فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال دوم/ شماره سوم/ تابستان ۹۳/ صفحات ۵۸-۴۷

تأثیر عصاره‌های گیاهان سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*) و گل‌محمدی (*Rosa damascene*) بر کاهش میزان استرس و فاکتورهای خونی در برابر حمل ونقل در ماهی تزئینی گرین ترور(*Andinoacara rivulatus*)

صدف علی اکبرزاده*[۱]، مسعود فرخ‌روز[۲]

چکیده

با توسعه صنعت پرورش ماهی در کشور و افزایش تعداد پرورش‌دهندگان، خرید بچه ماهی و جابجایی و نگهداری بچه ماهیان، یکی از زنجیره‌های مربوط به این صنعت محسوب می‌شود. تهیه بچه ماهی، حمل و نقل و اکسیژن‌دهی به ماهی مسائلی است که در بازماندگی و رشد ماهیان در جابجایی و نگه‌داری‌های کوتاه مدت تأثیر به سزایی دارد، در این بررسی ۶ گروه آزمایشی از عصاره های گیاهی سنبل الطیب و گل محمدی به همراه گروه شاهد در سه تکرار مورد تحقیق قرار گرفت در این آزمایش تعداد ۴۲۰ ماهی گرین ترور (*Aequidens rivulatus*) در معرض عوامل تنش‌زا قرار گرفته تا الگوهای پاسخ استرس فیزیولوژیکی در این گونه‌ها تعیین بشود. مهمترین پاسخ در افزایش سه برابری در سطوح کورتیزول (حداکثر مقدار ng/ml ۱۴۶) و افزایش معنادار در سطوح گلوکز (۱/۵ برابری) در انتهای مسیر پس از انتقال در گروه شاهد دیده شد که این افزایش در تیمار گل محمدی۳٪ کمترین مقدار را داشت، پس از تنش حاد جابجایی، شاهد افزایش سریع در کورتیزول بوده (نقطه اوج به میزان ng/ml ۱۲۱ پس از طی نمودن نیمی از مسافت انتقال) نتایج نشان می‌دهد که همانند ماهیان دیگر، مسافت و میزان تنش باعث پاسخ فیزیولوژیکی شده و با کاهش این استرس می‌توان میزان تلفات در انتقال را کاهش داد.

کلید واژه: حمل و نقل، عصاره گیاهی، ماهی گرین ترور،هماتوکریت، گلبول قرمز، گلبول سفید.

۱- دانشجوی دکتری تخصصی گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران shell_k@yahoo.com

۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

نکاتی در مورد حفظ سلامت بچه ماهیان به هنگام نگهداری و انتقال وجود دارد که شامل تأمین اکسیژن مورد نیاز و کاهش استرس است که با استفاده از آرام‌بخشی ماهیان در هنگام حمل و نقل انجام می‌گیرد. مسأله بعد تعویض و چرخش آب مخزن به علت خروج گازهای زائد و فضولات حاصل از متابولیسم ماهی و یکنواخت شدن دمای آب است. شرایط و عملیات‌های آبزی پروری، از قبیل مواجهه ماهی با آب با کیفیت پایین می‌شود، مواجهه با ملکولهای سمی بیگانه گریز، تنش را القا می‌کنند که با تغییرات هورمونی و بی نظمی‌های اسمزی شناخته می‌شود. شماری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی از قبیل افزایش در کورتیزول پلاسما و گلوکز و کاهش در الکترولیت‌های پلاسما به منظور شناسایی میزان تنش تجربه شده در جانور استفاده شده‌اند. ماهی گرین‌ترور(*Andinoacara rivulatus*) دارای بدنه کشیده، سر بزرگ، پیشانی تقریباً برجسته، چشم‌های نسبتاً بزرگ و باله‌های پشتی و دمی تقریباً طویل است. گرین ترور دارای رنگهای متنوع و زیبایی می‌باشد. استرس در حقیقت به عنوان وضعیتی ناشی از شرایط محیطی که حیات را تهدید می‌کند، تعریف می‌شود. با وجود این، امروزه به طور گسترده پذیرفته شده که شرایطی که حیات را تهدید نمی‌کنند، ولی به تغذیه، رشد، تولید مثل یا سایر جنبه های اعمال عادی، فیزیولوژی و فعالیت حیوان آسیب می رسانند، استرس زا هستند. تحریکاتی که این تغییرات را به وجود می آورند، همگی به عنوان استرس‌زاها نامیده می‌شود. باید ذکر شود که همه ی روش های بیهوشی و تسکین، خودشان عوارض جانبی ای ایجاد می کنند که ممکن است مورد خواست ما نباشد. هنگامی که القای بیهوشی آرام باشد، یک توالی مراحل بیهوشی را می‌توان مشاهده کرد. این مراحل در بیشتر حیوانات اتفاق می افتد، اما نخستین بار در ماهی توسط مک فارلند در سال ۱۹۵۹ بیان شد. بر اساس طرح توصیفی وی در جدول ۱ خلاصه شده است و می‌توان مشاهده کرد که ماده‌ی بیهوشی می‌تواند بر حسب ترکیب مقدار غلظت دارو و مدت زمان مواجهه با دارو، سبب تسکین، بیهوشی جراحی یا مرگ شود.

