پاسخ‌های اولیه و ثانویه تاس‌ماهی سیبری *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) به استرس دستکاری در دو اندازه مختلف

- **سکینه ابراهیمی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران
- **مجیدرضا خوش‌خلق***: گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
- **بهرام فلاحتکار**: گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: آذر ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: اسفند ١٣٩٦

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی پاسخ‌های اولیه و ثانویه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) به استرس دستکاری در دو اندازه مختلف انجام گرفت. در این مطالعه ماهیان در دو گروه شامل اندازه کوچک با میانگین وزنی ٦٧٢/٢٧±٢/٥٤ گرم و اندازه بزرگ با میانگین وزنی ١٠٧٨/٥±٥/٣٠ گرم در شش تکرار با بیوماس یکسان توزیع شدند. برای بررسی تغییرات فیزیولوژیک خون، شش نمونه خون قبل از استرس و سه نمونه خون در ١، ٣، ٦، ١٢ و٢٤ ساعت پس از استرس حاد (ماهیان دو دقیقه در معرض هوا قرار گرفتند) از هر گروه به‌طور تصادفی گرفته شد. میزان کورتیزول در هردو اندازه افزایش یافت اما بین ساعت‌ها اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p>0/05$). با توجه به نتایج به‌دست آمده، گلوکز خون در اندازه بزرگ پس از استرس افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار دیده شد ($p<0/05$)، درحالی‌که اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز پس از استرس در تیمار اندازه کوچک دیده نشد ($p>0/05$). میزان لاکتات در هر دو اندازه پس از استرس افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p<0/05$). نتایج نشان داد که ماهیان اندازه بزرگ پاسخ‌های استرسی بیش‌تری نسبت به اندازه کوچک نشان می‌دهند بنابراین نسبت به استرس حساس‌تر هستند.

