سفید پس از قرار گرفتن در معرض صید گوشگیر در فواصل زمانی

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار

میزان پروتئین شوک حرارتی در بین ماهیان استرس دیده شده ناشی از صید گوشگیر در دمای پایین اختلاف معنی‌داری یافت نشد (شکل ۴). مقادیر تغییرات پروتئین شوک حرارتی در ماهیان پس از استرس‌وارده‌روند صعودی نشان داد و بالاترین مقدار تغییرات پروتئین شوک حرارتی ۶ ساعت پس از صید مشاهده گردید.

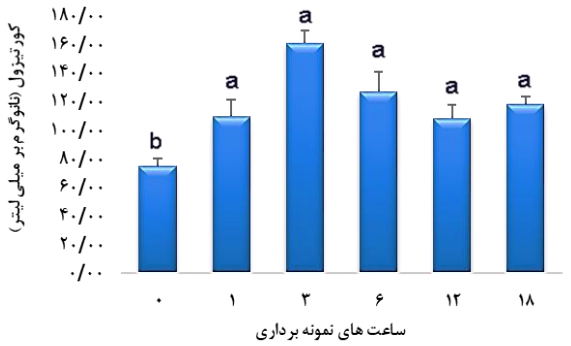


شکل۴: تغییرات مقادیر پروتئین شوک‌حرارتی در ماهیان سفید پس از قرارگرفتن در معرض صید گوشگیر در فواصل زمانی

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار

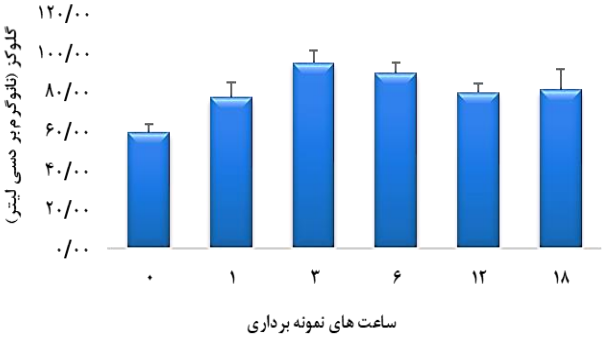
شاخص‌های استرس در دمای بالا

مقادیر کورتیزول اختلاف معنی‌داری را بین ماهیان استرس دیده در زمان‌های مختلف توسط صید گوشگیر نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$). پس از استرس تغییرات مقادیر کورتیزول در ساعات اولیه روند افزایشی به‌خود گرفت که بیش‌ترین مقدار آن به ۳ ساعت پس از استرس تعلق داشت (شکل۵). مقادیر گلوکز و پروتئین شوک حرارتی در بین ماهیان استرس دیده شده ناشی از صید تور گوشگیر ثابت در دمای بالا اختلاف معنی‌داری یافت نشد (شکل‌های ۶ و ۷). مقدار تغییرات پروتئین شوک حرارتی در ماهیان در ۶ ساعت اول روند افزایشی نشان داد.



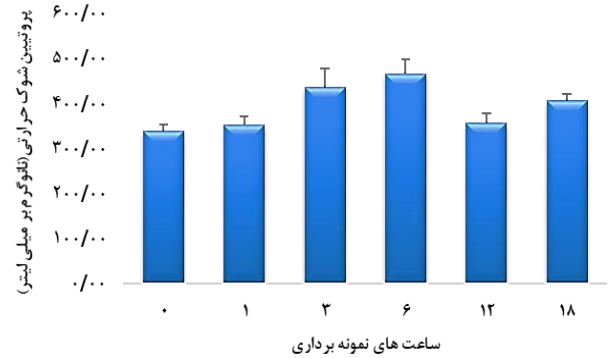
شکل ۵: تغییرات مقادیر کورتیزول در ماهیان سفید پس از استرس وارده توسط صید گوشگیر در فواصل زمانی در دمای بالا

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار



شکل۶: تغییرات مقادیر گلوکز در ماهیان سفید پس از قرارگرفتن در معرض صید گوشگیر در فواصل زمانی در دمای بالا

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار



شکل ۷: تغییرات مقادیر پروتئین شوک حرارتی در ماهیان پس از استرس وارده توسط تور گوشگیر در فواصل زمانی در دمای بالا

