

Effects of transportation on stress indicators, steroids hormones and hematological parameters of the broodstocks of common carp (*Cyprinus carpio*)

Jafar Ehsani Kenari¹, Abolghasem Esmaceli Fereidouni^{2*}, Masoud Farokhrouz Lashidani³

1. Mazandaran Fisheries Organization, Babolsar, Mazandaran, Iran

2. Assistant Professor in Fisheries Department, Animal Science and Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Mazandaran, Iran

3. Assistant Professor in Fisheries Department, Lahijan Azad University, Lahijan, Gilan, Iran

(Received: Feb. 20, 2015; Accepted: Aug. 23, 2015)

بررسی اثرات حمل و نقل بر برخی از پارامترهای استرس، هورمون‌های استروئیدی و فاکتورهای خونی در مولدین کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

جعفر احسانی کناری^۱، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی^{۲*}، مسعود فرخ‌روز لاشیدانی^۳

۱. کارشناس صید اداره کل شیلات استان مازندران، بابلسر، مازندران

۲. استادیار و عضو هیات علمی گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

۳. استادیار و عضو هیات علمی گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۶/۱)

Abstract

Effects of stress due to transportation on the common carp (*Cyprinus carpio*) broodstock from ponds to the hatcheries in three intervals include immediately after the catching, 2 hours for transfer and 24 hours after transportation on changes in levels of cortisol, glucose, sex steroids (testosterone and estradiol) and blood factors were analyzed with sampling from 30 broodstock. Results showed that cortisol levels rose quickly after the catching (625 ng per ml) and significantly decreased after 24 hours (409 ng per ml) ($P < 0.05$). Over time, the trend of the glucose variations was increased, however, no significant differences were observed at different times (from 81.7 to 98.5 g per dL) ($P > 0.05$). Testosterone and estradiol levels were significantly different among the three intervals, in which the highest values were observed after the catching and significantly decreased with time ($P < 0.05$). The amounts of red blood cells, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean hemoglobin and mean cell hemoglobin concentration were significantly different between after the catching and other treatments ($P < 0.05$), which may be affected by the stress caused by fishing. Levels of white blood cells, lymphocytes, monocytes, eosinophils and neutrophils showed no significant differences among treatments ($P > 0.05$). Also, 24-hour maintenance of breeder's improved the blood parameters. Based on the results, the transportation of common carp broodstock had negative effects on cortisol, steroid hormones and some blood parameters (erythrocyte and hemoglobin values), thereby it is necessary to the maintenance of broodstock (even in the short-term transfer) in hatcheries ponds.

Keywords: Stress, Transportation, Sex steroids, Hematological parameters, Spawner.

چکیده

اثرات استرس ناشی از حمل و نقل در مولدین ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از استخرهای پرورش به کارگاه تکثیر در سه مقطع زمانی (شامل بلافاصله بعد از صید، ۲ ساعت لازم برای انتقال و ۲۴ ساعت بعد از قرارگیری در حوضچه‌های آرامش) بر تغییرات مقادیر کورتیزول، گلوکز، استروئیدهای جنسی (تستوسترون و استرادیول) و فاکتورهای خونی با خون‌گیری از ۳۰ قطعه مولد بررسی شد. نتایج نشان داد که کورتیزول در بعد از صید به سرعت افزایش (۶۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و به طور معناداری بعد از ۲۴ ساعت کاهش (۴۰۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر) یافت ($P < 0.05$). روند تغییرات گلوکز با گذشت زمان انتقال روند افزایشی (از ۸۱/۷ به ۹۸/۵ گرم در دسی‌لیتر) داشته ولی اختلاف معناداری در مقاطع مختلف زمانی مشاهده نشد ($P > 0.05$). مقادیر تستوسترون و استرادیول در بین سه مرحله زمانی اختلاف معناداری نشان دادند؛ به طوری که بیشترین مقادیر آنها در زمان بلافاصله بعد از صید و با گذشت زمان روند کاهش معناداری داشتند ($P < 0.05$). مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، میانگین حجم سلولی، متوسط وزن هموگلوبین و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی در زمان بلافاصله بعد از صید اختلاف معناداری با سایر مقاطع زمانی داشته ($P < 0.05$) که احتمالاً متأثر از استرس ناشی از صید بود. مقادیر گلبول‌های سفید، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و نوتروفیل در بین تیمارها اختلاف معناداری نشان نداد ($P > 0.05$). همچنین، نگهداری ۲۴ ساعته مولدین در حوضچه‌های آرامش سبب بهبود برخی از پارامترهای خونی گردید. بر اساس نتایج، حمل و نقل در مولدین کپور معمولی بر میزان کورتیزول، هورمون‌های استروئیدی و برخی از پارامترهای خونی (مقادیر اریتروسیت‌ها و هموگلوبین) اثرات منفی داشته و لذا اقدامات لازم در خصوص آرامش مولدین (حتی در انتقال کوتاه مدت) ضروری است.

واژه‌های کلیدی: استرس، جابجایی، استروئیدهای جنسی، پارامترهای خونی، مولد.

* نویسنده مسئول:

E-mail: sohrabesmaeili70@gmail.com, a.esmaeili@sanru.ac.ir

مقدمه

بر طبق نظر Wedemeyer & McLeay (1981) استرس در هر موجود آبی به عکس‌العمل‌های فیزیولوژیکی گفته شده که موجود در زمان تنظیم و حفظ شرایط درونی بدن خود در پاسخ به هر گونه تغییرات محیط بیرونی (homeostasis) انجام می‌دهد. ماهیان پرورشی در چرخه زندگی خود در معرض منابع مختلفی از عوامل استرس‌زا شامل کاهش سطح آب، به دام افتادن ماهیان در تورهای صید، افزایش تراکم ماهی در استخرهای پرورشی، نوسانات حرارتی و شوری آب، عوامل آلاینده، تکثیر طبیعی و یا مصنوعی، دستکاری و جابجایی قرار دارند.

جهت بررسی اثرات عوامل استرس‌زا در ماهیان، برخی از عکس‌العمل‌های درونی فیزیولوژیکی با گروه‌های متعددی از شاخصه‌های بیوشیمیایی و خونی (میزان هورمون کورتیزول، غلظت گلوکز خون، لاکتات، آمونیم، کلراید موجود در پلاسما خون و مقادیر هماتوکریت، میانگین حجم گلبول قرمز، میزان لوکوسیت‌ها و متوسط وزن طحال) شناخته می‌شوند (Schreck *et al.*, 2001, 2010). از نظر فیزیولوژیک، آبزیان توسط عملکرد خودبخودی با دخالت سیستم‌های عصبی و آزادسازی یک و یا چندین هورمون به درون جریان خون به عوامل استرس‌زا پاسخ می‌دهند. عملکردهای هورمونی با دخالت سیستم آدرنرژیک (adrenergic) و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-ناحیه بین‌کلیوی انجام می‌گیرد (Sumpter, 1997). در این میان، مقادیر کورتیزول (به عنوان مهم‌ترین کورتیکواستروئید) و گلوکز خون اهمیت بیشتری را در سیستم ایمنی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا به خود اختصاص می‌دهند (Pickering & Pottinger, 1989; Schreck *et al.*, 2001, 2010). مطالعات قبلی نشان دادند که استرس‌های شدید کوتاه مدت می‌تواند منجر به نوسانات قابل ملاحظه در مقدار

کورتیزول و همچنین با تأخیر ویژه در میزان گلوکز خون شوند. همچنین کورتیکواستروئیدها و هورمون‌های جنسی متأثر از استرس بوده به طوری که کاهش مقادیر هورمون‌های گنادوتروپین، تستوسترون، ۱۱ کتوتستوسترون و ۱۷ بتااسترادیول در شرایط مختلف استرس‌زا در جنس‌های متعددی از آبزیان گزارش شدند (Greenburg & Wingfield, 1987; Kubokawa *et al.*, 1999).