جدول ۱- مراحل بیهوشی در ماهی (بر اساس تحقیق مک‌فارلند، ۱۹۵۹)

مرحله	پلان	طبقه	نحوه پاسخ ماهی به بیهوشی
۰	۰	طبیعی	شنای فعال وجود داشته، ماهی به محرک‌های خارجی پاسخ داده، تعادل ماهی طبیعی بوده، انقباضات عضلانی طبیعی است.
۱	۱	تسکین سبک	شنای ارادی، از دست دادن جزیی واکنش به تحریک بینایی و لامسه، طبیعی بودن تعداد تنفس، تعادل طبیعی، انقباض طبیعی عضلات دیده می‌شود.
۱	۲	تسکین عمیق	توقف شنای ارادی، از دست دادن کامل واکنش به تحریک بینایی و لامسه، کاهش خفیف تعداد تنفس، تعادل طبیعی، کاهش جزیی انقباض عضلانی دیده شده ولی ماهی هنوز به تغییر وضعیت پاسخ می‌دهد (اگر اقدام به تغییر وضعیت شناوری ماهی شود سریعاً به حالت خود برمیگردد).

Archive of SID

www.SID.ir

۲	۱	تخدیر سبک	در این مرحله به دلیل هیجان ممکن است تعداد تنفس افزایش یابد. از دست دادن تعادل، تلاش برای نگه داشتن خود در وضعیت شنای طبیعی، کاهش انقباض عضلانی دیده شده ولی ماهی هنوز به طور ضعیفی به تغییر وضعیت پاسخ می‌دهد.
۲	۲	تخدیر عمیق	توقف پاسخ به تغیرات وضعیت، کاهش تعداد تنفس به حد طبیعی، از دست دادن کامل تعادل دیده شده و ماهی هیچ تلاشی برای نگه داشتن خود در وضعیت شنای طبیعی انجام نمی‌دهد. انقباض عضلانی کاهش می‌یابد. برخی از واکنش‌ها به محرک‌های قوی ملامسه و ارتعاش دیده می‌شود. این مرحله برای نمونه‌برداری از سطح خارجی ماهی، بیوپسی باله و آبشش مناسب است.
۳	۱	بیهوشی سبک	از دست دادن کامل انقباض عضلانی، پاسخ به محرک‌های خیلی قوی و کاهش بیشتر تعداد تنفس دیده می‌شود. این مرحله برای انجام جراحی‌های کوچک مناسب است.
۳	۲	بیهوشی جراحی	از دست دادن کامل فعالیت، کاهش تعداد تنفس و ضربان قلب دیده می‌شود.
۴	–	ایست مغزی	از دست دادن کامل حرکات برانشی دیده شده و متعاقباً در چند دقیقه ایست قلبی اتفاق می‌افتد.

فاز برگشت از بیهوشی شامل مدت زمان اثر مصرف داروی بیهوشی و برگشتن به حالت عادی است. بهبود اولیه ممکن است از چند ثانیه تا چند دقیقه باشد، ولی در مجموع باید سریع و بدون تغییرات رفتاری یا سایر اثرهای جانبی باشد، هر چند معمولاً کمی لرزش عضلانی وجود خواهد داشت. روش‌های بیهوشی عمومی معمولاً با اختلال همه جانبه‌ی سیستم اعصاب مرکزی تولید شده در اثر عمل روی آکسون‌های عصبی، رهاسازی میانجی‌ها یا قدرت تحریک‌پذیری غشاها عمل می‌کنند.

از آنجا که ماهی‌ها دارای رفلکس استفراغ هستند، پیش از بیهوشی باید ۲۴ الی ۴۸ ساعت ناشتا باشند. از بروز استفراغ می‌توان در عملکرد آبشش‌ها اختلال ایجاد نماید.

حیوانات به تغییرات غیر عادی در محیط‌شان (استرس‌زاها) با اعمال حرکتی با واسطه‌ی عصبی و با آزاد کردن یک یا چند هورمون به داخل جریان خون به دنبال تحریکات عصبی اندام‌های غدد درون‌ریز، پاسخ می‌دهند. در ماهی و سایر مهره‌داران اعمال هورمونی با میانجی‌گری دستگاه آدرنرژیک و محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- داخلی کلیوی انجام می‌شود.

در قسمت جلویی کلیه ماهی بافت کروماتین واقع شده و به دنبال تحریکات عصبی، منبع ترشح کاته‌کولامین‌های آدرنالین و نورآدرنالین (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) است که به طور مستقیم به جریان خون می ریزند. هیپوتالاموس در کف مغز واقع شده و غده‌ی ظریف هیپوفیز به طور مستقیم به آن متصل است. هر دو ناحیه پوشیده از رشته‌های عصبی‌ای هستند که به مغز می‌روند. تعدادی از هورمون‌های مهم در این بافت‌ها تولید شده و هنگام نیاز به جریان خون رها می شوند. بسیاری از این

Archive of SID

www.SID.ir

هورمون‌ها اثرهای متابولیکی مستقیم دارند؛ ولی هورمون محرک آدرنال، هورمون‌های محرک غده‌ی فوق کلیوی، بر بافت بین کلیوی که همچنین در داخل کلیه نیز واقع شده، اثر می‌کند که در سنتز و در نتیجه رهاسازی بعدی هورمون‌های استروئیدی قوی‌تر، به ویژه کورتیزول مؤثر است.