کلمات کلیدی: استرس حاد، اندازه ماهی، کورتیزول، تاس‌ماهی سیبری

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.khoshkholgh876@gmail.com

مقدمه

اگرچه تولید ماهیان پرورشی به‌سرعت افزایش یافته است. ولی مشکلات زیادی به‌همراه داشته است. یکی از مسائل مهم در آبزی پروری استرس است. ماهیان دائماً در معرض عوامل استرس‌زا هم در محیط طبیعی و هم در شرایط پرورشی قرار دارند. از آن‌جایی‌که پاسخ ماهی به استرس سازگارپذیر تلقی شده است اما استرس درسیستم آبزی‌پروری به‌علت اثرات زیان‌بخش محتمل آن بر ویژگی‌های عملکرد ماهی مانند متابولیسم، رشد، مقاومت در برابر بیماری و ظرفیت تکثیر یک نگرانی محسوب می‌شود(Bayunova و همکاران، ۲۰۰۲). استرس شامل عوامل فیزیکی، شیمیایی، زیستی و یا مدیریتی است که باعث بروز واکنش‌هایی در بدن شده و در موارد شدید منجر به مرگ آبزیان می شود. استرس تغییر در هموستازی بدن تحت تأثیر محرک خارجی تعریف‌شده است (Adams، ۱۹۹۰). بسیاری ازفعالیت‌هادرآبزی‌پروری مانند‌دستکاری، حمل و نقل، تراکم، واکسیناسیون، تورکشی، جابجایی و بیرون آوردن ماهیان از آب منجربه استرس حاد یا مزمن حین پرورش در موجود زنده می‌شود که در نهایت باعث از بین رفتن رفاه ماهی می‌شود (Bartoon، ۲۰۰۰). پیامدهای استرس حاد می‌تواند متفاوت باشد اگر بیش از حد زیاد باشد منجر به مرگ ماهی می‌شود و هم‌چنین استرس‌حادماهی کمک‌می‌کندبه افزایش پاسخ‌ایمنی ماهی (افزایش غلظت خاص پروتئین پلاسمامانند لایزوزیم و کمپلمان‌ها) و در نتیجه باعث حفاظت بیش‌تر در برابر هرگونه آسیب احتمالی می‌شود (Demers و Bayne، ۱۹۹۷؛ Tort، ۲۰۱۱). بعد از دریافت محرک استرس توسط دستگاه عصبی مرکزی،هورمون رهاکننده کورتیکوتروپین (CRH) مترشحه از هیپوتلاموس، بخش غدامی هیپوفیز را برای آزاد کردن هورمون آدرنوکورتیکوتروپین(ACTH) تحریک می‌کند. هورمون ACTH از راه گردش خون به سلول‌های بین کلیوی می‌رسد و آن‌ها را تحریک به ترشح کورتیزول می‌کند. بافت کرومافین بخش قدامی کلیه به‌منظور ترشح آدرنالین و سایر هورمون‌های کاتکل آمین توسط دستگاه عصبی سمپاتیک تحریک می‌شود (Barton، ۲۰۰۲). وظیفه کورتیکوستروئیدها و کاتکل‌آمین‌ها در همه مهره‌داران شبیه یکدیگر است و معمولاً شامل افزایش جذب اکسیژن، به‌حرکت درآوردن ذخایر انرژی، تغییر جهت انرژی و دور ساختن آن از رشد و تولیدمثل است (Wendelaar Bonga، ۱۹۹۷). به‌طورکلی افزایش کوتاه‌مدت در میزان کورتیزول‌موجب سازگاری بدن‌جاندار باآن می‌شود،درحالی‌که افزایش بلندمدت کورتیزول باعث اثرات سوء مانند کاهش رشد، نقص در تولیدمثل و افزایش بیماری‌ها عفونی خواهد شد (Schreck، ۲۰۰۱). سطوح بالای کتکول آمین‌ها در پلاسما سبب تحریک تبدیل گلیکوژن ذخیره‌شده به گلوکز از طریق گلیکوژنز می‌شود که ازاین‌رو افزایش در سطوح گلوکز به‌عنوان پاسخ استرسی ثانویه بیان می‌شود (Mazeaud و همکاران، ۱۹۷۷). تغییر در مقدار و سطوح شاخص‌های بیوشیمیایی وهماتولوژیک می‌تواند پاسخ‌های‌ماهی را به تغییرات رخ داده در محیط نشان دهد. تعیین میزان کورتیزول و شاخص‌های متابولیک (مانند گلوکز و لاکتات) ابزار مفیدی برای درنظر گرفتن سلامت و شرایط استرس در ماهیان می‌باشد (Barton، ۲۰۰۲) . بررسی این تغییرات درمدیریت‌شرایط پرورشی و حفظ سلامت‌ماهی‌مؤثراست (Falahatkar و Barton، ۲۰۰۷). کنترل استرس ماهی و توسعه روش‌های مدیریتی خاص استرس برای سلامتی و بقای جانور اهمیت بالایی دارد که در نتیجه رفاه موجود زنده را افزایش می‌دهد و منجر به موفقیت اقتصادی در آبزی‌پروری می‌شود (Conte، ۲۰۰۴). ماهی‌ها در پاسخ به عوامل استرس‌زا و به‌خصوص در مورد پاسخ‌های درون‌ریز تنوع گسترده‌ای نشان می‌دهند. ژنتیک و عوامل تکاملی و محیطی بر اندازه و طول پاسخ به استرس تاثیر می‌گذارد (Barton و Iwama، ۱۹۹۱؛ Barton، ۲۰۰۰). در درازمدت دانستن تفاوت‌های ژنتیکی واضح موجود در ماهیان در پاسخ به استرس باعث انتخاب گونه‌ای مقاوم به استرس در آبزی‌پروری شده است. یافته‌ها در مطالعات نشان می‌دهد که ماهیان غضروفی استخوانی نسبت به ماهیان استخوانی تمایل کم‌تری به بروز پاسخ‌های استرسی دارند ولی این موضوع همیشه عمومیت ندارد (Belanger، ۲۰۰۱). مدیریت شرایط پرورشی در گونه‌های با ارزشی هم‌چون ماهیان خاویاری حائز اهمیت است. تاس‌ماهی سیبری در اواخر اسفندماه سال ۱۳۸۳در راستای فراهم نمودن بانک ژنی تمام گونه‌های تاس‌ماهیان از کشور مجارستان وارد ایران شد (مرشدی و همکاران، ۱۳۹۰). این ماهی باوجود این‌که یک‌گونه وارداتی به کشور است ولی به‌خوبی با شرایط پرورشی سازگار شده، در برابر تغییرات محیطی مقاوم بوده و قابلیت رشد بالا در شرایط مطلوب را دارد (Flahatkar و Eslamloo، ۲۰۱۴) با توجه به مطالعات انجام‌شده پاسخ استرسی در ماهیان خاویاری تقریباً شبیه ماهیان استخوانی است و سطح کورتیزول و گلوکز براثر عوامل استرس‌زا مانند تراکم و دستکاری افزایش می‌یابد (Barton، ۲۰۰۲؛ Falahatkar و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین قبل از هر اقدامی در زمینه پرورش تاس‌ماهیان و سازگار کردن آن‌ها به سیستم پرورش و موفقیت در تولید بهتر و رفاه بیش‌تر جاندار باید مطالعاتی روی رشد، تغذیه، فیزیولوژیک و ایمونولوژیک آن‌ها انجام گیرد. اندازه ماهی یکی از عواملی است که می‌تواند اثرات متفاوتی‌روی‌پاسخ‌های استرسی‌ایجادکند (Fatira و همکاران، ۲۰۱۴). در مطالعه Koakoski و همکاران (۲۰۱۲) روی *ماهی Rhamdia quelen* ماهیان کوچک‌تر بالاترین میزان کورتیزول را در ۳۰-۵ دقیقه بعداز استرس نشان دادند، درصورتی‌که ماهیان بزرگ‌تر بالاترین مقدار کورتیزول را یک ساعت بعد از استرس نشان دادند. هم‌چنین

در ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) میزان کورتیزول در اندازه‌های متفاوت، بیش‌ترین مقدار را در بعد از استرس در اندازه کوچک نشان داد (Fatira و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین علاوه بر تفاوت گونه‌ها، اندازه ماهی نیز در میزان پاسخ‌های فیزیولوژیک به استرس اثرگذار است مطالعات تغذیه‌ای و زیستی بر روی اندازه به اندازه کافی انجام‌شده است اما به بررسی تفاوت‌های پاسخ فیزیولوژیک در اندازه‌های مختلف در جانداران بسیار کم پرداخته شده است. طبق موارد گفته شده استرس منجر به یک سری واکنش‌ها در متابولیسم ماهی می‌شود و اگر پاسخ‌های استرس در ماهی شدید باشد، مشکلات عمده در رشد و سلامت ماهی ایجاد می‌کند و رفاه ماهی را به‌خطر می‌اندازد، در نهایت از نظر اقتصادی به تولیدکنندگان ضربه بزرگی وارد می‌کند. هم‌چنین اندازه‌های مختلف ماهیان می‌تواند در برخورد با عوامل استرس‌زا پاسخ‌های استرسی متفاوتی ایجاد کند که خیلی محدود به آن پرداخته شده است. با توجه به این‌که بررسی پاسخ استرسی در اندازه‌های مختلف در ماهیان خاویاری مورد بررسی قرار نگرفته است، این مطالعه پاسخ‌های استرس کوتاه‌مدت در دو اندازه متفاوت تاس‌ماهی سیبری را با هدف شناخت بهتر فیزیولوژیک این گونه با ارزش حین استرس‌های محیط پرورش و بررسی تفاوت شدت پاسخ دو اندازه مورد نظر در جهت دستیابی به راهبردهای مدیریتی و سلامتی مناسب انجام گرفت.

