دو فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال سوم/ شماره ششم/ بهار و تابستان ۹۴/ صفحات ۷۰-۵۷

تأثیر عصاره‌های گیاهان سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) و گل محمدی (*Rosa damascene*) بر کاهش میزان استرس با تأکید بر میزان کورتیزل، گلوکز و لاکتات در برابر حمل ونقل در ماهی تزئینی گرین ترور(*Andinoacara rivulatus*)

صدف علی‌اکبرزاده*[۱]، مسعود فرخ روز[۲]، عباسعلی زمینی[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 نگه‌داری های کوتاه مدت تأثیر به سزایی دارد، در این بررسی ۶ گروه آمایشی 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 گونه ها تعیین بشود. مهمترین پاسخ در افزایش سه برابری در سطوح کورتیزول (حداکثر مقدار ۱۴۶ng/ml) 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 ۱۲۱ ng/ml پس از طی نمودن نیمی از مسافت انتقال) نتایج نشان می‌دهد که همانند ماهیان دیگر، مسافت و میزان تنش باعث پاسخ فیزیولوژیکی شد و با کاهش این استرس می‌توان میزان تلفات در انتقال را کاهش داد.

کلید واژه: حمل و نقل، عصاره گیاهی، ماهی گرین ترور، کورتیزول، گلوکز.

۱- گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران shell_k62@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.

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.

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 نمی شوند.

معرفی گونه گرین‌ترور(*Andinoacara rivulatus*) این ماهی دارای بدنه کشیده، سر بزرگ، پیشانی تقریباً برجسته، چشمهای نسبتاً بزرگ و باله های پشتی و دمی تقریباً طویل است. گرین ترور دارای رنگهای متنوع و زیبایی می باشد. نرها اصولاً از ماده‌های این گونه جذابتر و زیباتر هستند(۲). یکی از محاسن گرین ترور همه چیز خوار بودن آن است. این ماهی می‌تواند در آبی با ظرفیت ۴۰ لیتر هم زندگی کند اما بهتر است ظرفیت آب این ماهی بیشتر از ۱۵۰ لیتر باشد. نرها تا ۲۰ سانتیمتر رشد می‌کنند ولی ماده ها کوچکتر از مقدار ذکر شده می‌شوند. عمر این ماهی بین ۸ تا ۱۲ سال است که با شرایط خوب می‌تواند نهایت عمر خود را بنماید.گرین ترور نر در هنگام بلوغ در ۶ تا ۸ ماهگی دارای حبابی زیبا بر روی سر خودش میشه (مانند فلاور هورن نر) ولی ماهی ماده دارای سر معمولی است. ماهی نر معمولاً درشت هیکلتر و بزرگتر از ماهی ماده می‌باشد. مانند اسکار و بسیاری از سیکلیدهای دیگر در هنگام تخمریزی میتوان اندام تناسلی سوزنی شکل نرها و لوله ای شکل ماده‌ها را مشاهده کرد.

اغلب هر تحریکی که در حیوان ایجاد می شود، سبب ایجاد یک یا چند تغییر فیزیولوژیک و رفتاری می–شود. برخی از اینها، پاسخ‌های عادی در برابر تغییرات ایجاد شده در شرایط محیط یا وضعیت حیوان‌اند. در حالی که برخی دیگر از این محدوده‌ی عادی فراترند و در مجموع به عنوان "استرس" در نظر گرفته می‌شوند. استرس در حقیقت به عنوان وضعیتی ناشی از شرایط محیطی که حیات را تهدید می کند، تعریف می شود. 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 می‌آورند، همگی به عنوان استرس‌زاها نامیده می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

باید ذکر شود که همه ی روش های بیهوشی و تسکین، خودشان عوارض جانبی ای ایجاد می‌کنند که ممکن است مورد خواست ما نباشد. هنگامی که القای بیهوشی آرام باشد، یک توالی مراحل بیهوشی را می توان مشاهده کرد. این مراحل در بیشتر حیوانات اتفاق می افتد، اما نخستین بار در ماهی توسط مک فارلند در سال ۱۹۵۹ بیان شد. اساس طرح توصیفی وی در جدول ۱ خلاصه شده است و می‌توان مشاهده کرد که ماده‌ی بیهوشی می تواند بر حسب ترکیب مقدار غلظت دارو و مدت زمان مواجه با دارو، سبب تسکین، بیهوشی جراحی یا مرگ شود.