ممنوعیت و محدودیت‌های ذکرشده استفاده از محرک‌های رشد و داروهای آنتی بیوتیکی علاقه به متابولیت های بیواکتیو، با منشاء گیاهی را افزایش داده‌اند. آنتی بیوتیک‌ها علاوه بر محدودیت‌هایی که برای مصرف آنها ذکر شد و به خاطر قیمت بالایشان هزینه‌های زیادی را به تولیدکننده تحمیل می-کنند. استفاده از عصاره‌های گیاهی در غذای ماهی به عنوان راهی برای کنترل عوامل بیماریزای ماهی که هزینه کمتری نسبت به آنتی بیوتیک‌ها داشته و سبب افزایش بقاء و در نهایت سبب افزایش تولید می‌شود مورد توجه و تاکید قرار می‌گیرد.

سنبل‌الطیب یا علف گربه با نام علمی (*Valeriana officinalis*)گیاهی است که بوته‌ای استوار و چندساله دارد و در اروپا و بخش‌هایی از آسیا می‌روید. دارای ریشه‌ای کوتاه و بوته‌ای با ارتفاع بین ۵۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر می‌باشد. ریشه این گیاه در طب سنتی ایران دارای ارزش دارویی است و از آن به عنوان آرام‌بخش اعصاب، خواب آور، ضد تشنج، درمان افسردگی، هضم کننده غذا و ضد دل‌پیچه استفاده می‌شود. قسمت مورد استفاده این گیاه ریشه آن است و معمولاً از ریشه گیاهی که بیش از سه سال عمر دارد استفاده می شود. سنبل الطیب پس از خشک شدن برنگ قهوه ای در می آید. طعم آن تلخ ولی خوشبو و معطر است.

گل محمدی با نام علمی (*Rosa damascene*) از مهم‌ترین انواع گل‌های رز در دنیا و از مشهورترین گیاهان در تاریخ باغبانی است. گلبرگ‌های گل محمدی اثر مُلَین دارد، از این رو، برای رفع یبوست کودکان، افراد مسن و بیماران (در دوران نقاهت) توصیه می شود. از روغن گلبرگ‌های آن در طب سنتی برای درمان روماتیسم، ناراحتی‌های خونی و گلودرد استفاده می‌شده است. همچنین برای نارسائی‌های دستگاه تنفسی، زخم دهان، بی‌خوابی و افسردگی استفاده می‌شود. از دیگر خواص گلبرگ‌های گل محمدی؛ ضداضطراب، ضداسپاسم، ضد باکتری و ویروس، تقویت کلیه و خون و ضد التهاب بودن را نیز می‌توان برشمرد.

بطور کلی وقتیکه یک ماهی تحت اثر عوامل استرس‌زا قرار می‌گیرد پیام تحریکی یا مهاری از طریق گیرنده‌های حسی و از طریق سلول‌های نوروترانسمیتری به مغز (هیپوتالاموس) منتقل شده سپس ماهی به دو طریق به این عامل استرس‌زا پاسخ می‌دهد:

الف- از طریق فعال شدن محور: H-P-I

ب- از طریق فعال شدن سیستم عصبی (محور هیپوتالاموس- اتونومیک – آدرنال «مدولا»)

www.SID.ir

کورتیزول در سازگاری ماهیان به آب شور و مقابله با استرس نقش دارد. در این زمان‌ها میزان ترشح هورمون کورتیزول به خون افزایش می‌یابد آدرنالین و نورآدرنالین که به آنها اپی نفرین و نوراپی نفرین هم گفته می‌شود، سبب تشدید ضربان قلب، افزایش فشار خون، افزایش فعالیت سیستم سمپاتیک (یعنی انبساط رگ‌ها و به تبع آن افزایش جریان خون در ماهیچه و کبد و آبشش‌ها: انقباض رگ‌ها و به تبع آن کاهش جریان خون در اندام‌های احشایی مثل لوله گوارش، پوست و ...) و افزایش قند خون از طریق تبدیل گلیکوژن به گلوکز آنها است.

یکی دیگر از شاخص‌های نشان دهنده استرس در ماهیان افزایش گلوکز خون است. غدد درون-ریز واقع در جزایر لانگرهانس لوزالمعده وظیفه تولید و کنترل گلوکز خون را بعهده دارند. جزایر لانگرهانس ماهیان استخوانی حقیقی دارای سه نوع سلول اصلی بنام‌های A, B, D است که بوسیله میکروسکوپ نوری قابل تشخیص است. سلول‌های A، هورمون گلوکاگون تولید وترشح می‌کنند. گلوکاگون سبب افزایش قند خون از طریق تبدیل گلیکوژن به گلوکز می‌شود. سلول‌های B، انسولین ترشح می‌کنند. انسولین سبب کاهش گلوکز خون می شود. سلول‌های D هورمون سوماتوستاتین (Somatostanin) ترشح می‌کنند. این هورمون از ترشح گلوکاگون و انسولین جلوگیری می‌کند.