مقادیر به‌صورت میانگین±انحراف معیار

بحث

برخوردها و درگیری با ادوات صیادی مجموعه پیچیده‌ای از پاسخ‌ها را فراهم می‌کند که می‌تواند تغییر رفتار فیزیکی و فیزیولوژیکی را به همراه داشته باشد. اگرچه این واکنش‌ها شرایط را برای موجودات جهت زنده‌ماندن و فعالیت‌های روزمره مهیا می‌سازد، اما پایداری آن‌ها می‌تواند عملکرد طبیعی را مختل کند و منجر به مرگ و میر شود. واکنش‌ها و پاسخ‌ها چندین سیستم (گردش خون، تنفس، حرکتی و غدد درون‌ریز) را دربر می‌گیرد و شدت واکنش‌ها به‌نظر می‌رسد بستگی به‌مدت زمان، ابعاد و نحوه روش صید بستگی دارد (Cliff و Thurman، ۱۹۸۴؛ Wilson و همکاران، ۲۰۱۴؛ Dapp و همکاران، ۲۰۱۶). روش‌های مرسوم برای درک ابعاد استرس ایجاد شده توسط ادوات صید در گونه‌های ماهی، شامل ارزیابی پارامترهای فیزیولوژیکی خون، متابولیسم و فعالیت سلولی است (Skomal و Mandelman، ۲۰۱۲). تغییرات در بیوشیمیایی خون، به‌ویژه ترکیبات اسیدی، به اتفاقاتی که در روند صید حادث می‌شود بستگی دارد و هم‌چنین به‌میزان و شدت اثر استرس وارده مرتبط است (Wells و همکاران، ۱۹۸۶؛ Skomal، ۲۰۰۶). هنگامی که عوامل فوق با مرگ و میر همراه می‌شود، شاخص‌های فیزیولوژیکی این ایده را تقویت می‌نماید، که عوامل مذکور دلایل اصلی ترغیب آبزی به مهاجرت از آن ناحیه است (Skomal، ۲۰۰۷). در این مطالعه کورتیزول، گلوکز پلاسما و پروتیین شوک حرارتی به‌عنوان شاخص‌های استرس مورد سنجش قرار گرفتند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، تغییرات مقادیر کورتیزول، گلوکز و پروتئین شوک حرارتی پس از مواجه با ابزار صید گوشگیر ثابت روند افزایشی را نشان داد (Olsen و همکاران، ۲۰۰۳؛ Milla و همکاران، ۲۰۱۰ ؛ Costas و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعه حاضر نشان داد که مقادیر متوسط هورمون کورتیزول گلوکز پلاسما و پروتئین شوک حرارتی با افزایش دما افزایش می‌یابند. به‌همین ترتیب، اثر افزایش دمای آب در تقویت استرس فیزیولوژیکی در ماهی باس دیده شد (Suski و همکاران، ۲۰۰۶). میانگین مقادیر شاخص‌های خونی این تحقیق در دمای بالا به نسبت بیش‌تر از دمای پایین است که نشان‌دهنده رابطه مستقیم بین اثر استرس در دمای بالاتر می‌باشد (Schlenker و همکاران، ۲۰۱۶؛ Suski و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعه روی گربه‌ماهی نقره‌ای (*Rhamdia quelen*) نشان داد که این ماهی تحت تاثیر شرایط دمای آب سرد، گلوکز را ذخیره کرده، درحالی‌که در آب گرم، مصرف گلوکز محتمل است (Lermen و همکاران، ۲۰۰۴). هم‌چنین در دمای بالاتر میزان بیش‌تر گلوکز (هایپرگلایسمی) در دمای پایین‌تر، میزان کم‌تر گلوکز (هیپوگلایسمی) وجود دارد (Lermen و همکاران، ۲۰۰۴). سطوح بالای گلوکز خون در دماهای پایین نشان‌دهنده سوخت و ساز کند و هم‌چنین شاخص زیرکشنده استرس است (Best و همکاران، ۲۰۱۵).