جدول ۱-۱- مراحل بیهوشی در ماهی

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 بر می‌گردد).
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 دست‌دادن 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 دست‌دادن 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

Archive of SID

www.SID.ir

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 درون ریز، 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 می روند. تعدادی از هورمون‌های مهم در این بافت‌ها تولید شده و هنگام نیاز به جریان خون رها می‌شوند(۴). بسیاری از این 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 ذکر شده استفاده از محرک‌های رشد و داروهای آنتی بیوتیکی علاقه به متابولیت‌های بیواکتیو، با منشاء گیاهی را افزایش داده‌اند. آنتی‌بیوتیک ها علاوه بر محدودیت‌هایی که برای مصرف آنها ذکر شد و به خاطر قیمت بالایشان هزینه‌های زیادی را به تولیدکننده تحمیل می‌کنند. استفاده از عصاره های 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 می-شود مورد توجه و تأکید قرار می‌گیرد.

سنبل الطیب یا علف گربه با نام علمی ***Valeriana officinalis*** گیاهی است که بوته ای استوار و چندساله دارد و در اروپا و بخش‌هایی از آسیا می‌روید. دارای ریشه‌ای کوتاه و بوته‌ای با ارتفاع بین ۵۰ تا ۱۵۰ سانتی متر 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. سنبل‌الطیب پس از خشک‌شدن برنگ قهوه‌ای در می‌آید. طعم آن تلخ

Archive of SID

www.SID.ir

ولی خوشبو و معطر است.

گل‌محمدی با نام علمی ***Rosa damascene*** از مهم‌ترین انواع گل‌های رز در دنیا و از مشهورترین گیاهان در تاریخ باغبانی است. گلبرگ‌های گل‌محمدی اثر مُلَین دارد، از این رو، برای رفع یبوست کودکان، افراد مسن و بیماران (در دوران نقاهت) توصیه می‌شود. 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 استرس زا پاسخ می‌دهد:

۲- از طریق فعال شدن محور: *H-P-I*

۲-۱- از طریق فعال‌شدن سیستم عصبی (محور هیپوتالاموس- اتونومیک – آدرنال «مدولا»)

کورتیزول در سازگاری ماهیان به آب شور و مقابله با استرس نقش دارد. در این زمان ها میزان ترشح هورمون کورتیزول به خون افزایش می یابد آدرنالین و نورآدرنالین که به آنها اپی نفرین و نوراپی نفرین هم گفته می شود، 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 آبشش ها: انقباض رگ ها و به تبع آن کاهش جریان خون در اندم های احشایی مثل لوله گوارش، پوست و...) و افزایش قند خون از طریق تبدیل گلیکوژن به گلوکز آنها است.

۳- 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.

یکی دیگر از شاخص‌های نشان‌دهنده استرس در ماهیان افزایش گلوکز خون است. غدد درون‌ریز واقع در جزایر لانگرهانس لوزالمعده وظیفه تولید و کنترل گلوکز خون را بعهده دارند. جزایر

Archive of SID

www.SID.ir

لانگرهانس ماهیان استخوانی حقیقی دارای سه نوع سلول اصلی بنام‌های A, B, D است که بوسیله میکروسکوپ نوری قابل تشخیص است. سلول های A، هورمون گلوکاگون تولید وترشح می کنند. گلوکاگون سبب افزایش قند خون از طریق تبدیل گلیکوژن به گلوکز می شود. سلول های B، انسولین ترشح می‌کنند. انسولین سبب کاهش گلوکز خون می‌شود. سلول‌های D هورمون سوماتوستاتین (Somatostanin) ترشح می‌کنند. این هورمون از ترشح گلوکاگون و انسولین جلوگیری می‌کند. تحت شرایط استرس زا، کاتکول آمین با تاثیر بر کبد سبب القاء گلیکولیز یا گلیکونئوژنزیز می‌شود 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.

مرحله اول- ذخیره‌سازی و سازگاری بچه ماهیان

تعداد ۴۲۰ عدد بچه ماهی گرین‌ترور پس از زیست‌سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول) و تعیین بیومس (زیست توده) با میانگین وزنی 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 شامل ۳ تکرار دارد به صورت زیر بود:

	تیمار با دوز ۱ میلی‌گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
گروه عصاره سنبل الطیب	تیمار با دوز ۲ میلی‌گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۳ میلی‌گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۱ میلی‌گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
گروه عصاره گل محمدی	تیمار با دوز ۲ میلی‌گرم در هر لیتر	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
	تیمار با دوز ۳ میلی‌گرم 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

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱: نحوه خونگیری، تهیه سرم خون وخون هپارینه

مرحله سوم- شاخص‌های استرس

اندازه گیری مقدار کورتیزول اندازه گیری هورمون *Cortisol* با واحد نانو گرم در میلی لیتر با روش *Radioimmunoassay* براساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در نمونه سرم با هورمون نشاندار شده با ید رادیو اکتیو ۱۲۵ جهت اتصال به آنتی بادی ضد هورمون در فاز جامد می باشد. پرتودهی حاصل از این اتصال با گاماکانتر *LKB* ساخت فنلاند اندازه گیری شده است. میزان پرتو دهی در این واکنش ها با غلظت هورمون موجود در سرم نسبت معکوس دارد. برای کالیبر کردن و کنترل تست ها ی فوق از استانداردها و کنترل تجارتی استفاده شده است.