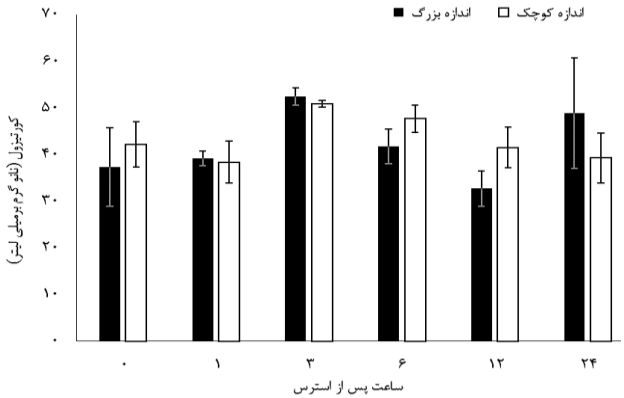
مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان در بهار سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. ماهیان شامل ۳۰ عدد ماهی اندازه کوچک در شش مخزن و ۱۸ عدد ماهی اندازه بزرگ در شش مخزن توزیع شدند، هم‌چنین دو اندازه وزنی متفاوت شامل اندازه کوچک با میانگین وزن ۲/۵۴±۶۷۲/۲۷ گرم و طولی ۰/۸۵±۵۸/۹۰ سانتی‌متر با تعداد ۵ ماهی که با تراکمی حدود ۶/۷۲ گرم در لیتر و اندازه بزرگ با میانگین وزنی ۵/۳۰±۱۰۷۸/۵ گرم و طولی ۱/۲۱±۶۵/۲۹ سانتی‌متر با تعداد ۳ ماهی با تراکم حدود ۶/۴۷ گرم در لیتر در مخازن فایبرگلاس به حجم ۵۰۰ لیتر در۶ تکرار به‌طور تصادفی توزیع شدند. در طول دوره، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه‌گیری شد. به‌طور میانگین در کل دوره آزمایش، درجه حرارت آب ۰/۵ ± ۱۷/۵درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۸±۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر، pH ۱/۲±۷/۵ آب و دبی آب ۰/۵۶±۸/۸ لیتر در دقیقه بود. در طی دوره آزمایش دوره نوری با لامپ‌های ۲۵ واتی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برای مخزن‌ها تنظیم شد. ماهیان به‌مدت یک هفته مرحله تطابق را بدون هیچ استرسی گذراندند و روزانه با سه وعده غذادهی (۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰) با پلت‌های فرمول شده (پروتئین ۴۶٪، چربی۱۴٪، فیبر۳٪) شرکت اسکرتینگ (ورونا، ایتالیا) به اندازه ۴ میلی‌متر تغذیه شدند و قبل از نمونه‌گیری و استرس حاد ۲۴ ساعت گرسنه بودند. برای استرس حاد، ماهیان هر مخزن به‌مدت کم‌تر از ۳۰ ثانیه با توری جمع و به‌مدت ۲ دقیقه در معرض هوا قرار گرفتند (Flahatkar و Eslamloo، ۲۰۱۴). جهت بررسی تغییرات فیزیولوژیک نمونه خون از شش عدد ماهی قبل از استرس و سه عدد ماهی در ۱، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از استرس حاد گرفته شد. خونگیری از ماهیان بدون بی‌هوشی انجام شد. خونگیری با سرنگ هپارینه ۵ میلی‌لیتر از ناحیه سیاهرگ دمی باله مخرجی انجام شد. بعد از هر بار خونگیری، ماهیان از مرحله آزمایشی خارج شدند. نمونه خون به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰g سانتریفیوژ و پلاسمای آن جدا و به ویال اپندورف منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و تا زمان آنالیز نگه‌داری شدند. اندازه‌گیری هورمون کورتیزول به‌روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent) و با استفاده از دستگاه الایزاریدر (Microplate Spectrophotometer, Epoch 2, Vermont, USA) با استفاده از کیت مونوبایند(Lake Forest, CA, USA) قرائت شد (Tintos و همکاران، ۲۰۰۶). تغییرات درون آزمون و تغییرات بین آزمون کورتیزول به‌ترتیب ۶/۹ و ۸ درصد تعیین شد. تعیین گلوکز پلاسما از روش آنزیمی-کالری‌متری(CHOD-PAP) در طول‌موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, New Jersey, USA) و با استفاده کیت پارس آزمون (Karaj, Iran) انجام شد(Fynn-Aikins و همکاران، ۱۹۹۲).لاکتات نیز به‌روش آنزیمی UV در حضور لاکتات دهیدروژناز با کیت پارس آزمون (Karaj, Iran) با طول‌موج ۳۴۰ دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, New Jersey, USA) خوانده شد(Barton و همکاران، ۲۰۰۵).داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰۱۶ (Version21, IBM, Armonk, NY, USA) مورد تجزیه و تحلیل گرفت. برای کنترل نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد. برای بررسی اثر متقابل اندازه و پاسخ‌های استرس در ساعات مختلف از آنالیز واریانس دوطرفه Two-way ANOVA استفاده شد. برای بررسی اختلاف میانگین بین اندازه‌های متفاوت از آزمون T-test مستقل و تجزیه و تحلیل اختلاف میانگین پاسخ‌های استرسی ساعت‌های مختلف از One-Way-ANOVA در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ با استفاده آزمون مقایسه چنددامنه‌ای Duncan استفاده شد.

نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد که بالاترین میزان کورتیزول در هر دو اندازه در ۳ ساعت پس از استرس وجود دارد. در میزان کورتیزول

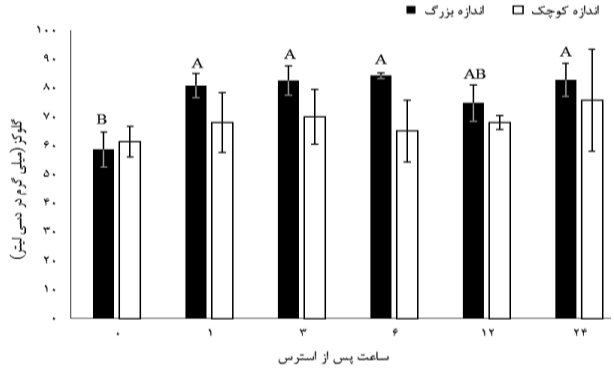
بین ساعت‌های نمونه‌گیری در هر دو اندازه ماهی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در هیچ‌یک از ساعت‌های نمونه‌گیری بین دو اندازه مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱). بالاترین میزان کورتیزول در تیمار اندازه کوچک به‌میزان ۵۰/۹±۰/۶۷ نانو گرم بر میلی‌لیتر در ۳ ساعت بعد از استرس و پایین‌ترین مقدار به‌میزان ۳۸/۴۳±۴/۴۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر در ۱ ساعت پس از استرس مشاهده شد. هم‌چنین بالاترین میزان کورتیزول درتیمار اندازه بزرگ به‌میزان ۵۲/۴۵±۱/۸۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر در ۳ ساعت پس از استرس و پایین‌ترین مقدار میزان ۳۲/۷۶±۳/۸۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر در ۱۲ ساعت پس از استرس دستکاری مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱: نمودار تغییرات میزان کورتیزول پلاسما در دو اندازه کوچک و بزرگ تاس‌ماهی سیبری در ساعت های مختلف پس از استرس دستکاری
(میانگین±انحراف معیار، n=۳)

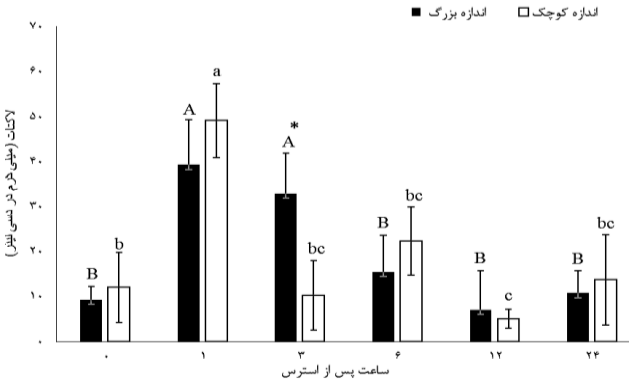
گلوکز در تیمار اندازه بزرگ در یک ساعت پس از استرس افزایش یافت و بالاترین مقدار آن به‌میزان ۸۴/۴۳±۰/۹۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در۶ ساعت پس از استرس مشاهده شد. ولی اختلاف معنی‌داری با ۱، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از استرس نشان نداد و با نمونه قبل از استرس که کم‌ترین مقدار را به‌میزان ۵۸/۷±۶/۱۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر داشت اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵) (شکل ۲). در تیمار اندازه کوچک بین ساعتها اختلاف معنی‌داری دیده نشد و بالاترین مقدار گلوکز به‌میزان ۷۵/۸۲±۱۷/۷۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در ساعت ۲۴ و کم‌ترین مقدار به‌میزان ۶۱/۴۵±۵/۲۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در نمونه قبل از استرس مشاهده شد. بین دو اندازه مختلف در هیچ‌یک از ساعت‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).

لاکتات در تیمار اندازه بزرگ در یک ساعت پس از استرس به بالاترین مقدار به‌میزان ۳۹/۳۱±۱۰/۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسید و با ۳ ساعت پس از استرس اختلاف معنی‌داری نداشت و با سایر ساعت‌ها تفاوت معنی‌دار داشت(p<۰/۰۵).کم‌ترین مقدار لاکتات در تیمار اندازه بزرگ به‌میزان ۷/۱۰±۳ میلی‌گرم بر دسی لیتر در ۱۲ ساعت پس از استرس مشاهده شد که با ساعت قبل استرس، ۶ و ۲۴ پس از استرس اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۳).



شکل ۲: نمودار تغییرات میزان گلوکز پلاسما در دو اندازه کوچک و بزرگ تاس‌ماهی سیبری در ساعت‌های مختلف پس از استرس دستکاری
(میانگین± انحراف معیار، n=۳). حروف متفاوت بزرگ بیانگر اختلاف معنی‌دار بین ساعت پس از استرس دستکاری در ماهیان اندازه بزرگ است (p<۰/۰۵).

لاکتات در تیمار اندازه کوچک در یک ساعت پس از استرس به بیش‌ترین مقدار به‌میزان ۴۹ /۱۶±۸/۲۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسید و با تمامی ساعت‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵). کم‌ترین مقدار لاکتات تیمار اندازه کوچک به‌میزان ۵/۰۹±۲/۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در ۱۲ ساعت پس از استرس بود که با ساعت‌های قبل از استرس و ۱ ساعت پس از استرس اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵) و با ساعت‌های دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در نمونه ۳ ساعت پس از استرس اختلاف معنی‌دار بین دو اندازه مختلف مشاهده شد (p<۰/۰۵) (شکل ۳).