سطوح کورتیزول پلاسما در ماهیان تحت استرس توسط ابزار صید گوشگیر ثابت در هر دو دما در ساعات اولیه به‌طور معنی‌داری روند افزایشی را نشان داد که با مطالعات (Currie و Tufts، ۱۹۹۷؛ Wood و همکاران، ۱۹۸۳؛ Suski و همکاران، ۲۰۰۶؛ Brooks و همکاران، ۲۰۱۲؛ Marshall و همکاران، ۲۰۱۲؛ Schlenker و همکاران، ۲۰۱۶) هم‌خوانی داشت. مطالعات پیشین در ماهی نشان می‌دهد که غلظت Hsp با پاسخ استرس افزایش می‌یابد (Currie و Tufts، ۱۹۹۷؛ Moyes و همکاران، ۲۰۰۶) و این روند افزایشی تحت تاثیر استرس وارده است (Skomal و Bernal، ۲۰۱۰) و به‌کارگیری از شاخص Hsps برای شناسایی تغییرات درون سلولی به‌علت استرس و تنش در حال تبدیل شدن به یک روش قابل اعتماد است (Currie و Tufts، ۱۹۹۷؛ Currie و همکاران، ۲۰۰۰؛ Moyes و همکاران، ۲۰۰۶؛ Mladineo و Block، ۲۰۰۹؛ Heberer و همکاران، ۲۰۱۰؛ Skomal و Bernal، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر افزایش سطوح کورتیزول و گلوکز پلاسما در ساعات اولیه نشان دهنده واکنش فیزیولوژیکی اولیه و ثانویه ماهیان پس از مواجهه با شرایط استرس‌زا حادمی‌باشد (Lappivaara، ۲۰۰۱؛ Barton و همکاران، ۲۰۰۰؛ Waring و همکاران، ۱۹۹۶؛ Braley و Andersson، ۱۹۹۲) افزایش هورمون کورتیزول تاییدکننده نقش آن به‌عنوان یک هورمون سازگاری با شرایط محیطی است (Wendelaar Bonga، ۱۹۹۷). آزاد سازی گلوکز در پاسخ به استرس عموماً به‌عنوان راهی برای تامین منابع انرژی جهت توانمندسازی جانور در غلبه بر شرایط آشفته محسوب می‌شود. به‌همین ترتیب غلظت‌های لکتات پلاسما به‌طور قابل ملاحظه‌ای در بین گونه‌های مختلف در پی تقلای شدید و یا در اثر هیپوکسی افزایش می‌یابد (Arends و همکاران، ۱۹۹۹؛ Cech و همکاران، ۱۹۹۶؛ Carragher و Rees، ۱۹۹۴). سطوح گلوکز پلاسما و پروتیین شوک حرارتی هم‌گام با کورتیزول افزایش می‌یابد که با نتایج در ماهی کفشک *Senegalensis solea* (Costas و همکاران، ۲۰۱۱) و Rainbow trout (Vijayan و همکاران، ۱۹۹۴) و مارلین سفید (Schlanker و همکاران، ۲۰۱۶) مطابقت دارد، این نشان می‌دهد که محور غده هیپوتالاموس-هیپوفیز تحت تاثیر شدیدی واقع شده است. به‌طورکلی، مقادیر بالای گلوکز پلاسما به‌دنبال استرس در پاسخ به هورمون‌های استرسی، به‌طور خاص اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین به جریان خون آزاد می‌شود (Wendelaar Bonga، ۱۹۹۷). بنابراین، مقادیر بالای گلوکز به‌مدت طولانی در این مطالعه را می‌توان به تقاضای بالای انرژی در ماهیانی که با استرس مواجه بودند مرتبط دانست. گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی در ایجاد انرژی از طریق تولید ATP دارد تحت شرایط استرس‌زا، کاتکول آمین و کورتیزول با تأثیر بر کبد سبب القای گلیکولیز و گلوکو نئوژنزیز و نتیجتاً افزایش گلوکز پلاسما می‌شوند (Milligan ، ۱۹۹۶؛ Costas و همکاران، ۲۰۱۱؛ Makvandi و همکاران، ۲۰۱۲).