اندازه گیری مقدار گلوکز تست گلوکز بر اساس واکنش رنگ سنجی با اتوآنالایزر *Biotecnica* ساخت ایتالیا و با واحد (میلی گرم بر دسی لیتر) سنجش شده است. از کالیبراتور و کنترل های تجارتی برای صحت و دقت روش فوق استفاده شده است.

مرحله چهارم- تجزیه وتحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه *SPSS* و *EXCEL* استفاده گردید. جهت بررسی توزیع نرمال بودن داده ها از آزمون *Shapiro – wilk* استفاده شد. فاکتورهایی که توزیع نرمال داشتند جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف آزمون آنالیز واریانس یکطرفه *one – way ANOVA* استفاده گردید در صورت مشاهده اختلاف جهت بررسی مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن به صورت جفتی بررسی گردید. با توجه به اینکه داده‌های 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.

۴- نتایج

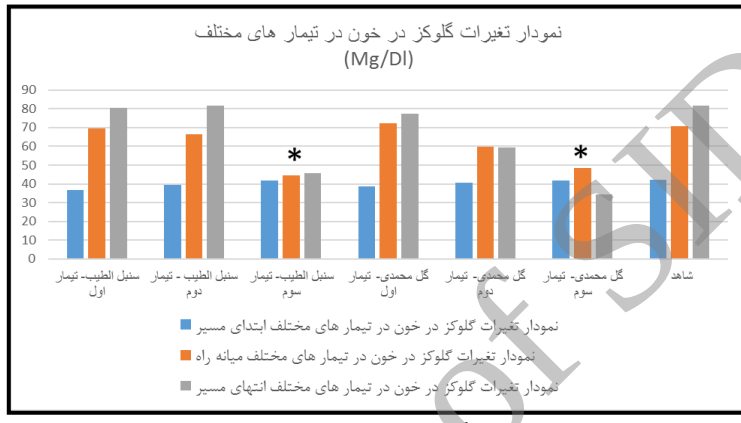
نتایج حاصل از وزن ماهیان گرین ترور قبل از آداپتاسیون ماهیان از نظر وزنی مورد سنجش قرار گرفتن و اختلافی بین تیمارها از لحاظ وزنی را بر اساس آزمون من – ویتنی نشان نمی‌دهد. و تقریباً

Archive of SID

www.SID.ir

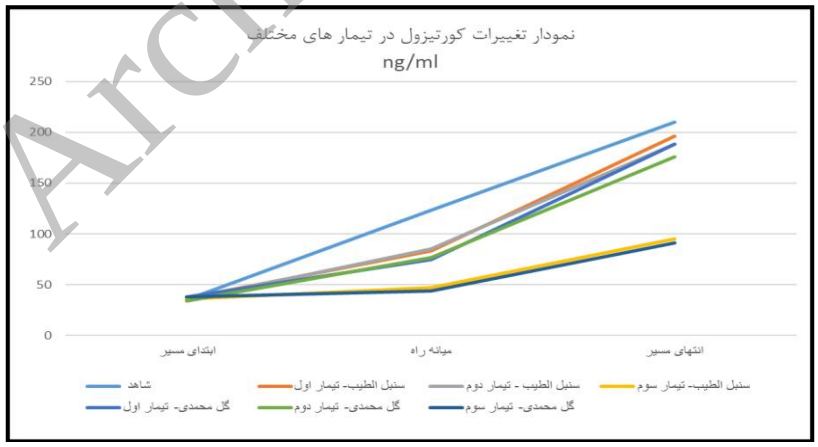
تمام آنها دارای توزیع وزنی یکسانی(۱۰±۱۰۰) می‌باشند.

گلوکز بر اساس آزمون آماری (*Kruskal-Wallis*) به منظور مقایسه میزان گلوکز در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($P<0.05$) که در نمودار زیر می‌توان آن را مشاهده نمود.