تحت شرایط استرس زا، کاتکول آمین با تأثیر بر کبد سبب القاء گلیکولیز یا گلیکوننوژنزیز می-شود که این امر منجر به متابولیزه‌شدن گلوکز گشته و در نتیجه میزان گلوکز سرم افزایش می‌یابد. تغییرات در گلوکز مشابه تغییرات کورتیزول اما با تأخیر خاص است. هدف از این پژوهش مطالعه اثر عصاره‌های گیاهی در کاهش استرس ماهی و در نتیجه کاهش پاسخ های فیزیولوژیکی ماهی می باشد که در نهایت به کاهش تلفات و افزایش بهداشت عمومی ماهی می‌گردد. استفاده از عصاره های گیاهی در آرام بخشی ماهی می‌تواند جایگزین استفاده از مواد شمیایی همچون MS222 گردد زیرا این مواد هم باعث آلودگی زیست محیطی نمیگردند و هم در ماهی اثرات منفی همچون اثر بر روی برانش های ماهی نمی‌شوند.

۲- مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۲ در کارگاه پرورش ماهیان آبزی مشاور گیل در شهرستان فومن انجام گردید و ماهیان پس از ۸ هفته تغذیه با عصاره گیاهی در یک فاصله ۴۰ کیلومتری با تراکم ۱۰ عدد ماهی در هر بسته جابجایی توسط خودرو تا آزمایشگاه (به میزان۴۰ کیلومتر) جابجا شده و سپس در ۳ نوبت خونگیری انجام شد، خونگیری از ورید ساقه دمی با سرنگ هپارینه انجام شد.

مرحله اول- ذخیره سازی و سازگاری بچه ماهیان تعداد ۴۲۰ عدد بچه ماهی گرین‌ترور پس از زیست سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول) و تعیین بیومس (زیست توده) با میانگین وزنی

www.SID.ir

۱۰±۱۰۰گرم انتخاب به مدت ۱ هفته در استخرهای بتنی برای آرامش نگهداری شد و ۲۴ ساعت قبل از حمل و نقل غذادهی قطع گردید.

آزمایش در ۶ گروه و یک گروه شاهد صورت گرفت که هر تیمار ۳ تکرار دارد به صورت زیر:

گروه عصاره سنبل الطیب	تیمار با دوز ۱ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۲ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۳ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
گروه عصاره گل محمدی	تیمار با دوز ۱ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۲ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۳ میلی گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
گروه شاهد	غذای عادی بدون افزودن عصاره	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم

مرحله دوم – روش خون‌گیری و تهیه سرم

حجم خون برداشت شده فوراً به مقدار ۰/۵ سی‌سی از هر تکرار برای جداسازی سرم در لوله‌ی اپندروف ریخته و در ظروف حاوی یخ خشک به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه خون‌شناسی پس از سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق، سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های اپندرف تازه ریخته و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند.

مرحله سوم- شاخص‌های خونی

شمارش گلبولهای قرمز و سفید

برای انجام این امر از یک ملانژور یا پیپت رقیق‌کننده (دارای سنگ سفید) برای گلبول سفید و یک ملانژور (دارای سنگ قرمز) برای گلبول‌های قرمز استفاده گردید. بر اساس خاصیت لوله‌های مویینه، پیپت را تا درجه ۰/۵ از خون پر نموده و بقیه محفظه را تا درجه فوقانی (که برای گلبول‌های سفید ۱۱ و برای گلبول های قرمز ۱۰۱ می باشد) از محلول رقیق کننده Rees پر می کنیم. در مدت زمان ۵ دقیقه ملانژورها را برای مخلوط شدن خون با محلول های رقیق کننده در داخل دستگاه Shaker گذاشته و سپس ۴ قطره اولیه موجود در پیپت را دور ریخته، زیرا این قطرات رقت واقعی خون نمی باشند. جهت پر کردن محل شمارش لام نئوبار پیشرفته، نوک پیپت در محل تماس لام و لامل قرار داده شد تا محفظه‌های شمارش خود به خود با خاصیت موئینگی در سطح مدرج پر شوند. لام را زیر میکروسکوپ (عدسی ۴۰) گذاشته با تنظیم مربع مرکزی گلبول های قرمز و با تنظیم میکروسکوپ در چهار مربع کناری گلبول‌های سفید شمارش شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

$$RBC\ (N/mm^3) = (R_1+R_2+R_3+R_{4+}R_5) \times 5\times 10\times 200$$

رقت خون در محلول رقیق کننده = $\frac{1}{200}$ مساحت ۵ مربع (R) = $\frac{1}{5}$ میلی متر مربع