به‌طورکلی، یک رویداد استرس‌زا منجر به افزایش سطحوح کاتکولامین‌ها می‌شود که به‌نوبه خود باعث تجزیه گلیکوژن می‌گردد و در نهایت به هیپرگلیسمی و افزایش قند خون منجر می‌شود (Wells وهمکاران، ۱۹۸۶؛ Skomal و Bernal، ۲۰۱۰؛ Skomal و Mandelman، ۲۰۱۲). به‌نظر می‌رسد شروع تجمع و افزایش گلوکز قبل از تجمع لاکتات در خون اتفاق می‌افتد (Wells و همکاران، ۱۹۸۶) و نشان می‌دهد که افزایش گلوکز ممکن است به‌نوعی جهت بقاء و زنده ماندن باشد.باوقایع‌استرس طولانی‌تر سطوح گلوکز افزایش می‌یابد (Skomal و Bernal، ۲۰۱۰؛ Skomal و Mandelman، ۲۰۱۲). ماهیانی که در تور صید می‌شوند، دست به تقلای شدید می‌زنند که منجر به تجزیه گلیکوژن عضلات از طریق بی‌هوازی می‌گردد و تجمع‌درون ماهیچه‌ای حاد را به‌دنبال‌دارد‌محصول‌نهایی این‌متابولیسیم افزایش‌شدید لاکتات و پروتون‌ها در اثر خروج از سلول‌های عضلانی به محیط خونی اطراف می‌باشد که باعث کاهش PH و متابولیک اسیدی می‌باشد که به‌نوبه خود احتمال آسیب‌های غیرقابل برگشت سلول را درپی خواهد داشت (Moyes، ۲۰۰۶؛ Skomal، ۲۰۰۷؛ Skomal و Bernal، ۲۰۱۰؛ Skomal و Mandelman، ۲۰۱۲). به‌طورکلی در این تحقیق ماهیان سفید در تور گوشگیر به حالت‌های تورپیچ، تنه گیر، گوشگیر و سرگیر گرفتار شدند و جهت رهایی دست به تقلای شدید می‌زدندکه با گذشت زمان نشانه‌هایی فلس پریدگی، زخم روی بدن و آبشش، خوردگی باله‌ها، رنگ پریدگی، رخوت و در نهایت مرگ را برای آن‌ها به‌دنبال داشت. ماهیان درگیر با تور گوشگیر در هر دو دما پس از ۱۸ ساعت همگی تلف شدند. شروع این تلفات حدوداً شش ساعت پس از درگیری بود. پس از ۱۲ ساعت تقریباً ۵۰ درصد ماهیان تلف شدند. این امر می‌تواند به سطح بالا و فعالیت شدید ماهیان درگیر با ابزار صید و شدت اثر استرس وارده دانست (Wells و همکاران، ۱۹۸۶؛ Skomal، ۲۰۰۶). صیادی می‌تواند باعث تغییرات در عملکرد عصبی غدد درون‌ریز (پاسخ استرس اولیه) و معمولاً به تغییرات بعدی در بیوشیمی بافت (پاسخ ثانویه استرس در خون و عضلات) منتج شود(Cooke و Suski، ۲۰۰۵؛ Arlinghaus، ۲۰۰۷). به‌نظر می‌رسد این بی‌حالی و رخوت در واکنش به فرایند استرس وارده از درگیری با ابزار صید و فشار ناشی از آن و تقلاء شدید، باعث افزایش عامل اسیدی و لاکتات پلاسما از طریق افزایش فعالیت عضلانی بی‌هوازی (Arends و همکاران، ۱۹۹۹؛ Cech، ۱۹۹۶) را به‌دنبال داشته که به‌نوبه خود منجر به مرگ و میر ماهیان ختم گردید، هم‌چنین ماهی سفید در زمان گرفتاری در ادوات صید پر استرس (تور گوشگیر) واکنش‌های کشنده‌ای از خود بروز می‌دهد. این‌مطالعه نشان‌داد که استرس‌حاد ناشی از تور گوشگیر بسیار کشنده است و ماهی حتی قادر به تحمل استرس و بقاء را به‌مدت زمان ۱۸ ساعت نیز ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان برخود لازم می‌دانند از همکاران مرکز تحقیقات آب‌های داخلی انزلی و کارکنان شرکت تعاونی پره طالب‌آباد به جهت همکاری تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

۱. **خانی‌پور، ع.ا. و ولی‌پور، ر.، ۱۳۸۸**. ماهی سفید جواهر دریای خزر. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات تهران. ۸۴ صفحه.