با این حال، میزان تأثیر عوامل استرس‌زا و ترشح و رهاسازی هورمون‌ها در ماهیان عمدتاً بستگی به نوع استرس، شدت و دوام آن، نوع گونه ماهی، سن و اندازه بدن، طول دوره بلوغ جنسی و عوامل محیطی دارد. از طرف دیگر مطالعات نشان داد که افراد مختلف یک گونه از ماهیان عکس‌العمل‌های متفاوتی در برابر استرس از خود بروز داده و به همین دلیل بایست تفاوت‌های فردی (individual variations) را در بررسی میزان پاسخ به عوامل استرس‌زا مورد تأکید قرار داد (Pottinger & Carrick, 1999).

در شرایط کارگاهی و به منظور تکثیر مصنوعی، هر گونه جابجایی، دستکاری و حمل و نقل ماهی مولد می‌تواند به عنوان یک عامل استرس‌زا سبب ایجاد استرس و ترشح هورمون‌های استرسی در ماهی شده که این عوامل احتمالاً اثرات مستقیم و یا غیرمستقیم بر محور فیزیولوژیکی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد داشته و نهایتاً بر میزان باروری و توان تولیدمثلی مولدین تأثیر دارند. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از گونه‌های مهم تکثیر و پرورشی در آسیا، اروپا و برخی از نواحی آمریکای مرکزی به‌شمار می‌رود. در اکثر موارد، اصول استاندارد در حمل و نقل ماهیان مولد (به خصوص در شرایط کشورمان) رعایت نشده که این مسئله می‌تواند عامل مهمی در ایجاد استرس، پاسخ‌های فیزیولوژیک و ایمنولوژیک در ماهیان، اختلال در رسیدگی جنسی، کاهش بازده تولید تخم و اسپرم و متعاقب آن سلامتی و حساسیت‌پذیری این ماهیان به

مولدین بعد از انتقال به استخرهای بتونی (حوضچه‌های آرامش) با حجم آب ۵۰ مترمکعب (همراه با هوادهی و تعویض آب) در سومین مرحله خون‌گیری در ۲۴ ساعت بعد قرار گرفتند.

برای خون‌گیری، ابتدا ماهیان مولد با استفاده از محلول پودر گل میکس (به نسبت ۴ گرم در ۲۰ لیتر آب و در مدت ۲ دقیقه) آرام شده و خون‌گیری توسط سرنگ‌های هپارینه از ناحیه ورید ساقه دم انجام گردید. نمونه‌های خون در درون لوله‌های اپندروف بدون هپارین (جهت تهیه سرم) و لوله‌های اپندروف هپارینه (جهت اندازه‌گیری پارامترهای خونی) قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور تهیه سرم، نمونه‌های خونی با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و در فریزر (دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد) تا زمان انجام آنالیز نگهداری شدند (Rehulka, 2000).

اندازه‌گیری پارامترهای سرمی و خونی

میزان کورتیزول پلاسما با روش آزمایشگاهی (RIA) Radioimmunoassay و با کیت Immunotech بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. پلاسماي بخشی از خون تهیه شده به وسیله سانتریفیوژ (۶۵۰ دور در ۱۰ دقیقه) استخراج و غلظت گلوکز خون به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر و با استفاده از دستگاه اتوانالایزر (Technicon RA-USA-1000) اندازه‌گیری گردید. جهت اندازه‌گیری استروئیدهای جنسی (تستوسترون و استرادیول) از کیت الایزا تمام اتوماتیک (DUS) ساخت کشور فرانسه استفاده شد (Olsen et al., 1995).

به منظور اندازه‌گیری گلبول‌های خونی، یک قطره خون روی لام شیشه‌ای قرار گرفته و بعد از تهیه smear به کمک الکل متیلیک تثبیت گردید. نمونه‌های اسلاید با روش گیمسا رنگ‌آمیزی و سپس توسط میکروسکوپ بررسی شدند. شمارش گلبول‌های سفید و قرمز با لام نئوبار انجام شد. غلظت هموگلوبین با

عوامل بیماری‌زا باشد (Schreck et al., 2001). در بسیاری از مطالعات قبلی، ارزیابی و بررسی عملکرد عوامل استرسی عمدتاً در مراحل نوجوانی و پرواری گونه‌های مختلف ماهیان آب شیرین و دریایی صورت گرفته و به همین دلیل مطالعات محدودی در زمینه اثرات استرس به خصوص در ماهیان مولد صورت گرفته است. لذا هدف اصلی مطالعه حاضر بررسی تغییرات مقادیر کورتیزول و گلوکز، میزان استروئیدهای جنسی (تستوسترون و استرادیول) و برخی از فاکتورهای خونی در مولدین کپور معمولی تحت شرایط استرس‌زا ناشی از مراحل مختلف حمل و نقل در شرایط کارگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی مولد

این تحقیق در تابستان سال ۱۳۹۱ در مزرعه پرورش ماهی گرمابی در استان مازندران (شهرستان بابل) صورت گرفت. تعداد ۳۰ قطعه ماهی مولد دو ساله کپور معمولی (با میانگین طولی و وزنی به ترتیب ۲۸ سانتی‌متر و ۲ کیلوگرم) به صورت کاملاً تصادفی از یک مرحله پره‌کشی در استخر پرورشی صید و انتخاب شدند.

آزمایشات استرس، نمونه برداری و خون‌گیری

به منظور بررسی اثر استرس ناشی از حمل و نقل، مولدین در سه مقطع زمانی جداگانه شامل بلافاصله بعد از صید، ۲ ساعت بعد (بلافاصله پس از انتقال و رسیدن به کارگاه تکثیر) و ۲۴ ساعت بعد (پس از نگهداری در حوضچه‌های آرامش کارگاه تکثیر) خون‌گیری شدند. عمل خون‌گیری مرحله اول، از مولدین بلافاصله پس از صید آنها صورت گرفت. سپس پانصد کیلوگرم از مولد در تانکر مخصوص حمل ماهی (با حجم ۲ مترمکعب و همراه با تجهیزات هوادهی و مانومتر) قرار گرفته و خون‌گیری مرحله دوم بعد از حمل با مدت زمان دو ساعت به کارگاه شهید رجایی ساری صورت گرفت. سپس

دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. همچنین، انجام آنالیزهای آماری و ترسیم نمودارها به ترتیب با نرم‌افزارهای SPSS و Excel انجام گردید.