فاصله لام و لامل = ارتفاع هر مربع (R) = $\frac{1}{10}$ میلی متر مربع

$$WBC\ (N/mm^3) = \frac{W1+W2+W3+W4\times 20\times 10}{4}$$

رقت خون در محلول رقیق کننده = $\frac{1}{20}$ مساحت هر مربع (W) = ۱ میلی متر مربع

فاصله لام و لامل = ارتفاع هر مربع (W) = $\frac{1}{10}$ میلی متر مربع

۳- اندازه گیری هماتوکریت

برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. در این لوله آزمایش لوله‌های میکرو هماتوکریت را باخون حاوی هپارین پر نموده و انتهای لوله ها با استفاده از خمیر هماتوکریت مسدود شد. سپس لوله ها را داخل میکروسانتریفوژ(مدل D-78532 Tuttlingen ساخت شرکت Hettrich آلمان) گذاشته شده و به مدت زمان ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها به علت برخورداری از وزن مخصوص کمتر نسبت به گلبول قرمز به صورت لایه نازکی روی آنها قرار گرفته و با استفاده از خط‌کش مدرج دستگاه میزان هماتوکریت بر حسب درصد اندازه گرفته شد.

۴- اندازه‌گیری هموگلوبین

اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین به علت دقت، راحتی انجام کار و سهولت دسترسی به محلول استاندارد پایدار انجام گرفت. برای هر نمونه یک لوله آزمایش انتخاب و در آن ۵ میلی لیتر معرف درابکین ریخته شد. مقدار ۰/۰۲ میلی لیتر (۲۰میکرولیتر) خون کاملاً مخلوط شده را در هر لوله به معرف اضافه نموده و پیپت را ۳ تا ۵ دقیقه با معرف شستشو داده تا همه خون از پیپت وارد آن شود. آنگاه محلول را خوب تکان داده، سپس به مدت ۳ تا ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده تا سیان مت هموگلوبین تشکیل شود. جذب نوری مخلوط را در اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) و در طول موج ۵۴۰ نانومتر در برابر بلانک قرائت کرده و با استفاده از فرمول غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر محاسبه گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

۵- تعیین سایر اندیس‌های خونی

جهت محاسبه اندیس های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز(MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز(MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز(MCHC) از روابط زیر استفاده گردید(۸).

$$MCV = \frac{Hematocrit}{RBC(million/mm^3)} \times 10 \quad MCH = \frac{Hemoglobin(g/dcl)}{RBC(Million/mm^3)} \times 10$$

$$MCHC = \frac{Hemoglobin(g/dcl)}{Hematocrit} \times 100$$

آزمون دانکن به صورت جفتی بررسی گردید. با توجه به اینکه داده های مربوط گروهی از فاکتورهای خونی و بازماندگی و بررسی فاکتورهای رشد مورد بررسی با استفاده از آزمون Shapiro wilk توزیع نرمال نداشت از آزمون ناپارامتریک kurskal wallis جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف بین تیمارهای مورد بررسی استفاده شد و میزان این اختلاف با آزمون جفتی (من – ویتنی) بررسی گردید.

۶- نتایج آزمایشات خون شناسی

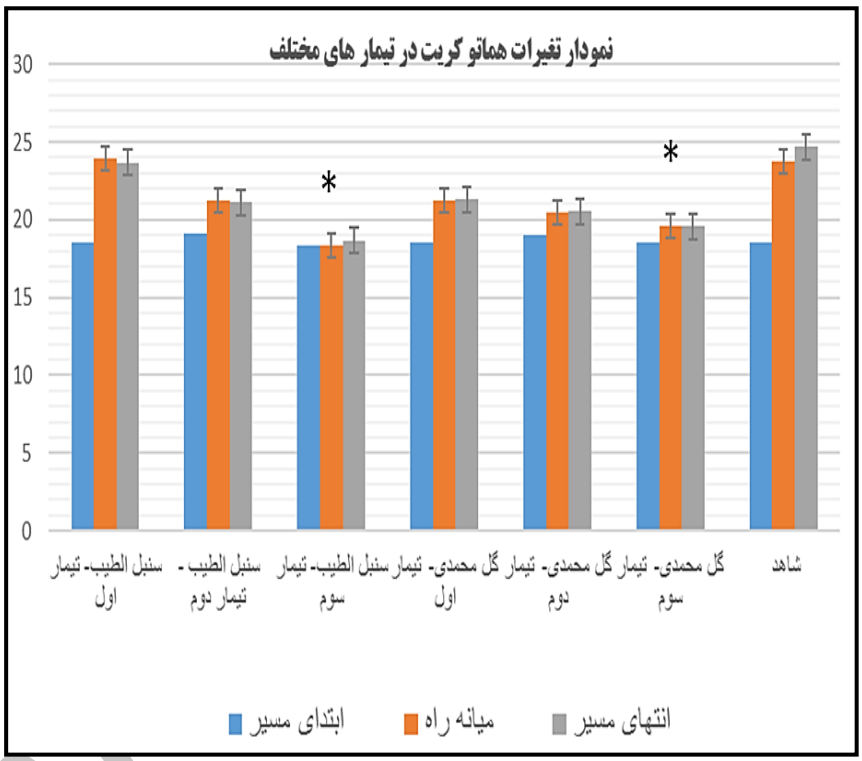
نتایج RBC بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) به منظور مقایسه میزان تعداد گلبول های قرمز در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش با شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P<0.05$). و بر اساس آزمون دانکن (Duncana) به منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها با یکدیگر میزان گلبول های قرمز خون ماهیان در تیمارهای مختلف در مسافت‌های مختلف نسبت به شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد($P<0.05$). همچنین بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) به منظور مقایسه متوسط حجم گلبول (MCV) در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با شاهد با توجه به افزایش اندک اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد($P<0.05$). همچنین بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) به منظور مقایسه متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCH) در خون بچه ماهیان بین غلظت‌های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت‌های مختلف با شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد($P<0.05$). همچنین با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (Oneway ANOVA) به منظور مقایسه متوسط غلظت هموگلوبین هر گلبول (MCH) در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با