۲. **عبدالملکی، ش. و غنی‌نژاد، د.، ۱۳۸۶**. ارزیابی ذخایر ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزردر سال ۸۳-۱۳۸۲. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱، صفحات ۱۰۳ تا ۱۱۴.

۳. **دریانبرد، غ.؛ عبدالملکی، ش. و بندانی، غ.، ۱۳۸۸**. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی در سواحل ایرانی دریای خزر (۸۶-۱۳۸۴). موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۵۸صفحه.

۴. **Arends, R.J.; Mancera, J.M.; Mun˜oz, J.L. and Wendelaar Bonga, S.E., 1999**. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. J of Endocrinology. Vol. 163, pp: 149- 157.

۵. **Arlinghaus, R.; Cooke, S.J.; Lyman, J.; Policansky, D.; Schwab, A.; Suski, C.; Sutton, S.G. and Thorstad, E.B., 2007**. Understanding the complexity of catch-and release in recreational fishing: an integrative synthesis of global knowledge from historical, ethical, social, and biological perspectives. Rev. Fish. Sci. Vol. 15, pp: 75-167.

۶. **Barton, B.; Bollig, H.; Hauskins, B.L. and Jansen, C.R; 2000**. Juvenile pallid (*Scaphirhynchus albus*) and hybrid pallid_shovelnose (*S. Albus platorynchus*) sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A Vol. 126, pp: 125-134.

۷. **Barton, B.A., 2002.** Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteriods. Integrative and omparative Biology. Vol. 42, pp: 517-525.

۸. **Basu, N.; Todgham, A.E.; Ackerman, P.A.; Bibeau, M.R.; Nakano, K.; Schulte, P.M. and Iwama, G.K., 2002.** Heat shock protein genes and their functional significance in fish. Gene. Vol. 295, No. 2, pp: 173-183.

۹. **Barton, B.A.; Ribas, L.; Acerete, L. and Tort, L., 2005**. Effects of chronic confinement on physiological response of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata*, to acute handling. Aquaculture Research. Vol. 36, pp: 172-179.

۱۰. **Bauer, M.; Greenwod, S.J.; Clark., K.F.; Jackman, P. Fairchild, W., 2013**. Analysis of gene expression in *Homarus americanus* larvae exposed to sublethal concentration of endosulfan during metamorphosis.

۱۱. **Braley, H. and Andersson, T.A., 1992**. Changes in blood metabolite concentrations in response to repeated capture, anesthesia and blood sampling in the Golden perch, Macquaria ambigua. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 103, pp: 445-450.

۱۲. **Brooks, E.J.; Mandelman, J.W.; Slowman, K.A.; Liss, S.; Danylchuk, A.J.; Cooke, S.J.; Skomal, G.B.; Philipp, D.P.; Sims, D.W. and Suski, C.D., 2012.** The physiological response of the Caribbean reef shark (*Carcharhinus perezi*) to longline capture. Comp Biochem Physiol. Vol. 162, pp: 94-100.

۱۳. **Carlson, J.K. and Parsons, G.R., 2003**. Respiratory and hematological responses of the bonnethead shark, Sphyrna tiburo, to acute changes in dissolved oxygen. Journal of experimental marine biology & ecology. Vol. 294, pp: 15-26.

۱۴. **Carragher, J.F. and Rees, C.M., 1994**. Primary and secondary stress responses in golden perch, Macquaria ambigua. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 107, pp: 49-56.

۱۵. **Cech, J.J.; Bartholow, S.D.; Young, P.S. and Hopkins, T.E., 1996**. Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. Transactions of the American Fisheries Society. Vol. 125, pp: 308-320.

۱۶. **Chen, G.A.; Wooster, G.A. and Bowser, P.R., 2004**. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. Aquaculture. Vol. 239, pp: 421-443.

۱۷. **Chopin, F.S; Arimoto, T. and Inoue, Y., 1996.** A comparison of the stress response and mortality of sea bream Pagrus major captured by hook and line and trammel net. Fisheries Research. Vol. 28, pp: 277-289.

۱۸. **Cliff, G. and Thurman, G.D., 1984.** Pathological and physiological effects of stress during capture and transport in the juvenile dusky shark, Carcharhinus obscurus. Comparative biochemistry&physiology. Vol. 78, pp: 167-173.