نتایج

روند تغییرات کورتیزول، گلوکز و هورمون‌های استروئیدی در مولدین کپور معمولی

بیشترین میزان کورتیزول در مرحله بلافاصله بعد از صید مولد بوده و مقدار آن با گذشت زمان ۲۴ ساعته همراه با اختلافات معنادار کاهش و به کمترین مقدار رسید ($P < 0.05$). میزان گلوکز در زمان صید (۸۱/۷ گرم بر دسی‌لیتر) کمتر از سایر مقاطع زمانی ۲ و ۲۴ ساعت (به ترتیب ۹۵/۹ و ۹۸/۵ گرم بر دسی‌لیتر) همراه با عدم اختلافات معنادار در زمان‌های مختلف بود ($P > 0.05$). وضعیت هورمون‌های استروئیدی در زمان صید و بعد از انتقال برای هر دو هورمون تستوسترون و استرادیول تقریباً روند مشابهی داشت؛ به طوری که بیشترین مقادیر هر دو هورمون در زمان صید مشاهده شد. با این حال، میزان هورمون تستوسترون اختلافات معناداری ($P < 0.05$) را با مقاطع زمانی ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال نشان داده ولی روند کاهشی معنادار ($P < 0.05$) در میزان استرادیول تنها در زمان ۲۴ ساعت بعد از انتقال مشاهده شد (جدول ۱).

دستگاه فتومتر، روش سیان مت هموگلوبین و با میزان جذب نور در طول موج ۵۴۰ نانومتر محاسبه شد. برای سنجش هماتوکریت از روش میکروههماتوکریت و با ساتریفیوژ (سرعت ۷۰۰۰ دور و به مدت ۵ دقیقه) استفاده شد. برای محاسبه شاخص‌های گلبولی شامل متوسط حجم گلبول قرمز (MCV; mean corpuscular volume)، متوسط وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCH; mean corpuscular hemoglobin) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration) از فرمول‌های زیر استفاده گردید (Campbell & Ellis, 2007):

$$\begin{aligned} \text{MCV} (\mu\text{m}^3) &= [\text{Hct} / \text{RBC (million)}] \times 10 \\ \text{MCH} (\text{pg cell}^{-1}) &= [\text{Hb}/\text{RBC (million)}] \times 10 \\ \text{MCHC} (\text{g dL}^{-1}) &= (\text{Hb} / \text{Hct}) \times 100 \end{aligned}$$

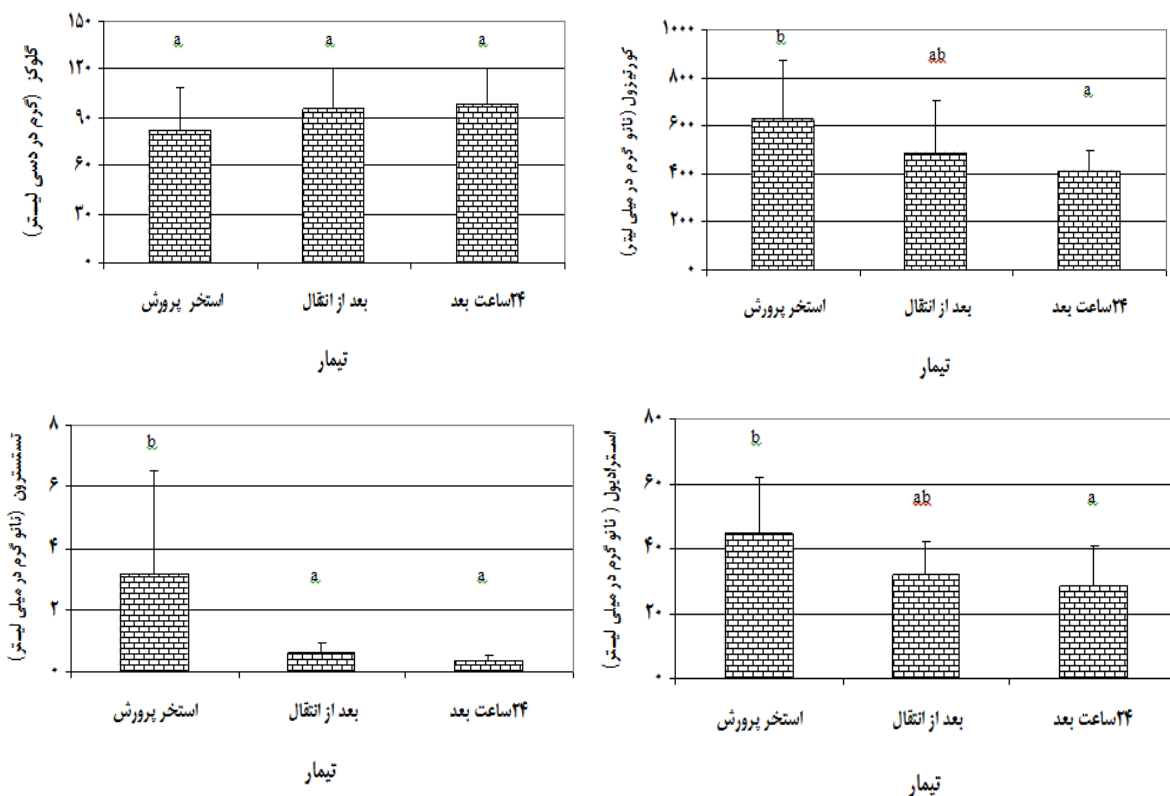
تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون‌های کروس‌کال - وایس و Shapiro-Wilk استفاده شد. جهت بررسی فاکتورهای هورمونی و خونی در مولدین کپور معمولی در بین سه مرحله زمانی (زمان صید، ۲ ساعت بعد از حمل و نقل و ۲۴ ساعت بعد) از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون

جدول ۱. میانگین مقادیر (\pm انحراف از معیار) کورتیزول، گلوکز، تستوسترون و استرادیول مولدین کپور معمولی در سه مقطع مختلف زمانی (زمان صید، ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال)

پارامترها	مقاطع زمانی	زمان صید (شاهد)	۲ ساعت بعد از انتقال	۲۴ ساعت بعد از انتقال
کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	$625/1 \pm 249/1^a$ (۲۷۷-۱۰۹۴)	$488/9 \pm 211/2^{ab}$ (۱۹۷-۸۵۹)	$409/1 \pm 86/8^b$ (۲۹۹-۵۶۲)	
گلوکز (گرم بر دسی‌لیتر)	$81/7 \pm 26/8^a$ (۴۵-۱۳۴)	$95/9 \pm 24/2^a$ (۵۸-۱۲۳)	$98/5 \pm 22/1^a$ (۶۲-۱۴۰)	
تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	$3/2 \pm 3/4^a$ (۰/۱۹-۸/۹)	$0/63 \pm 0/3^b$ (۰/۳۴-۱/۱۴)	$0/36 \pm 0/17^b$ (۰/۲۰-۰/۶۲)	
استرادیول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	$44/78 \pm 17/1^a$ (۲۵-۷۲)	$31/75 \pm 10/3^{ab}$ (۱۹-۴۴)	$28/18 \pm 12/8^b$ (۱۵/۶-۵۷)	

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن می‌باشد ($P < 0.05$). (اعداد داخل پرانتز محدوده بیشترین و کمترین مقادیر را در پارامتر مربوطه نشان می‌دهند).