شکل ۳: نمودار تغییرات میزان لاکتات پلاسما در دو اندازه کوچک و بزرگ تاس‌ماهی سیبری در ساعت‌های مختلف پس از استرس دستکاری
(میانگین±انحراف معیار، n=۳). حروف متفاوت بزرگ بیانگر اختلاف معنی‌دار بین ساعت پس از استرس دستکاری در ماهیان اندازه بزرگ است (p<۰/۰۵). حروف متفاوت کوچک بیانگر اختلاف معنی‌دار بین ساعت پس از استرس دستکاری در ماهیان اندازه کوچک است (p<۰/۰۵). علامت * بیانگر اختلاف معنی‌دار بین دو اندازه مختلف ۳ساعت پس از استرس دستکاری تاس‌ماهی سیبری می‌باشد (p<۰/۰۵).

بحث

چالش‌های استرس حاد باعث تحریک سیستم اندوکرین و در نتیجه باعث افزایش سطوح کتکول آمین‌ها وکورتیکوستروئیدها می‌شوند. هم‌چنین کتکول‌آمین‌ها با تاثیر بر کبد سبب القای گلیکوژنز می‌شوند که در نتیجه میزان گلوکز خون افزایش می‌یابد (Rottland و Tort، ۱۹۹۷). در مطالعه حاضر پاسخ‌های اولیه و ثانویه شامل کورتیزول، گلوکز و لاکتات در دو اندازه مختلف تاس‌ماهی سیبری قبل و بعد از استرس دستکاری (دو دقیقه در معرض هوا) اندازه‌گیری شد. نتایج مطالعه حاضر هم‌سو با مطالعات انجام شده بر دیگر ماهیان خاویاری بود که پس از استرس کورتیزول و گلوکز و لاکتات روند افزایشی داشته و بعد از آرامش ماهی به‌حالت عادی نزدیک می‌شود (Bayunova و همکاران، ۲۰۰۲؛ Falahatkar و همکاران، ۲۰۰۹؛ Eslamloo و Flahatkar، ۲۰۱۴). بیشینه کورتیزول در ماهیان آب شور و شیرین و هم‌چنین در طول شبانه‌روز متفاوت است (Kühn و همکاران، ۱۹۸۶؛ Fatira و همکاران، ۲۰۱۴).

در مطالعه حاضر اندازه‌گیری کورتیزول در این‌گونه نشان داد که در هر دو اندازه بیشینه کورتیزول در ۳ ساعت پس از استرس بوده و در ۱۲ ساعت پس از استرس به‌حالت استراحت برگشته است. موافق با مطالعه Hemre و Krogdahl (۱۹۹۶) روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar* L.) که نشان داد ۳ ساعت پس از استرس در هر دو اندازه (۰/۵ و ۳ کیلوگرم) کورتیزول بالا رفت و ۱۲ساعت بعد به‌حالت عادی برگشت و مانند مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری بین ساعت‌های نمونه‌گیری هریک از اندازه‌ها مشاهده نشد، هم‌چنین مطالعه Koakoski و همکاران (۲۰۱۲) در سه اندازه متفاوت (متوسط وزن بدن ۲/۰۵ گرم، ۱۰/۸ گرم و بالغین ۲۱±۴۴۱/۷ گرم) روی ماهی *Rhamdia quelen* کورتیزول ماهیان کوچک‌تر به وزن ۹۹/۵ گرم طی ۳۰-۵ دقیقه بالا رفت درحالی‌که کورتیزول خون ماهی‌های بزرگ‌تر به وزن ۳۶۶/۳ گرم پس از ۶۰ دقیقه بالا رفت که با مطالعه حاضر مغایرت دارد. در مطالعه دیگر که بر روی دو اندازه مختلف باس دریایی انجام شد سطح کورتیزول در ماهیان کوچک در ۱ و ۲ ساعت پس از استرس و در ماهیان بزرگ ۰/۵ ساعت پس از استرس به حداکثر خود رسید (Fatira و همکاران، ۲۰۱۴) که با نتایج اخیر هم‌خوانی نداشت.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در میزان کورتیزول، عدم تغییرات در کورتیزول پلاسما می‌تواند تا حد زیادی بیانگر سازگاری ماهیان با شرایط پرورش مستقل از اندازه باشد. که با مطالعه حسنعلی‌پور و همکاران (۱۳۹۲) روی ماهی سیبری انجام شد و نشان داد که استرس مزمن در تراکم کورتیزول تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد، هم‌سو است. اندازاه تغیرات کورتیکوئیدهای ماهیان خاویاری در مواقع استرس کم‌تر از ماهیان استخوانی است (Barton، ۲۰۰۲؛ Webb و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعه Haukene و همکاران (۲۰۰۸) روی ماهی خاویاری پاروپوزه (*Scaphirhynchus albus*) نشان داد که سطح کورتیزول در این ماهی تغییر نکرد و ثابت ماند. مطالعه Beyea و همکاران (۲۰۰۵) روی تاس‌ماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) نشان داد که کورتیزول یک ساعت پس از استرس کاهش یافت.