Archive of SID

www.SID.ir

شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید($P<0.05$). به نتایج آماری به تفکیک به صورت زیر می‌باشد.

نمودار ۴-۱- تغییرات هماتوکریت در تیمارهای مختلف



با توجه به آزمون آماری (Kruskal-Wallis) به منظور مقایسه هماتوکریت خون بچه ماهیان بین غلظت‌های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0.05$). به طوری که در تیمار های نشانداده شده در نمودار به میزان معنی‌داری کمتر بود.

www.SID.ir

جدول ۴-۱- نتایج آزمایشات خون شناسی

تیمارها		فاکتورهای خونی	Hb (g/dl)	Hc (%)	RBC (106 cells/Al)	MCV (Am3)	MCH (pg/cell)	MCHC (g/dl)
سنبل الطیب	تیمار اول	شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۵۶ ± ۱/۲۹ a	۰/۹۷ ± ۰/۰۳ a	۱۹۱/۳۴ ± ۱۵/۰۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۷/۸۷ ± ۰/۰۳ a	۲۳/۹۱ ± ۱/۱۷ a	۰/۸۶ ± ۰/۰۲ a	۲۷۸/۰۲ ± ۱۴/۰۲ a	۷۵/۳۶ ± ۲/۸ a	۳۰/۹۵ ± ۰/۴۳ a
		انتهای حمل و نقل	۸/۱۱ ± ۰/۰۳ a	۲۳/۶۷ ± ۱/۵۶ a	۰/۸۹ ± ۰/۰۲ a	۲۳۶/۱۵ ± ۱۵/۰۴ a	۷۸/۴۱ ± ۲/۹ a	۳۱/۵۷ ± ۰/۴۴ a
	تیمار دوم	شروع حمل و نقل	۷/۱۱ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۵۶ ± ۱/۲۹ a	۰/۹۵ ± ۰/۰۱ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۱۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۷/۶۵ ± ۰/۰۷ a	۲۱/۲۲ ± ۰/۲۳ a	۰/۸۸ ± ۰/۰۴ a	۲۴۱/۱۳ ± ۱۴/۰۷ a	۷۹/۴۱ ± ۳/۷ a	۳۲/۱۱ ± ۰/۴۸ a
		انتهای حمل و نقل	۸/۳۳ ± ۰/۰۳ a	۲۱/۱۱ ± ۱/۳۳ a	۰/۹۱ ± ۰/۰۳ a	۲۳۱/۹۷ ± ۱۴/۱۳ a	۷۱/۴۵ ± ۳/۹ a	۳۲/۸۷ ± ۰/۴۱ a
	تیمار سوم	شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۳۴ ± ۱/۱۷ a	۰/۹۳ ± ۰/۰۱ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۱۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۶/۸۱ ± ۰/۱۳ a	۱۸/۳۴ ± ۱/۲۹ b	۰/۹۲ ± ۰/۰۳ a	۱۹۹/۳۴ ± ۱۴/۱ a	۷۷/۳۹ ± ۲/۵ a	۳۱/۵۷ ± ۰/۴۴ a
		انتهای حمل و نقل	۷/۶۳ ± ۰/۰۵ a	۱۸/۶۷ ± ۰/۸۷ b	۰/۹۵ ± ۰/۰۴ a	۱۹۶/۵۲ ± ۱۳/۱۳ a	۷۸/۴۵ ± ۳/۸ a	۳۲/۷۶ ± ۰/۴۱ a
گل محمدی	تیمار اول	شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۵۶ ± ۱/۲۹ a	۰/۸۹ ± ۰/۰۲ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۱۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۷/۱۱ ± ۰/۱۲ a	۲۱/۲۲ ± ۰/۳۴ a	۰/۹۱ ± ۰/۰۱ a	۲۳۳/۱۸ ± ۱۳/۲۲ a	۷۷/۴۹ ± ۲/۵ a	۳۲/۷۷ ± ۰/۴۷ a
		انتهای حمل و نقل	۷/۶۳ ± ۰/۰۵ a	۲۰/۵۳ ± ۱/۲۱ a	۰/۸۸ ± ۰/۰۲ a	۲۳۳/۲۹ ± ۱۴/۱۳ a	۸۱/۰۱ ± ۳/۲ a	۳۱/۸۸ ± ۰/۴۱ a
	تیمار دوم	شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۹/۰۱ ± ۱/۳۹ a	۰/۹۴ ± ۰/۰۳ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۲۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۷/۷۷ ± ۰/۰۸ a	۲۰/۴۴ ± ۰/۵۶ a	۰/۹ ± ۰/۰۲ a	۲۲۷/۱۱ ± ۱۳/۰۶ a	۷۷/۳۶ ± ۳/۴ a	۳۱/۴۳ ± ۰/۴۹ a
		انتهای حمل و نقل	۶/۸۹ ± ۰/۰۳ a	۱۹/۵۳ ± ۱/۱۸ a	۰/۸۸ ± ۰/۰۲ a	۲۲۱/۹۳ ± ۱۴/۰۳ a	۸۰/۱۶ ± ۲/۸ a	۳۰/۶۴ ± ۰/۴۴ a
	تیمار سوم	شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۵۶ ± ۱/۲۹ a	۰/۹۷ ± ۰/۰۳ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۱۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۶/۴۴ ± ۰/۰۳ a	۱۹/۵۷ ± ۱/۲۴ b	۰/۹۷ ± ۰/۰۴ a	۲۰۱/۷۵ ± ۱۵/۰۱ a	۸۰/۴۴ ± ۳/۷ a	۳۰/۲۳ ± ۰/۴۳ a
		انتهای حمل و نقل	۷/۵۱ ± ۰/۰۳ a	۱۹/۵۵ ± ۱/۶۵ b	۰/۹۷ ± ۰/۰۲ a	۲۰۱/۵۴ ± ۱۴/۱۴ a	۷۹/۳۹ ± ۳/۹ a	۳۱/۲۱ ± ۰/۳۹ a
شاهد		شروع حمل و نقل	۷/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۱۸/۴۹ ± ۱/۴۹ a	۰/۹۷ ± ۰/۰۱ a	۱۹۵/۳۶ ± ۱۴/۱۳ a	۷۶/۴۶ ± ۳/۹ a	۳۱/۹۷ ± ۰/۴۶ a
		میانه مسافت	۸/۳۴ ± ۰/۰۳ a	۲۳/۷۷ ± ۰/۶۴ a	۰/۹۷ ± ۰/۰۱ a	۲۴۵/۰۵ ± ۱۳/۱۸ a	۷۸/۳۸ ± ۳/۹ a	۳۲/۰۳ ± ۰/۴۲ a
		انتهای حمل و نقل	۸/۸۴ ± ۰/۰۳ a	۲۴/۶۷ ± ۱/۲۹ a	۰/۹۷ ± ۰/۰۴ a	۲۵۴/۳۲ ± ۱۴/۰۱ a	۷۸/۴۱ ± ۳/۹ a	۳۲/۵۵ ± ۰/۳۸ a