شکل ۱. میانگین مقادیر (± انحراف از معیار) گلوکز، کورتیزول، تستوسترون و استرادیول در مولدین کپور معمولی در سه مقطع مختلف زمانی (زمان صید، ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال)

بررسی همبستگی بین کورتیزول و تستوسترون در مولدین کپور معمولی در سطح 0.05 و 0.01 و همبستگی معنی دار نبود ($r^2 = 0.374$).

بررسی همبستگی بین کورتیزول با تستوسترون و استرادیول نشان داد که بین تستوسترون و کورتیزول همبستگی معنی داری در سطح 0.01 وجود دارد

جدول ۲. همبستگی بین کورتیزول با استروئیدهای جنسی در مولدین کپور معمولی

کورتیزول	استرادیول	تستوسترون	رابطه پیرسون	تستوسترون
۰/۵۰۳**	۰/۳۴۹	۱	Sig. N	تستوسترون
۰/۰۰۵	۰/۰۷۴	۳۰		۳۰
۰/۳۷۴	۱	۰/۳۴۹	رابطه پیرسون Sig. N	استرادیول
۰/۰۵۵	۲۷	۰/۰۷۴		۲۷
۱	۰/۳۷۴	۰/۵۰۳**	رابطه پیرسون Sig. N	کورتیزول
۳۰	۲۷	۰/۰۰۵		۳۰

** روابط در سطح 0.01 معنادار است (2-tailed).

صید به طور معناداری بیشتر از مقادیر آنها در زمان‌های ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال بود ($P < 0.05$). مقدار گلبول قرمز در زمان بلافاصله بعد از صید از

روند تغییرات عوامل خونی در مولدین کپور معمولی مقادیر عوامل خونی به ویژه گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون در مولدین کپور معمولی در زمان

مقدار ۱/۶۶ میلی‌اکی‌والان بر لیتر به مقادیر ۱/۵۶ و ۱/۵۳ میلی‌اکی‌والان بر لیتر در به ترتیب در زمان‌های ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال کاهش یافت. همچنین، روند کاهشی معناداری در درصد هماتوکریت خون از مقادیر تقریباً ۴۳ درصد (زمان صید) به مقادیر به ترتیب ۳۶ و ۳۵ درصد در زمان‌های ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال رسید ($P < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳. میانگین مقادیر (\pm انحراف از معیار) گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، میانگین حجم سلولی گلبول‌های قرمز، میانگین وزن و غلظت هموگلوبین سلولی مولدین کپور معمولی در سه مقطع مختلف زمانی (زمان صید، ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال)

پارامترها	مقاطع زمانی	زمان صید (شاهد)	۲ ساعت بعد از انتقال	۲۴ ساعت بعد از انتقال
گلبول قرمز (میلی‌اکی‌والان بر لیتر)	1.66 ± 0.03^a (۱/۶۷-۱/۷)	1.56 ± 0.08^b (۱/۴۴-۱/۶۸)	1.53 ± 0.08^b (۱/۴۱-۱/۶۶)	
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	12.27 ± 0.18^a (۱۲-۱۲/۵)	10.84 ± 0.96^b (۹/۷-۱۲/۵)	10.49 ± 0.97^b (۹/۳-۱۱/۵)	
هماتوکریت (درصد)	42.78 ± 2^a (۴۰-۴۶)	36.7 ± 4.2^b (۳۲-۴۳)	34.9 ± 3.6^b (۳۱-۴۰)	
میانگین حجم سلولی گلبول‌های قرمز (فمتولیت)	253.87 ± 13.9^a (۲۲۴/۵-۲۷۰/۶)	235.39 ± 14.6^b (۲۲۱/۵-۲۶۰/۶)	228.15 ± 21^b (۱۹۸/۸-۲۶۳/۲)	
میانگین وزن هموگلوبین (پیکوگرم به ازای هر سلول)	73.76 ± 0.7^a (۷۲/۹-۷۴/۹)	69.56 ± 3.4^b (۶۵/۱-۷۴/۴)	68.58 ± 5.4^b (۶۰/۹-۷۶/۷)	
میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (گرم بر دسی‌لیتر)	28.81 ± 0.9^b (۲۷/۲-۳۰)	29.59 ± 0.8^{ab} (۲۸/۴-۳۰/۶)	30.11 ± 1.1^a (۲۸/۵-۳۲)	

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن می‌باشد ($P < 0.05$). (اعداد داخل پرانتز محدوده بیشترین و کمترین مقادیر را در پارامتر مربوطه نشان می‌دهند).

میانگین مقادیر گلبول سفید خون در مقاطع مختلف زمانی اختلاف معناداری در مولدین کپور نداشته و در محدوده‌ای بین ۱۷۶۰۰-۱۶۸۰۰ متفاوت بود ($P > 0.05$)؛ با این حال، بیشترین مقادیر در زمان بلافاصله پس از صید مشاهده شده و مقادیر آنها با گذشت زمان کاسته شد. روند مشابه همراه با عدم اختلاف معنادار ($P > 0.05$) در مورد سایر پارامترهای مربوط به گلبول‌های سفید خون مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴. میانگین مقادیر (\pm انحراف از معیار) گلبول سفید و سایر شاخصه‌های لوکوسیت در مولدین کپور معمولی در سه مقطع مختلف زمانی (زمان صید، ۲ و ۲۴ ساعت بعد از انتقال)

پارامترها	مقاطع زمانی	زمان صید (شاهد)	۲ ساعت بعد از انتقال	۲۴ ساعت بعد از انتقال
گلبول سفید (میلی‌اکی‌والان بر لیتر)	17570 ± 1161.5^a (۱۵۹۰۰-۱۹۲۰۰)	16880 ± 1077.9^a (۱۵۱۰۰-۱۸۵۰۰)	16820 ± 1000.9^a (۱۵۴۰۰-۱۸۵۰۰)	
لنفوسیت (درصد)	76.4 ± 1.7^a (۷۴-۸۰)	76.2 ± 3.1^a (۷۱-۸۱)	75.4 ± 1.7^a (۷۳-۷۸)	
مونوسیت (درصد)	3.4 ± 0.97^a (۲-۵)	3 ± 1.3^a (۱-۵)	4.1 ± 1.2^a (۲-۶)	
اُتوزینوفیل (درصد)	3.3 ± 1.5^a (۱-۶)	3.8 ± 1.2^a (۲-۶)	3.5 ± 1.1^a (۲-۵)	
نوتروفیل (درصد)	16.9 ± 1.7^a (۱۴-۱۹)	17 ± 2.4^a (۱۴-۲۰)	17 ± 1.3^a (۱۵-۱۹)	

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن می‌باشد ($P < 0.05$). (اعداد داخل پرانتز محدوده بیشترین و کمترین مقادیر را در پارامتر مربوطه نشان می‌دهند).