نمودار- تغییرات گلوکز در خون ماهیان در تیمارهای مختلف

کورتیزول بر اساس آزمون آماری (*Kruskal-Wallis*) بمنظور مقایسه میزان کورتیزول در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت های مختلف با شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد($P<0.05$) که در نمودار زیر می‌توان آن را مشاهده نمود. به طوری که در دو تیمار سنبل الطیب و گل محمدی که با رنگ‌های نارنجی و آبی در نمودار دیده می‌شود با باقی تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشت($P<0.05$).

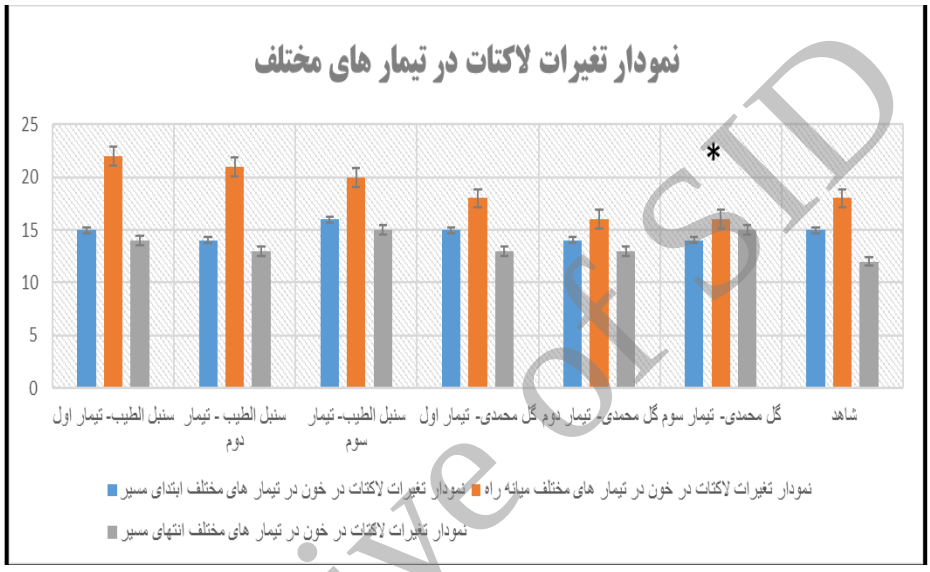


نمودار۲: تغییرات کورتیزول در تیمارهای مختلف

Archive of SID

www.SID.ir

لاکتات بر اساس آزمون آماری *(Kruskal-Wallis)* به منظور مقایسه میزان لاکتات در خون بچه ماهیان بین غلظت های مختلف عصاره های گیاهی جهت آرامش در مسافت‌های مختلف با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد($P<0.05$) و به صورت معنی‌داری این میزان کاهش می‌یابد که در نمودار زیر می‌توان آن را مشاهده نمود.



نمودار۳: تغییرات لاکتات در تیمارهای مختلف

۵- بحث و نتیجه گیری

استرس بهم خوردن هومئوستازی بدن تحت تأثیر محرک خارجی تعریف شده است و اولین مرحله پاسخ به استرس تغییر در سیستم غدد درون‌ریز است.

تحت شرایط استرسی، *ACTH* مترشحه از هیپوتالاموس به قسمت قدامی کلیه وارد و با تحریک سلولهای بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌شود. میزان کورتیزول خون ماهی گرین ترور در حالت قبل از آزمایش در حالت بیحال و پایه تقریباً زیر ۵۰ ng/ml در شرایط آزمایشگاهی بود که این میزان در دامنه بالای سطوح کورتیزول پایه در ماهیان قرار دارد. به عنوان مقایسه سطح پایه در ماهی قزل آلا رنگین کمان ۱/۷ ng/ml و در ماهی کپور معمولی ۷/۴ ng/ml می باشد. یا در گونه کولی سر طلائی *S.aurata* میزان ۲۰ ng/ml و ماهی سرخ فلس *Pagrus pagrus* میزان کورتیزول پایه ۶ ng/ml می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

بالا بودن میزان کورتیزول پایه نسبت به گونه های آب شیرین و شور را باید در واکنش به پالس‌های هورمون آدرنوکورتیکوتروفیک ACTH اثبات نمود میزان سطح پایه بالای کورتیزول شباهت زیادی را با گونه سوف اوراسیایی *P.fluriatilis* و باس دریائی نشان می‌دهد.

ماهیان پس از قرار گرفتن در برابر شرایط استرس زا حمل و نقل بشدت افزایش در میزان کورتیزول را از خود نشان دادند. گروه شاهد با قرار گرفتن در مسیر حمل نقل میزان کورتیزول آن در میانه راه حدود ۱۵۰ ng/ml و در پایان مسیر بیشتر از ۲۰۰ ng/ml رسیده که نشان از ایجاد حالت تنش شدید در ماهی و آسیب پذیر بودن ماهی نسبت به عامل تنش‌زا بوده است.