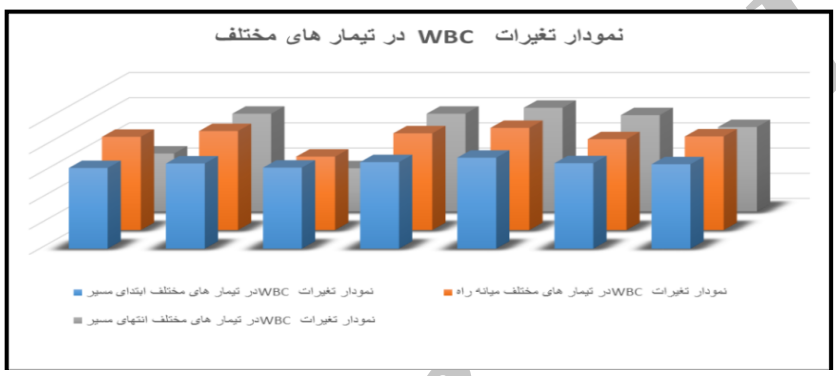
Archive of SID

www.SID.ir

۸- نتایج WBC

بر اساس آزمون آماری (Kruskal-Wallis) به منظور مقایسه میزان تعداد گلبول های سفید در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P<0.05$).

نمودار ۴-۲- تغییرات WBC در تیمارهای مختلف



در کنار این موضوع بسیاری از محققیق به بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای خونی و ایمنی در ماهیان پرداختند. در تحقیق انجام شده بر روی ماهی گرین ترور در طی دوره تغذیه (۸ هفته) به بررسی تغییرات برخی فاکتورهای مهم خونی و ایمنی نیز پرداخته شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که هر دو عصاره گیاهی که جهت آرامش به غذای ماهی اضافه شدند اختلاف معنی داری را در تعداد گلبول-های قرمز در خون بچه ماهیان نسبت به گروه شاهد نشان ندادند. همچنین حجم گلبول، متوسط غلظت هموگلوبین در دو گلبول MCH نیز نسبت به گروه شاهد و در طی دوره انتقال و زمان‌های مختلف اختلاف معنی داری از خود نشان نداده است. تنها مورد تغییر یافته میزان هاتوکریت بوده که در تیمارهای ۳ میلی‌گرم سنبل‌الطیب و گل‌سرخ نسبت به سایر گروه‌ها و شاهد اختلاف معنی‌دار از خود نشان داده است. در گروه شاهد در هنگام جابه جایی میزان هماتوکریت افزایش یافته که این افزایش می‌تواند به علت تنش و تمرکز خونی و اختلالات آبششی و تغییرات ایجاد شده در فعالیت اسمزی باشند. همچنین در تحقیق مشابه انجام شده روی سوف اوراسیایی میزان هماتوکریت در طی انتقال افزایش یافت. علت اصلی فیزیولوژیک تغییر میزان هماتوکریت را می توان در اثر افزایش در کارایی انتقال اکسیژن، افزایش نسبت هماتوکریت و تعداد گلبول های سرخ خون به وجود آمده است تفسیر نمود. تغذیه ماهی با میزان ۳ میلی گرم در لیتر از عصاره‌های گیاهی ضمن کاهش میزان کورتیزول و گلوکز در طی استرس ایجاد شده در طی حمل و نقل باعث گردید تا میزان هماتوکریت نیز اضافه نشود یعنی اینکه ماهی در حالت آرامش در طی

Archive
www.SID.ir

حمل و نقل و به دلیل عدم نیاز بیشتر به اکسیژن و عدم اختلال در تعادل اسمزی نیاز به افزایش میزان هماتوکریت ندارد. اما برخی تحقیقات انجام شده بخصوص در ایران نشان می‌دهد که با افزایش میزان عصاره‌های گیاهی شاخص های خونی مثبت شده و تغییرات زیادی نسبت به گروه شاهد در آنها دیده می‌شود. امیرخانی در سال ۱۳۹۰ تأثیر عصاره ریحان بر فاکتورهای خونی گونه کپور را مثبت دانسته و حاجی بگلو نیز عصاره‌های گیاهی ریحان، دارچین، برگ گردو و نعناع را بر فاکتورها خونی و ایمنی معنادار بیان کرده است. اما علت اصلی تفاوت در نتایج با تحقیق حاضر را باید در مواد مؤثره