بحث و نتیجه گیری

کورتیزول و گلوکز

استرس حمل و نقل مشتمل بر مجموعه‌ای از عوامل استرس‌زا (کاهش سطح آب در تانک، صید، دستکاری، بار زدن، حمل و تخلیه ماهی) بوده که هر کدام به نوبه خود می‌توانند سبب تغییرات میزان کورتیزول و گلوکز خون شوند (Schreck *et al.*, 2001). در مطالعه حاضر، متوسط مقدار کورتیزول مولدین کپور معمولی در سه مرحله مختلف در محدوده‌ای بین ۶۲۵-۴۰۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر متفاوت بود. افزایش شدید کورتیزول در زمان صید (۶۲۵/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) بیانگر عدم تطابق اولیه مولدین در برابر استرس حاد ناشی از صید می‌باشد؛ با این حال مقادیر آن بعد از انتقال ۲ ساعته اندکی کاهش (به ۴۸۸/۹ نانوگرم در میلی‌لیتر) یافته ولی احتمالاً همچنان متأثر از استرس صید بوده و نهایتاً بعد از گذشت ۲۴ ساعت پس از قرارگیری در حوضچه آرامش کاهش معناداری (به ۴۰۹/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) را نشان داد.

نوسانات کورتیزول در مطالعات مختلف به نوع گونه ماهی، تکنیک‌های اندازه‌گیری، سن و اندازه ماهی، فصل، درجه حرارت پرورش، جنسیت و مراحل تولیدمثلی وابسته است (Di Marco *et al.*, 1999; Belanger *et al.*, 2001). میانگین سطوح کورتیزول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مرحله استراحت از ۵۴۰-۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر متفاوت بوده که این مقادیر در صورت استرس به محدوده ۷۳۵-۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر افزایش می‌یابند (Schreck *et al.*, 2001). با این حال مقادیر کورتیزول به مراتب پایین‌تری در مطالعات دیگر نیز عنوان گردید؛ به عنوان مثال، میزان کورتیزول در قزل‌آلای رنگین‌کمان بدون استرس در محدوده‌ای بین ۱۰-۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر (Pottinger & Moran, 1993) و در ماهی مولد خاویاری آدریاتیک (*Acipenser*)

(*naccarii*) در حد ۹/۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید (Di Marco *et al.*, 1999). تقریباً مشابه با نتایج مطالعه حاضر، میزان کورتیزول پلاسمای تاس ماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از صید و بارزدن افزایش یافته و در انتهای مرحله حمل به ماکزیمم حد خود رسیده و حتی حداقل به مدت یک ساعت بعد از تخلیه ماهی و قرارگیری در حوضچه‌های آرامش نیز در حد بالایی قرار داشت (Belanger *et al.*, 2001). همچنین، یک افزایش ناگهانی در میزان کورتیزول بعد از مدت ۳۰ دقیقه در تاس ماهی سفید (*A. transmontanus*) مشاهده شده که تا ۹۰ دقیقه نیز ادامه و بعد از گذشت ۲۴۰ دقیقه (۴ ساعت) مجدداً به مقادیر قبل از مرحله استرس‌دهی رسید.

در مطالعات قبلی در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی، افزایش در مقدار کورتیزول و گلوکز پلاسمای ۶-۱ ساعت پس از یک بار قرارگیری در معرض عامل استرس‌زای حاد مشاهده شد. علاوه بر این، مدت زمان ریکاوری و بازگشت به حالت معمول برای این دو پارامتر در محدوده‌ای بین ۲۴-۱۲ ساعت پس از استرس بوده که از این نظر نتایج مطالعه حاضر با آنها مطابقت دارد (Olsen *et al.*, 2003; Milla *et al.*, 2010; Costas *et al.*, 2011). Nikoo *et al.* (2007) در بررسی مقادیر کورتیزول و گلوکز خون در مولدین ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) در مقاطع مختلف حمل (بلافاصله پس از صید و زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از انتقال) نشان دادند که میزان اولیه کورتیزول در زمان بلافاصله پس از صید در هر دو گروه مولدینی که با تراکم‌های متفاوتی از حمل جابجا شده تقریباً یکسان بوده ولی مقدار کورتیزول با افزایش زمان انتقال به تدریج افزایش یافت. همچنین با افزایش تراکم مولد ماهی سفید در زمان حمل، میزان کورتیزول به اندازه ۱/۲ برابر بیشتر شد.

تغییرات مشابه افزایشی نیز برای میزان گلوکز خون و با گذشت زمان انتقال دیده شد.

در مطالعه حاضر اگرچه اختلاف معناداری از نظر میزان گلوکز در بین سه مرحله زمانی انتقال در مولدین کپور معمولی مشاهده نشد ولی مقادیر گلوکز در ۲۴ ساعت بعد از حمل به اندازه ۲۰ درصد بالاتر از زمان صید بوده که این مقدار افزایش بسیار کمتر از افزایش ۶۳ درصدی در میزان گلوکز سرم (از ۴/۴۲ میلی‌مول در لیتر به ۷/۲۴ میلی‌مول در لیتر) در کپور معمولی نابالغ (با وزن نیم کیلوگرم) تحت استرس ناشی از حمل و نقل در مطالعه Svopodova *et al.* (1999) بود. علت چنین اختلافی را می‌توان به بالغ بودن ماهیان مطالعه حاضر و احتمالاً مقاومت بیشتر آنها در برابر استرس در مقایسه با ماهیان نابالغ نسبت داد.

از طرف دیگر، روند تغییرات میزان گلوکز مشابه روند تغییرات کورتیزول نبوده به طوری که روند افزایشی از خود نشان داد. لذا احتمالاً در مولدین کپور می‌توان گفت که روند تغییرات گلوکز کاملاً مستقل از تغییرات کورتیزول بوده که برای اثبات آن به مطالعات بیشتری نیاز است. از این نظر نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Kubokawa *et al.* (1999) در ماهی ماده ساک‌آی سالمون (*Oncorhynchus nerka*) مطابقت دارد به طوری که استرس ناشی از نگهداری مولدین ماده در شرایط اسارت به مدت ۳۰ دقیقه سبب افزایش ۴۰ درصدی میزان گلوکز خون (از مقادیر اولیه ۱۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۱۴۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گردید. به طور کلی تحت شرایط استرس‌زا، پیام‌ها از طریق ترشح کتکول‌آمین بر بافت کرومافین تأثیر گذاشته و موجب ترشح هورمون آدرنالین شده و سپس آدرنالین با تأثیر بر کبد سبب القاء گلیکوژنز یا گلیکونئوژنز شده که این امر منجر به متابولیسم شدن گلوکز و نهایتاً افزایش میزان گلوکز در خون می‌شوند (Barry *et al.*, 1993). به همین دلیل احتمال می‌رود که هورمون