۱۹. **Cooke, S.J. and Suski, C.D., 2005.** Do we need species-specific guidelines for catch-andrelease recreational angling to effectively conserve diverse fishery resources? Biodivers. Conserv. Vol. 14, pp: 1195-1209.

۲۰. **Costas, B.; Conceição, L.E.C.; Aragão, C.; Martos, J.A.; Ruiz-Jarabo, I.; Mancera, J.M. and Afonso, A., 2011.** Physiological responses of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) after stress challenge: Effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism. Aquaculture. pp: 68-76.

۲۱. **Currie, S. and Tufts, B., 1997.** Synthesis of stress protein 70 (Hsp70) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) red blood cells. J. Exp. Biol. Vol. 200, pp: 607-614.

۲۲. **Currie, S.; Moyes, C. and Tufts, B., 2000.** The effects of heat shock and acclimating temperature on hsp70 and hsp30 mRNA expression in rainbow trout: in vivo and in vitro comparisons. J. Fish Biol. Vol. 56, pp: 398-408.

۲۳. **Dapp, D.R.; Walker, T.I.; Huveneers, C. and Reina, R.D., 2016.** Respiratory mode and gear type are important determinants of elasmobranch immediate and post-release mortality. Fish and Fisheries. Vol. 17, pp: 507-524.

۲۴. **De Lestang, S.; Caputi, N.; Feng, M.; Denham, A.; Penn, J.; Slawinski, D.; Pearce, A. and How, J., 2014.** What caused seven consecutive years of low puerulus settlement in the western rock lobster fishery of Western Australia? ICES J. Mar. Sci. doi:10.1093/icesjms/fsu. 177 p.

۲۵. **Fast, M.D.; Hosoya, S.; Johnson, S.C. and Afonso, L.O.B., 2008.** Cortisol response and immune-related effects of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short and long-term stress. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 24, pp: 194-204.

۲۶. **Francis-Floyd, R., 2009.** Stress - Its Role in Fish Disease. University of Florida. IFAS Extension. pp: 1-4.

۲۷. **Frick, L.H.; Reina, R.D. and Walker, T.I., 2009.** The physiological response of Port Jackson sharks and Australian swellsharks to sedation, gillnet capture, and repeated sampling in captivity. N. Am. J. Fish. Manag. Vol. 29, pp: 127-139.

۲۸. **Gehris, T.L.; Kathol, R.G.; Black, D.W. and Noyes, R., 1990**. Urinary free cortisol levels in obsessive compulsive disorder. Psychiatry Research. Vol. 32, No. 2, pp: 151-158.

۲۹. **Goos, H.J.T. and Consten, D., 2002.** Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. Molecular and Cellular Endocrinology. Vol. 197, pp: 105-116.

۳۰. **Haukenes, A.H.; Barton, B.A. and Bollig, H., 2008**. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. Journal of Fish Biology. Vol. 72, pp: 780-784.

۳۱. **Heberer, C.; Aalbers, S.A.; Bernal, D.; Kohin, S.; DiFiore, B. and Sepulveda, C., 2010.** Insights into catch-and-release survivorship and stress-induced biochemistry of common thresher sharks (*Alopias vulpinus*) captured in the Southern California recreational fishery. Fish. Res. Vol. 106, pp: 495-500.

۳۲. **Iwama, G.K.; Vijayan, M.M.; Forsyth, R.B. and Ackerman, P.A., 1999.** Heat shock proteins and physiological stress in fish. Am. Zool. Vol. 39, No. 6, pp: 901-909.

۳۳. **Koeypudsa, W. and Jongjareanjai, M., 2011.** Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell x *C. macrocephalus*, Gunther). Songklanakarin Journal of Science and Technology. Vol. 33, No. 4, pp: 369-374.

۳۴. **Laiz-Carrión, R.; Sangiao-Alvarellos, S.; Guzmán, J.M.; Martin del Rio, M.P.; Míguez, J.M.; Soengas, J.L. and**

۳۵. **Lappivaara, J., 2001.** Effects of acute handling stress on Whitefish Coregonus lavaretus after prolonged exposure ntreated bleached Kraft mill effluent. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 41, pp: 55-64.

۳۶. **Makvanid, H.; Khodadadi, M.; Keyvanshokoh, S. and Mohammadi-makvandi, Z., 2012.** Effect of salinity stress on hormone of cortisol and glucose of *Ctenopharyngodon idella.* J. Aquat. Fish. Vol. 2, pp: 77-84.