موجود در گیاه و تأثیرات فیزیولوژیک ایجاد شده و همچنین دز مصرفی اعلام نمود. شاید بتوان گفت استفاده از دزهای آرام بخش و پائین نتوانسته در میزان فاکتورهای خونی مؤثر باشد. نتایج حاصل از این تحقیق بر روی حمل و نقل گونه های تزئینی جزء مطالعات اولیه‌ای است که در کشور انجام شده و باید مطالعات بیشتری به منظور اطمینان از این موضوع انجام گیرد. از جمله این که با افزایش دز آیا پاسخ‌های بهتری در استرس و سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی بدست می آید؟

فهرست منابع

۱. **ستاری، م. شاهسونی، د. و شفیعی، ش، ۱۳۸۲**، ماهی شناسی (۲) سیستماتیک نشر حق شناس.۲۱۶ ص.

۲. **عبدا... مشائی، م.، ۱۳۸۶**. کاربردهای فیزیولوژی در پرورش ماهی. انتشارات دریاسر. ۸۴ ص.

۳. **معینی و همکاران**، بررسی دو روش بیهوشی با یخ و گل میخک و کشتار خارج از آب بر پاسخ استرس و برخی شاخص‌های کیفی ماهی کپور معمولی، نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۱۵۳-۱۶۲

۴. **سوداگر، م. ایمان پور، م. حسینی‌فر، ح. ۱۳۸۳**. تأثیر محرک رشد اپتیمون بر عوامل رشد و بازماندگی بچه فیل ماهیان مجله علوم و فنون دریایی ایران ۳ (۲-۳) ص ۳۸ – ۳۳

۵. **عامری مهابادی، م. ۱۳۸۷**. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران

6. **Cuvier-Pe´res, A., Kestemont, P., (2002)**. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae Perca fluviatilis. Fish Physiology and Biochemistry 24, 279–285.

7. **Davis, K. B. , Newsom, J. , Simco, B. , (1993).** Physiological stress in channel catfish harvested in lift net, vacuum Pump, or turbine pump. Jornal of Applied Aquaculture. 11:118-130.

8. **Krieger, J., Fleig, R., (1999).** Yolk mobilization in perch, Perca fluviatilis L., embryos. Fish Physiology and Biochemistry. 21: 157– 165. Lang, C., 1987. Mortality of perch, Perca fluviatilis L., estimated from the size and abundance of eggs strands. Journal of Fish Biology. 31: 715–720.

9. **Larsson, A., Haux, C., Sjo¨beck, M.L., (1985).** Fish Physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. Ecotoxicology and Environmental Safety. 9: 250– 281.

10. **McDonald, G., Milligan, L., (1997).** Ionic, Osmotic and Acid – Base Regulation in Stress. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P, Schreck, C.B. (Eds.), Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge Univeristy Press, Cambridge, U.K., 119–144.

Archive of SID

www.SID.ir