آدرنالین نقش مهم‌تری از کورتیزول در افزایش گلوکز خون داشته باشد. زیرا چنین روندی به سازش ابتدایی آبزیان در پاسخ به عوامل استرس‌زا و سپس کاهش تدریجی میزان کورتیزول و از بین رفتن اثر مهاری آن نسبت داده می‌شود. نظر به این که کپور معمولی در مقایسه با سایر گونه‌های ماهیان به عنوان یک ماهی نسبتاً مقاوم در برابر استرس‌ها محسوب می‌شود، به همین دلیل تغییرات کورتیزول در مرحله ابتدایی در این ماهی نسبت به سایر ماهیان خیلی زیاد نبوده و ثانیاً ماهیان احتمالاً توانسته تا به سرعت به استرس پاسخ داده و سریع‌تر خود را به شرایط استرسی سازگار نمایند. Vijayan *et al.* (1997) در ماهی تیلاپیا عنوان کردند که افزایش سطوح گلوکز تحت تأثیر استرس‌های کوتاه مدت ۲ ساعته توسط دخالت کتکول‌آمین‌ها همراه شده در حالی که حفظ مقادیر بالای سطوح گلوکز متأثر از استرس‌های بلند مدت ۲۴ ساعته و با میانجیگری و دخالت هورمون کورتیزول همراه می‌گردد.

هورمون‌های استروئیدی

در مطالعه حاضر میانگین میزان تستوسترون به طور معناداری در زمان صید از ۳/۲ نانوگرم در میلی‌لیتر به ۰/۳۶ نانوگرم در میلی‌لیتر (در ۲۴ ساعت بعد) کاهش یافته که منطبق با نتایج مطالعات Greenburg & Wingfield (1987) و Kubokawa *et al.* (1999) مبنی بر کاهش مقادیر هورمون‌های گنادوترپین، تستوسترون، ۱۱-کتوتستوسترون و ۱۷-بتاسترادیول تحت شرایط استرس‌زا می‌باشد. Nikoo *et al.* (2007) عنوان کردند که تغییرات استروئیدهای جنسی متأثر از استرس حمل و نقل در مولدین ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) بود؛ به طوری که هورمون‌های جنسی تستوسترون و ۱۷-بتاسترادیول در ۱۰ دقیقه اول کاهش معنی‌دار داشته و به تدریج با افزایش زمان نیز این مقادیر کاهش شدیدتری یافتند که از این نظر یافته‌های

بیولوژیکی آن را از طریق تحریک تولید پروتئین‌های اتصالی کاهش می‌دهد (Schreck *et al.*, 2001).

پارامترهای خونی

در سال‌های اخیر توجه زیادی به ویژگی‌های خونی ماهیان شده که در این میان شواهدی مبنی بر تأثیر عوامل استرس‌زا بر پارامترهای خونی ماهیان وجود دارد (Davis *et al.*, 2008; Paighambari *et al.*, 2013). به طور کلی، پارامترهای خونی در ماهیان به شدت متأثر از مجموعه وسیعی از عوامل مانند نوع گونه ماهی، اندازه، سن، جنسیت، وضعیت تولیدمثلی و فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و دسترسی به منابع غذایی می‌باشند. در مطالعه حاضر، بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز همراه با اختلاف معنادار در زمان بلافاصله بعد از صید مشاهده شد. چنین روند افزایشی به انتقال پیام‌ها از طریق اعصاب اتونومیک به طحال و تحریک آن و نهایتاً ساخت و افزایش گلبول قرمز در خون نسبت داده شد (Fänge & Castranova *et al.*, 1985). با این حال (Nilsson, 2005) میزان هموگلوبین خون را به عنوان بهترین شاخص خونی جهت بررسی تأثیر استرس‌های زیست محیطی در گونه‌های مختلف ماهیان عنوان کردند. در مطالعه حاضر، میزان هموگلوبین مولدین کپور معمولی اختلاف معناداری در بین سه مرحله زمانی نشان داده که بیانگر تغییرات اسمولالیتی خون می‌باشد. روند این تغییرات در هنگام بروز استرس را می‌توان به افزایش نیاز ماهی به اکسیژن محلول در آب جهت حمل آن توسط خون و نهایتاً انتقال آن به سلول‌ها نسبت داد. به طوری که نتایج این مطالعه منطبق با یافته‌های (Casillas *et al.*, 1986) در قزل‌آلای رنگین‌کمان مبنی بر تأثیر استرس‌ها (به هر دلیلی) در افزایش میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز می‌باشند. حتی در ماهی دریایی کاد (*Gadus morhua*)، مطالعه Nilsson & rove (1984) نشان داد که تحریکات

مطالعه حاضر با نتایج آنها مطابقت دارد. همچنین، Pickering *et al.* (1987) و Haddy & Pankhurst (1999) افزایش میزان کورتیزول به دلیل استرس در ماهیان ماده بالغ را عاملی در جهت کاهش استروئیدهای جنسی (تستوسترون و استرادیول) در خون در طول دوره رسیدگی جنسی دانسته که خود منجر به کاهش میزان ویتلوژنین در پلاسما می‌گردد.

در مطالعه حاضر، میزان هورمون استرادیول در مرحله بلافاصله بعد از صید ۴۴/۷۸ نانوگرم در میلی‌لیتر بوده که این میزان بعد از گذشت ۲۴ ساعت کاهش معنادار (۲۸/۱۸ نانوگرم در میلی‌لیتر) را نشان داد. با این حال شدت کاهش هورمون استرادیول به مانند تستوسترون نبوده و روند کاهشی تدریجی در مولدین کپور معمولی نشان داد. اگرچه دلیل فیزیولوژیکی چنین کاهشی به مانند روند کاهش هورمون تستوسترون بوده ولی احتمالاً عدم یکنواختی در تأثیر استرس روی میزان ترشح کورتیزول و هورمون‌های استرادیولی در این ماهی هم مشاهده شده که بررسی آن نیاز به مطالعات دقیق‌تر دارد. اثرات استرس در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که این امر تا حدودی به واسطه فعالیت‌های ممانعت‌کنندگی مستقیم کورتیزول روی تولید استروئید در فولیکول‌های تخمدان می‌باشد. با این حال، در گونه‌هایی مانند ماهی طلائی (*Lutjanus inermis*) و اسناپر زلاندنو (*Chrysophrys auratus*) شواهد زیادی مبنی بر اثرات ممانعت‌کنندگی کورتیزول روی تولید ۱۷-بتا استرادیول مشخص نشده است. به عبارت دیگر، یکنواخت نبودن اثر کورتیزول روی تولید استروئید تخمدانی در قزل‌آلا و عدم مشاهده اثر آن بر روی سایر گونه‌ها نشان می‌دهد که تأثیر استرس روی تولیدمثل از طریق فعالیت‌های کورتیزول در سطح تخمدان اعمال نمی‌گردد (Sattari, 2002)؛ با این حال، برخی از مطالعات عنوان کردند که کورتیزول ترشح استرادیول را متوقف نکرده ولی فعالیت