کورتیزول اندازه‌گیری شده در هیچ‌یک از ساعت‌های نمونه‌گیری بین دو اندازه اختلاف معنی‌داری نشان نداد بنابراین تفاوت اندازه اثر معنی‌داری بر مقدار کورتیزول در این مطالعه نداشته است. این یافته هم‌سو با مطالعه Barcellos و همکاران (۲۰۱۲) است که نشان داد تفاوت وزن در ماهیان هم‌سن هیچ‌گونه تأثیری در تغییرات کورتیزول پس از استرس ندارد درصورتی‌که در ماهیان با دو سن متفاوت (۳ ماه و ۱۲ ماه با یک وزن) تغییرات معنی‌داری در کورتیزول مشاهده شد. بلوغ جنسی یا سن می‌تواند تغییرات کورتیزول را تحت تأثیر قرار دهد (Di Marco و همکاران، ۲۰۱۱). در همین راستا در مطالعه Pottinger و Carrick (۱۹۹۹) میزان کورتیزول دو اندازه متفاوت از مولدین قزل آلای رنگین‌کمان تغییری مشاهده نشد. به‌نظر می‌رسد تفاوت در عوامل استرس‌زا از نظر شدت و یا مدت، پاسخ‌های استرسی کورتیزول متفاوتی با توجه به سن و اندازه ماهی را نشان می‌دهند (Fatira و همکاران، ۲۰۱۴). گونه ماهی نقش مهمی در تأثیر عامل استرس‌زا دارد (Pottinger و Pickering، ۱۹۹۷). زمینه‌های ژنتیکی و عوامل زیستی ماهیان در نوع و شدت پاسخ به یک عامل استرس‌زای خاص تأثیرگذار است (Barton، ۲۰۰۲).

استرس یک فرآیند انرژی‌خواه است، به‌طوری‌که در مواجهه با استرس نرخ متابولیک و جذب اکسیژن افزایش پیدا می‌کند در این بین گلوکز یک منبع مهم در تأمین انرژی مورد نیاز فرآیندهای متابولیک است. در فرآیند گلیکوژنز، تولید گلوکز در پاسخ به استرس به‌عنوان یک منبع انرژی، می‌تواند کمک موثری برای سازگاری ماهی با عوامل استرس‌زا باشد (Barton، ۲۰۰۲). نتایج اندازه‌گیری مقدار گلوکز مطالعه حاضر نشان داد که بین ساعت‌های مختلف پس از استرس در تیمار اندازه بزرگ اختلاف معنی‌داری وجود دارد و میزان آن در ۱ ساعت پس از استرس افزایش یافت و ۶ ساعت پس از استرس به بالاترین مقدار خود رسید و با مطالعات Hamlin و همکاران (۲۰۰۷) روی تاس‌ماهی‌سیبری و Webb و همکاران (۲۰۰۷) روی‌ماهی خاویاری پارو پوزه که اوج گلوکز در ۶ ساعت پس از استرس مشاهده شد، مطابقت دارد. افزایش میزان گلوکز پلاسما را به فرایند گلیکوژنز کبد یا عضلات نیز می‌توان نسبت داد (Milligan، ۱۹۹۶). تحریک گلوکز در ماهی در طول استرس در درجه اول مربوط به کاتکول آمین‌ها

است و سپس در دو محور هیپوفیز- اینترنال از طریق مسیر هورمونی و سلول‌های کرومافینی از طریق مسیر سیستم عصبی انجام می‌گیرد (Pottinger و Carrick، ۱۹۹۷)بنابراین، مقادیر بالای گلوکز را می‌توان به‌دلیل وجود مقادیر بالای گلیکوژن در بافت‌ها و پاسخ به آزادسازی کتکول آمین‌ها و تقاضای زیاد انرژی در ماهیانی که با استرس متوالی مواجه بودند نسبت داد (اخوان، ۱۳۹۱).

سطوح گلوکز خون در حالت استراحت (بدون استرس) و بعد از استرس تحت تأثیر رژیم غذایی و وضعیت تغذیه‌ای ماهیان قرار می‌گیرد (Barton و همکاران، ۱۹۸۸). با توجه به مطالعات و توضیحات می‌توان گفت ماهیان اندازه بزرگ پاسخ شدیدتری به عامل استرس‌زا نشان دادند و با توجه به وزن بدن و متابولیسم بالاتر برای تامین انرژی پس از استرس نیاز بیش‌تری به گلوکز داشته است. در ماهیان کوچک مطالعه حاضر گلوکز خون ۱ ساعت پس از استرس افزایش یافت و در ۲۴ ساعت پس از استرس به بالاترین مقدار خود رسید ولی اختلاف معنی‌داری بین ساعت‌های نمونه‌گیری در این اندازه دیده نشد که با مطالعه Fatira و همکاران (۲۰۱۴) بر روی باس دریایی هم‌خوانی دارد.

لاکتات جزء شاخص‌های متابولیک مهم برای بررسی استرس ماهیان در مواجهه با عامل استرس‌زا محسوب می‌شود (Barton، ۲۰۰۰). افزایش مصرف اکسیژن در طول استرس با توجه به متابولیسم سریع منجر به افزایش لاکتات خون می‌شود بنابراین لاکتات تولید شده بازتابی از متابولیسم ماهیان است (Barton و همکاران، ۲۰۰۰). درنتایج مطالعه حاضر مقدار لاکتات در هر دو اندازه تاس‌ماهی سیبری بین ساعت‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد و بالاترین مقدار ۱ ساعت پس از استرس بود. این یافته با مطالعه Falahatkar و همکاران (۲۰۰۹) روی فیل‌ماهی هم‌سو است. ۳ ساعت بعد از استرس، میزان لاکتات اندازه بزرگ حدوداً سه‌برابر بیش‌تر از ماهیان کوچک بود که با مطالعه Goolish (۱۹۸۹) که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (وزن ۲ و ۱۲۰۰ گرم) انجام گرفته مطابقت دارد. هم‌چنین با مطالعه Fatira و همکاران (۲۰۱۴) هم‌سو است. بنابراین صرف نظر از اندازه، میزان لاکتات در ساعت اول حداکثر مقدار خود را نشان داد که نشان‌دهنده تحرک و انتقال انرژی بیش‌تر برای ماهیچه‌ها در مواجه با عامل استرس‌زا است. هم‌چنین با توجه به روند لاکتات در دو اندازه می‌توان گفت پاسخ‌های دو اندازه در لاکتات متفاوت است.

باتوجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت پاسخ‌های استرسی اولیه و ثانویه در دو اندازه ماهی متفاوت بوده است. بنابراین اندازه ماهی بر پاسخ های اولیه و ثانویه استرس دستکاری تاس‌ماهی سیبری اثر متفاوتی دارد و هم‌چنین با توجه به نتایج به‌نظر می‌رسد که اندازه بزرگ پاسخ شدیدتر به استرس نشان داد و برای تامین انرژی متابولیسم بدن خود پس از استرس منابع تامین انرژی را افزایش و در اختیار بدن برای مقابله با استرس قرار می‌دهد. هم‌چنین به‌دلیل فیزیولوژیک تاس‌ماهی سیبری با توجه به قدمت حیات آن‌ها و همان‌طورکه گفته شد نسبت به ماهیان استخوانی مقاوم‌تر هستند میزان کورتیزول که اولین پاسخ استرسی است تغییرچندانی نکرد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت اندازه‌های متفاوت تاس‌ماهی سیبری می‌توانند سازگاری‌های متفاوتی از هم نسبت به استرس دستکاری داشته باشند و پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوتی در هر اندازه از خود نشان دهند. شناخت تفاوت‌های فیزیولولژیک اندازه در تاس‌ماهی سیبری در آبزی پروری می‌تواند به انتخاب راهکارهای مناسب با توجه حساسیت هر اندازه منجر شود که درنتیجه به رفاه بیش‌تر ماهی کمک می‌کند و در نهایت از نظر اقتصادی باعث توسعه می‌شود. امید است انجام مطالعات بیش‌تر در راستای تکثیر و پرورش با درنظر گرفتن اندازه و سن و درنظر گرفتن نوع پاسخ فیزیولوژیک استرس بتواند کمک شایانی در مدیریت و سلامت آبزی‌پروری تاس‌ماهیان باشد.

تشکر و قدردانی

بخشی از این مقاله با حمایت پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر انجام گرفت، لذا از همکاری این پژوهشکده تشکر می‌گردد. هم‌چنین از خانم‌ها مهندس جعفری و نظری و آقایان مهندس آرش لبریا، مهندس سینا شجاعی و مهندس عرفان اکبری نرگسی برای همکاری در مراحل عملی و آزمایشگاهی صمیمانه قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

۱. **اخوان، س.؛ اسلاملو، خ. و جمال‌زاده‌فلاح، ف.، ۱۳۹۱.** اثر استرس‌های حاد بر تغییرات کورتیزول، آنتی‌پروتئاز و پارامترهای خونی ماهیان طلائی (*Carassius auratus*). توسعه آبزی‌پروری. شماره ۲، صفحات ۲۳ تا ۳۵.

۲. **حسنعلی‌پور ، ع.؛ بهمنی، م.؛ یاوری، و.؛ محسنی، م.؛ کاظمی، ر. و پاشازانوسی، ح.، ۱۳۹۲.** بررسی تراکم‌های مختلف ذخیره سازی بر روی سطوح کورتیزول تاس‌ماهی سیبری. پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران). شماره ۲۶، صفحات ۱۵۴ تا ۱۶۲.

۳. **مرشدی، و.؛ کوچنین، پ.؛ بهمنی، م.؛ یزدانی، م.؛ پورعلی، ح. و عشوری، ق.، ۱۳۹۰.** تغییرات برخی فاکتورهای خونی در طی دوره‌های گرسنگی کوتاه‌مدت در بچه تاس‌ماهیان سیبری. اقیانوس شناسی. شماره ۵، صفحات ۵۹ تا ۶۶.

۴. **Adams, M., 1990**. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. American Fisheries Symposium Bethesda. Vol. 8, No. 9, pp: 9-28.

۵. **Barcellos, G.; Kreutz, C.; Koakoski, G.; Oliveira, A.; da Rosa, S. and Fagundes, M., 2012.** Fish age, instead of weight and size, as a determining factor for time course differences in cortisol response to stress. Physiology and Behavior.Vol. 107, No. 3, pp: 397-400.

۶. **Barton, B.A., 2000.** Stress. In: Stickney, R.R. (ed.), EncycLopedia of Aquaculture. John Wiley Sons, New York, USA. pp: 892-898.

۷. **Barton, B.A., 2002.** Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteriods. Integrative and Comparative Biology. Vol. 42, No. 3, pp: 517-525.

۸. **Barton, B.A.; 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: Molecular and Integrative Physiology. Vol. 126, No. 1, pp: 125-134.

۹. **Barton, B.A. and Iwama, G.K., 1991.** Physiological changes in fish from aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases. Vol. 1, pp: 3-26.

۱۰. **Barton, B.A.; Rahn, A.B.; Feist, G.; Bollig, H. and Schreck, C.B., 1998.** Physiological stress responses of the freshwater chondrostean paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 120, No. 2, pp: 355-363.

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

۱۲. **Bayunova, L.; Barannikova, I. and Semenkova, T., 2002.** Sturgeon stress reactions in aquaculture. Journal of Applied Ichthyology. Vol.18, No. 4-6, pp: 397-404.

۱۳. **Belanger, J.M.; Son, J.H.; Laugero, K.D.; Moberg, G.P.; Doroshov, S.I.; Lankford, S.E. and Cech Jr, J.J., 2001.** Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 203, pp: 165-176.