۳۷. **Marshall, H.; Field, L.; Afiadata, A.; Sepulveda, C.; Skomal, G. and Bernal, D., 2012.** Hematological indicators of stress in longline-captured sharks. Comparative Biochemistry and Physiology a Molecular and Integrative Physiology. Vol. 162, pp: 121-129.

۳۸. **Milla, S.; Mathieu, C.; Wang, N.; Lambert, S.; Nadzialek, S.; Massart, S.; Henrotte, E.; Douxfils, J.; Mélard, C.; Mandiki, S.N.M. and Kestemont, P., 2010**. Spleen immune status is affected after acute handling stress but not regulated by cortisol in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 28, pp: 931-941.

۳۹. **Milligan, C.L., 1996.** Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. Comp Biochem Physiol, A. Vol. 113, pp: 51-60.

۴۰. **Mladineo, I; Block, B., 2009.** Expression of Hsp70, Na+/K+ ATP-ase, HIF-1α, IL-1β and TNF-α in captive Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) after chronic warm and cold exposure. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol. 374, pp: 51-57.

۴۱. **Morales, A.E.; Cardenete, G.; Abellan, E. and Garcia Rejon, L., 2005.** Stressrelated physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). Aquaculture Reaserch. Vol. 36, pp: 33-40.

۴۲. **Moyes, C.D.; Fragoso, N.; Musyl, M. and Brill, R.W., 2006**. Predicting post-release survival in large pelagic fish. Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 135, pp: 1389-1397.

۴۳. **Oliver, S.; Braccini, M.; Newman, S.J. and Harvey, E.S., 2015.** Global patterns in the bycatch of sharks and rays. Marine Policy. Vol. 54, pp: 86-97.

۴۴. **Olla, B.L.; Davis, M.W. and Schreck, C.B., 1997.** Effects of simulated trawling on sablefish and walleye pollock: the role of light intensity, net velocity and towing duration. Journal of Fish Biology. Vol. 45, pp:1181-1194.

۴۵. **Olla, B.L.; Davis, M.W. and Schreck, C.B., 1998.** Temperature magnified postcapture mortality in adult sablefish after simulated trawling. Journal of Fish Biology. Vol. 53, pp: 743-751.

۴۶. **Olsen, R.E.; Sundell, K.; Hansen, T.; Hemre, G.I.; Myklebust, R.; Mayhew, T.M. and Ringø, E., 2003.** Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. An electron microscopical study. Fish Physiol Biochem. Vol. 26, pp: 211-221.

۴۷. **Pottinger T.G. Rand Weaver M. And Sumpter J.P., 2003.** Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: Plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilization. Comparative Biochemistry and Physiology B. Vol. 136, No. 3, pp: 403-417.

۴۸. **Ramsay, J.M.; Feist, G.W.; Varga, Z.M.; Westerfield, M.; Kent, M.L. and Schreck, C.B., 2006**. Whole- body Cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. Aquaculture. Vol. 258, pp: 565-574.

۴۹. **Santos, M.A. and M. Pacheco., 1996**. *Anguilla anguilla* L. Stress biomarkers recovery in clean water and secondarytreated pulp mill effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 35, pp: 96-100.

۵۰. **Schlenker, L.; Latour, R.; Brill, R.W. and Graves, J.E., 2016.** Physiological stress and post-release mortality of white marlin (*Kajikia albida*) caught in the United States recreational fishery. Conservation Phisiologhy. Vol. 4, No. 1, pp: 1-15.

۵۱. **Skomal, G.B., 2006.** The physiological effects of capture stress on post-release survivorship of sharks, tunas and marlin. PhD Thesis Boston University, Boston, MA.

۵۲. **Skomal, G.B., 2007.** Evaluating the physiological and physical consequences of capture on post-release survivorship in large pelagic fishes. Fish Manage Ecol. Vol. 14, pp: 81-89.

۵۳. **Skomal, G. and Bernal, D., 2010.** Physiological responses to stress in sharks. In: Carrier, J.; Musick, J. and Heithaus, M., (Eds.), Sharks and Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation. CRC Press, Boca Raton. pp: 459-490.