برخلاف نتایج مطالعه حاضر، Ellsaesser & Clem (1986) در گربه ماهی کانالی عنوان کردند که استرس ناشی از حمل و نقل تأثیری بر میزان هماتوکریت نداشته ولی روی میزان لوکوسیت‌ها اثرگذار بوده به طوری که سبب هتروفیلی و لنفوپنی می‌گردند. اختلاف بسیار ناچیز (آن هم به شکل کاهش) در تعداد گلبول‌های سفید نسبت به زمان صید احتمالاً ناشی از مقاومت نسبتاً بالا و بالا بودن سیستم ایمنی بدن مولدین کپور معمولی در برابر استرس‌ها و همچنین تأثیر فعالیت کورتیزول بر سیستم ایمنی بدن در اثر ایجاد استرس (کاهش طول عمر لنفوسیت‌ها به علت ترشح کورتیزول متأثر از استرس) می‌باشد (Pickering, 1984).

del Valle *et al.* (1995) کاهش در تعداد لنفوسیت‌های ماهی آبو (*Plecoglossus altivelis*) و Bahmani & Oryan (2003) تغییرات عمده لوکوسیت‌های خون تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) را به‌عنوان یک شاخص مهم اکوفیزیولوژیک از استرس عنوان کردند؛ به طوری که پدیده‌های کاهش لنفوسیت‌ها (در محدوده ۸۸-۵) و افزایش نوتروفیل‌ها (در محدوده ۹۵-۸ درصد) بیانگر اثر استرس روی ماهیان مولد تاس ماهی بوده، ولی اتوزینوفیل (در محدوده ۲۴-۰ درصد) به عنوان شاخص مناسبی از استرس شناخته نشد. علی‌رغم نقش به‌نظر مهم استرس روی لوکوسیت‌ها، تغییرات شدید و معناداری در ماهی کپور معمولی در مطالعه حاضر مشاهده نشده که چنین روندی را احتمالاً می‌توان به مقاومت بالای این گونه در برابر استرس‌های محیطی نسبت داد. اصولاً ماهیانی که در شرایط پرتنش‌تر قرار داشته و از ذخایر انرژی بیشتری برخوردارند، در مواجهه با استرس تحمل بالاتری داشته و می‌توانند خود را با سرعت بیشتری با تغییرات محیطی سازگار نمایند (Sattari, 2002).

از آن جایی که مولدین مطالعه حاضر تنها در یک مقطع دو ساعته در شرایط حمل و نقل قرار گرفته‌اند،

عصبی-هورمونی ناشی از استرس موجب انقباض طحال شده که این امر موجب افزایش مقادیر فاکتورهای خونی (گلبول قرمز و هموگلوبین) می‌گردد، در حالی که این پارامترها با گذشت زمان و حذف عامل استرس‌زا دوباره به حالت نرمال برمی‌گردند. در حالی که Paighambari *et al.* (2013) عنوان کردند که تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون با استرس ناشی از شوک الکتریکی ۵ ثانیه‌ای (توسط الکتروشوکر) در ماهی کپور وحشی (*Cyprinus carpio*) (با میانگین وزنی ۳۴ گرمی) کاهش می‌یابد.

در مطالعه حاضر، مقادیر هماتوکریت بلافاصله بعد از استرس ناشی از صید افزایش یافته ولی بعد از حمل دو ساعته و آرامش ۲۴ ساعته به طور معناداری کاهش یافته و به یک ثبات نسبی رسید، به طوری که بین زمان‌های ۲ و ۲۴ ساعته اختلاف معناداری مشاهده نشد. بر اساس یافته‌های Kikuchi & Hughes (1985) استرس‌های ناشی از نمونه‌گیری و یا هر گونه هیجان‌ناشده و جزیی در قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند عاملی در جهت افزایش شدید و یا جزیی در میزان هماتوکریت باشند. در بسیاری از مطالعات قبلی، افزایش در مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین در مدت زمان ۳ ساعت پس از یک بار استرس مشاهده شد (Olsen *et al.*, 2003)؛ که این امر به عنوان یک استراتژی برای بهبود ظرفیت حمل اکسیژن در شرایطی که تقاضا برای انرژی بالاست، می‌باشد. پارامترهای هماتولوژیک در ماهیان گرسنه کاداقیانوس اطلس در زمان ۱ ساعت پس از استرس حاد افزایش یافت، اما به کمتر از میزان آن در ماهیان شاهد در زمان ۱۲ ساعت پس از استرس رسید (Olsen *et al.*, 2003). در حالی که، Caruso *et al.* (2002) کاهش در میزان هماتوکریت و هموگلوبین ماهی اسبله (*Silurus glanis*) را ۳ روز بعد از در معرض‌گذاری ماهیان با استرس به صورت روزانه به مدت ۱ هفته مشاهده نمودند.

احتمالاً برای ثبات بیشتر به زمان بالاتری نیاز دارند. همچنین، حمل و نقل مولدین کپور معمولی بر میزان کورتیزول، هورمون‌های جنسی و برخی از پارامترهای خونی (مقادیر اریتروسیت‌ها و هموگلوبین) اثرات شدیدی داشته که لزوم انجام اقدامات احتیاطی در زمینه بهبود روش‌های صید مولد از استخرها، استفاده از مواد آرام‌کننده در حمل و نقل مولدین و احتمالاً اختصاص زمان بیشتر در زمینه نگهداری مولدین در حوضچه‌های آرامش (حتی در انتقال کوتاه مدت) را اجتناب‌ناپذیر می‌نماید.

سپاسگزاری

بدین ترتیب نگارندگان مقاله کمال تشکر و سپاس را از مدیریت محترم کارگاه شهید رجایی ساری به منظور تامین امکانات لازم جهت انجام این تحقیق دارند.

REFERENCES

- Bahmani, M.; Oryan, Sh.; (2003). Effects of harvesting stress, transportation and maintenance on leukocytes index of the young *Acipenser persicus* broodstocks in the southern of the Caspian Sea. *Journal of Basic Sciences*; 13(50): 4117-4130.
- Barry, TP.; Lapp, AF.; Kayes, TB.; Malison, JA.; (1993). Validation of microtitroplate ELISA formeasuring cortisol in fish and comparison of stress response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquaculture*; 117: 351-363.
- Belanger, JM.; Son, JH.; Laugero, KD.; Moberg, CP.; Doroshov, I.; Lankford, SE.; Cech, JJ.; (2001). Effects of short term management stress and ACTH injection on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*; 203: 165-176.
- Campbell, TW.; Ellis, CK.; (2007). *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*. 3rd ed. Blackwell Scientific Publications Ltd. Ames, Iowa; 320 P.
- Caruso, D.; Schlumberger, O.; Dahm, C.; Proteau, JP.; (2002). Plasma lysozyme levels in sheatfish *Silurus glanis* subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*; 33(12): 999-1008.
- Casillas, E.; Myers, MS.; Rhodes, LD.; McCain, BB.; (1986). Serum chemistry of diseased English sole, *Parophrys ventulus*, from polluted areas of Puget Sound, Washington. *Journal of Fish Disease*; 8: 437-449.
- Castranova, DA.; King, VW.; Woods, LC.; (2005). The effects of stress on androgen production, spermiation response and sperm quality in high and low cortisol responsive domesticated male striped bass. *Aquaculture*; 246: 413-422.
- Costas, B.; Conceição, LEC.; Aragão, C.; Martos, JA.; Ruiz-Jarabo, I.; Mancera, JM.; Afonso, A.; (2011). Physiological responses of Senegalese sole (*Solea*