۱۴. **Beyea, M.M.; Benfey, T.J. and Kieffer, J.D., 2005.** Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 31, No. 4, 303 p.

۱۵. **Conte, F.S., 2004.** Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science. Vol. 86, No. 3, pp: 205-223.

۱۶. **Demers, N.E. and Bayne, C.J., 1997.** The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Developmental and Comparative Immunology. Vol. 21, No. 4, pp: 363-373.

۱۷. **Di Marco, P.; Priori, A.; Finoia, M.G.; Petochi, T.; Longobardi, A.; Donadelli, V. and Marino, G., 2011.** Assessment of blood chemistry reference values for cultured sturgeon hybrids (*Acipenser naccarii* female × *Acipenser baerii* male). Journal of Applied Ichthyology. Vol. 27, No. 2, pp: 584-590.

۱۸. **Eslamloo, K. and Falahatkar, B., 2014.** Variations of some physiological and immunological parameters in siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) subjected to an acute stressor. Journal of Applied Animal Welfare Science. Vol. 17, No. 1, pp: 29-42.

۱۹. **Falahatkar, B. and Barton, B.A., 2007.** Preliminary observation of physiological response to acute handling and confinement in juvenile beluga *Huso huso* L. Aquaculture Research. Vol. 38, No. 16, pp: 1786-1789.

۲۰. **Falahatkar, B.; Poursaeid, S.; Shakoorian, M. and Barton, B., 2009.** Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*. Journal of Fish Biology. Vol.75, No. 4, pp: 784-796.

۲۱. **Fatira, E.; Papandroulakis, N. and Pavlidis, M., 2014.** Diel changes in plasma cortisol and effects of size and stress duration on the cortisol response in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 40, No. 3, pp: 911-919.

۲۲. **Fynn-Aikins, K.; Hung, S.S.; Liu, W. and Liu, H., 1992.** Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of Dglucose. Aquaculture. Vol. 105, No. 1, pp: 61-72.

۲۳. **Goolish, M., 1989.** The scaling of aerobic and anaerobic muscle power in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Experimental Biology. Vol. 147, No. 1, pp: 493-505.

۲۴. **Hamlin, H.J.; Edwards, T.M.; Moore, B.C.; Main, K.L. and Guillette, L.J., 2007.** Stress and its relation to endocrine function in captive female Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). Environmental Sciences: An International Journal of Environmental Physiology and Toxicology. Vol. 14, No. 3, pp: 129-139.

۲۵. **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.

۲۶. **Hemre, G.I. and Krogdahl, Å., 1996.** Effect of handling and fish size on secondary changes in carbohydrate metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar L.* Aquaculture Nutrition. Vol. 2, pp: 249-252.

۲۷. **Koakoski, G.; Oliveira, A.; da Rosa, S.; Fagundes, M.; Kreutz, C. and Barcellos, G., 2012.** Divergent time course of cortisol response to stress in fish of different ages. Physiology and Behavior. Vol. 106, No. 2, pp: 129-132.

۲۸. **Kühn, E.R.; Corneillie, S. and Ollevier, F., 1986.** Circadian variations in plasma osmolality, electrolytes, glucose, and cortisol in carp (*Cyprinus carpio*). General and comparative endocrinology. Vol. 61, No. 3, pp: 459-468.

۲۹. **Mazeaud, M.; Mazeaud, F. and Donaldson, M., 1977.** Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Transactions of the American Fisheries Society. Vol. 106, No. 3, pp: 201-212.

۳۰. **Milligan, C.L., 1996.** Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. Comp Biochem Physiol. Vol. 113, No. 3, pp: 51-60.

۳۱. **Pottinger, G. and Carrick, R., 1999.** A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female *rainbow trout*. Aquaculture. Vol. 175, No. 3-4, pp: 351-363.

۳۲. **Pottinger T.G. and Pickering A.D., 1997.** Genetic basis to the stress response: Selective breeding for stress-tolerant fish. *In*: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. and Schreck, C.B. (eds), Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge. pp: 171-193.

۳۳. **Ramsay, M.; Feist, W.; Varga, M.; Westerfield, M.; Kent, L. and Schreck, B., 2009.** Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. Aquaculture. Vol. 297, No.1-4, pp: 157-162.

۳۴. **Rottland, J. and Tort, L., 1997.** Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red oorgy previously subjected to crowding stress. Journal of Fish Biology. Vol. 51, No. 1, pp: 21-28.

۳۵. **Schreck, B.; Contreras-Sanchez, W. and Fitzpatrick, S., 2001.** Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture. Vol. 197, No. 1-4, pp: 3-24.

۳۶. **Shahsavani, D.; Mohri, M. and Kanani, H., 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 36, No. 1, pp: 39- 43.

۳۷. **Tintos, A.; Míguez, M.; Mancera, M. and Soengas, L., 2006**. Development of a microtitre plate indirect ELISA for measuring cortisol in teleosts, and evaluation of stress responses in rainbow trout and gilthead sea bream. Journal of Fish Biology. Vol. 68, No .1, pp: 251-263.

۳۸. **Tort, L., 2011.** Stress and immune modulation in fish. Developmental and Comparative Immunology. Vol. 35, No. 12, pp: 1366-1375.

۳۹. **Webb, M.A.H.; Allert, J.A.; Kappenman, K.M.; Marcos, J.; Feist, G.W.; Schreck, C.B. and Shackleton, C.H., 2007.** Identification of plasma glucocorticoids in pallid sturgeon in response to stress. General and Comparative Endocrinology. Vol. 154, No. 1-3, pp: 98-104.

۴۰. **Wendelaar Bonga, S.E., 1997.** The stress response in fish. Physiological reviews. Vol. 77, pp: 591-625.