۵۴. **Skomal, G.B. and Mandelman, J.W., 2012.** The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: A review with a focus on the secondary response. Comparative Biochemistry and Physiology and Molecular and Integrative Physiology. Vol. 162, pp: 146-155.

۵۵. **Skov, C.; Chapman, B.B.; Baktoft, H.; Brodersen, J.; Brönmark, C.; Hansson, L.A.; Hulthén, K. and Nilsson, P.A., 2013.** Migration confers survival benefits against avian predators for partially migratory freshwater fish**.** Biology Letters. Vol. 9, pp: 1098-1178.

۵۶. **Stevens, J.D.; Bonfil, R.; Dulvy, N.K. and Walker, P.A., 2000**. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. Ices Journal of Marine Science. Vol. 57, pp: 476-494.

۵۷. **Suski, C.D.; Killen, S.S.; Kieffer, J.D. and Tufts, B.L., 2006.** The influence of environmental temperature and oxygen concentration on the recovery of largemouth bass from exercise: implications for live-release angling tournaments. J Fish Biol. Vol. 68, pp: 120-136.

۵۸. **Suski, C.D.; Cooke, S.J.; Danylchuck, A.J.; O'Connor, C.M.; Gravel, M.A.; Redpath, T.; Hanson, K.C.; Gingerich, A.J.; Murchie, K.J. and Danylchuck, Mancera, J.M., 2002.** Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. Fish Physiol. Biochem. Vol. 27, pp: 179-188.

S.E., 2007. Physiological disturbances and recovery dynamics of bonefish (*Albula vulpes*), a tropical marine fish, in response to variable exercise and exposure to air. Comp Biochem Physiol A. Vol. 148, pp: 664-673.

۵۹. **Suuronen, P., 2005.** Mortality of fish escaping trawl gears.FAO Fisheries (Food and Agriculture Organization of theUnited Nations) Technical Paper. 478 p.

۶۰. **Tanck, M.W.T.; Booms, G.H.R.; Eding, E.H.; Bonga, S.E. and Komen, J., 2000.** Cold shocks: a stressor for common carp. Journal of Fish Biology. Vol. 57, pp: 881-894.

۶۱. **Tedeschi, J.N.; Kennington, W.J.; Berry, O.; Whiting, S.; Meekan, M. and Mitchell, N.J., 2015.** Increa sed expression of Hsp70 and Hsp90 mRNA as biomarkers of thermal stress loggerhead turtle embryos (*Caretta caretta*). Journal of Termal Biology. Vol. 47, pp: 42-50.

۶۲. **Wang, Y.Y.; Zhang, C.Z.; Ma, Y.Q.; He, Z.X.; Zhe, H. and Zhou, S.F., 2015.** Therapeutic effects of C-28 ethyl ester of 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid (CDDO Me; bardoxolone methyl) on radiation-induced lung inflammation and fibrosis in mice. Drug Des Devel Ther. Vol. 9, pp: 3163-3178.

۶۳. **Waring, C.P.; Stagg, R.M. and Poxton, M.G., 1996.** Physiological responses to handling in the turbot. Journal of Fish Biology. Vol. 48, pp: 161-173.

۶۴. **Wendelaar Bonga, S.E., 1997.** The stress response in fish. Physiol Rev. Vol. 77, pp: 591-625**.**

۶۵. **Xing, H.; Li, Sh.; Wang, X.; Gao, X.; Xu, Sh. And Wang, X., 2013**. Effects of atrazine and chlorpyrifos on the mRNA levels of HSP70 and HSC70 in the liver, brain, kidney and gill of Common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere. Vol. 90, No. 3, pp: 910-916.

۶۶. **Wilson, S.M.; Raby, G.D.; Burnett, N.J.; Hinch, S.G. and Cooke, S.J., 2014.** Looking beyond the mortality of bycatch: sublethal effects of incidental capture on marine animals. Biological Conservation. Vol. 171, pp: 61-72.

۶۷. **Wood, C.M.; Turner, J.D. and Graham, M.S., 1983.** Why do fish die after severe exercise? J Exp Biol. Vol. 22, pp: 189-201.

۶۸. **Vijayan, M.M.; Reddy, P.K.; Leatherland, J.F. and Moon, T.W., 1994b**. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 96, pp: 75-84.