با این حال اثرات شدیدی روی بسیاری از فاکتورهای استرسی و خونی ایجاد گردید. به همین دلیل پیشنهاد می‌گردد تا اثرات حمل و نقل‌های طولانی مدت‌تر هم روی پارامترهای مشابه و به خصوص در مورد دیگر گونه‌های ماهیان مولد صورت گرفته تا بتوان به یک مدل استاندارد و بهینه از نظر کاربردی در زمینه حمل و نقل مولدین در شرایط کشور دست یافت.

در جمع‌بندی نهایی می‌توان عنوان کرد که استرس ناشی از صید و جابجایی (حتی دو ساعته) مولدین کپور معمولی اثرات نامطلوبی روی اکثر عوامل هورمونی و خونی ایجاد می‌نماید؛ با این حال مقادیر گلوکز خون هم‌چنان بالا بوده و احتمالاً نیاز به زمان بیشتری برای رسیدن به ثبات دارند. از طرف دیگر، نگهداری ۲۴ ساعته مولدین در حوضچه‌های آرامش سبب بهبود برخی از پارامترهای خونی شده ولی

- senegalensis*) after stress challenge: Effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism. *Aquaculture*; 316: 68-76.
- Davis, AK.; Maney, DL.; Maerz, JC.; (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*; 22: 760-772.
- del Valle, G.; Taniguchi, N.; Tsujimura, A.; (1995). Effects of stress on some hematological traits of chromosome manipulated ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Suisanzoshoku Japan Aquaculture Society*; 43: 89-95.
- Di Marco, P.; McKenzie, DJ.; Mandich, A.; Bronzi, P.; Cataldi, E.; Cataudella, S.; (1999). Influence of sampling conditions on blood chemistry values of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*. *Journal of Applied Ichthyology*; 15: 73-77.
- Ellsaesser, C.; Clem, LW.; (1986). Hematological and immunological changes in channel catfish stressed by handling. *Journal of Fish Biology*; 28: 511-521.
- Fange, R.; Nilsson, S.; (1985). The fish spleen; structure and function experiential. In: Moyle, PB.; Cech, J.; (editors). *Fishes: An Introduction to Ichthyology*. 4th edn. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey; 152-58.
- Greenburg, N.; Wingfield, J.; (1987). Stress and reproduction: Reciprocal relationship. In: Norrisand, DO.; Jones, RE.; (editors). *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles*. Plenum Press, New York, London; 461-503.
- Haddy, JA.; Pankhurst, NW.; (1999). Stress-induced changes in concentrations of plasma sex steroids in black bream. *Journal of Fish Biology*; 55: 1304-1316.
- Kikuchi, Y.; Hughes, GM.; (1985). Effect of moderate and severe exercise in rainbow trout on some of arterial blood. *Japanese Journal of Ichthyology*; 31: 422-426.
- Kubokawa, K.; Watanabe, T.; Yoshizaki, M.; Iwata, M.; (1999). Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. *Aquaculture*; 172: 335-349.
- Milla, S.; Mathieu, C.; Wang, N.; Lambert, S.; Nadzialek, S.; Massart, S.; Henrotte, E.; Douxfils, J.; Méléard, C.; Mandiki, SNM.; Kestemont, P.; (2010). Spleen immune status is affected after acute handling stress but not regulated by cortisol in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Fish and Shellfish Immunology*; 28: 931-941.
- Nikoo, M.; Saeidi, A.; Yasemi, M.; Jafari, A.; Al Khorshid, M.; (2007). Changes in cortisol, glucose and serum steroid hormones in transporting of the Caspian Sea kutum (*Rutilus kutum*) broodstocks. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*; 16(3): 147-154.
- Nilsson, S.; Grove, DJ.; (1984). Adrenergic and cholinergic innervation of the spleen of the cod (*Gadus morhua*). *European Journal of Pharmacology*; 28: 135-137.
- Olsen, YA.; Einarsdottir, IE.; Nilssen, KJ.; (1995). Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture*; 134: 155-168.
- Olsen, RE.; Sundell, K.; Hansen, T.; Hemre, GI.; Myklebust, R.; Mayhew, TM.; Ringø, E.; (2003). Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar*: An electron microscopical study. *Fish Physiology and Biochemistry*; 26: 211-221.
- Paighambari, SY.; Gharache, MH.; Jafari, V.; (2013). Effects of electrofishing stress on hematological parameters of wild carp (*Cyprinus carpio*). *Journal*

- of Utilization and Cultivation Aquatics; 2(1): 85-95.
- Pickering, AD.; (1984). Cortisol-induced lymphocytopenia in brown trout, *Salmo trutta*. General and Comparative Endocrinology; 53: 252-259.
- Pickering, AD.; Pottinger, TG.; Carragher, JF.; Sumpter, JP.; (1987). The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta*. General and Comparative Endocrinology; 68: 249-259.
- Pickering, AD.; Pottinger, TG.; (1989). Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiology and Biochemistry; 7: 253-258.
- Pottinger, TG.; Moran, TA.; (1993). Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Biology; 43: 121-130.
- Pottinger, TG.; Carrick, TR.; (1999). Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout. General and Comparative Endocrinology; 16: 122-132.
- Rehulka, J.; (2000). Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture; 190: 27-47.
- Sattari, M.; (2002). Ichthyology. Vol 1. Naghshe Mehr Press; 659 P.
- Schreck, CB.; Contreras-Sanchez, W.; Fitzpatrick, MS.; (2001). Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture; 197: 3-24.
- Schreck, CB.; (2010). Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. General and Comparative Endocrinology; 165: 549-556.
- Sumpter, JP.; (1997). The endocrinology of stress. In: Iwama, GW.; Sumpter, J.; Pickering, AD.; Schreck, CB.; (editors). Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge; 95-118.
- Svopodova, ZP.; Kalab, L.; Dusek, TB.; Vykusova, J.; Kolarova, D.; Janouskova, F.; (1999). The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta Veterinaria Brno; 68: 265-274.
- Vijayan, MM.; Pereira, C.; Grau, EG.; Iwama, GK.; (1997). Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. Comparative Biochemistry and Physiology (C)-Toxicology and Pharmacology; 116: 89-95.
- Wedemeyer, GA.; McLeay, DJ.; (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Stress and Fish. Academic Press, London and New York; 246-75.