در مقایسه با کارهای مشابه انجام شده گونه سوف اوراسیائی ۱۵–۳۰ دقیقه پس از حمل و نقل افزایش سریع یافته کورتیزول تا ۳ برابر مقدار اولیه مشاهده شد و میزان کورتیزول را به ۱۵۰ ng/ml رساند و این در حالی است که نتایج سایر تحقیقات مشابه نیز افزایش سه تا چهار برابری تا میزان ng/ml ۳۰–۳۵ پس از جابجایی در سوف زرد افزایش ۳/۵ برابری کورتیزول تا ۴۰۰ ng/ml در گونه ماهی خاردار *morones axatilis* از خود نشان داده است.

بسته به مقاومت ماهی میزان استرس ایجاد شده حتی می تواند بیشتر از این باشد. علت ایجاد تنش در میزان ترشح کورتیزول تأثیر فراوانی دارد. نتایج ذکر شده فوق در حمل و نقل بوده در حالیکه مواجهه با هوای آزاد باعث افزایش ۵۰ برابری کورتیزول در گونه *S.aurata* کولی سرطلایی شد.

در ماهی سفید میزان کورتیزول در سهم خون از ۴۸۰ ng/ml در ابتدا در تور تا ۱۷۶/۵ ng/ml در زمان ۳۰ دقیقه اضافه شده و در پایان حمل تا ۸۰۱ ng/ml افزایش یافته است.

نتایج فوق بیانگر این موضوع که ماهیان در حین نقل و انتقال بعلت دستکاری – اینرسی خودرو، سرو صدا و موانع شرایط تراکم کمبود اکسیژن و سایر تغییرات ایجاد شده بیشترین استرس به آنها وارد می‌شود و به طور متوسط ۷ روز طول می کشد تا ماهی از حالت استرس ایجاد شده خارج شود.

Molinero بیان نمود کع افزایش در کورتیزول خود بعد از ۳۰–۱۵ دقیقه پس از جابجایی شروع شده و افزایش سریع تا ۴ ساعت هم مشاهده می شود و این میزان بسته به نوع گونه بین ۷ تا ۱۴ روز در خون ماهی باقی می ماند.

در نتایج تحقیق حاصله افزودن عصاره‌های گیاهی در تیمارهای تحت بررسی در تیمار سوم هر دو عصاره گیاهی ۳۱ میلی گرم در لیتر سنبل الطیب و گل سرخ باعث گردید که میزان افزایش کورتیزول تنها یک برابر اضافه شد و این در حالی است که در میانه راه (۳۰–۱۵ دقیقه پس از جابجائی) هیچ‌گونه افزایش نداشته و تنها در پایان مسیر به نزدیک ۱۰۰ ng/ml رسیده است. کاربرد آرام بخشی و ضد تنشی عصاره سنبل الطیب و گل سرخ به خوبی تأثیر خود را بر میزان افزایش کورتیزول در مقایسه با گروه شاهد نشان داده است.

Archive of SID

www.SID.ir

تحت شرایط استرس زا، کاتکولامین با تأثیر بر کبد سبب القاء گلیکولیز یا گلیکوئوژنزیز می شود که این امر منجر به متابلیزه شده گلوکز و در نتیجه میزان گلیکوز سوم افزایش می‌یابد.

در خصوص پاسخ های ثانویه مقادیر گلوکز پلاسها و لاکتاب، پاسخ نمونه کاتابولسی در گونه گرین-ترور، پس از اعمال تنش انتقال از خود به نمایش گذاشتند و در نتیجه منابع انرژی اضافی تأمین شد که ماهی را قادر می سازد تا بر وضعیت اختلال غلبه کند. تغییرات در متابولیسم گلوکز پاسخ مشترکی به تنش ایجاد می شود. در گروه شاهد در ابتدای آزمایش میزان گلوکز حدود mg/nl ۴۰ و در سایر تیمارها نیز در همین محدوده بوده است اما با قرار گرفتن در مسیر بر میزان گلوکز اضافه شده و در پایان دوره انتقال در گروه شاهد به حدود mg/nl ۸۰ رسیده است. همچنین میزان لاکتات خون در گروه شاهد mg/nl ۱۵ بوده که تا پایان حمل و نقل اختلاف معنی داری در میزان آن ایجاد نشد.

در تحقیق مشابه که در elasert, 2003 در ماهی سوف اوراسیای ***P.fluviatilis*** انجام داده تغییر در متابولیسم گلوکز پاسخ مشترکی بود که در مواجهه با تنش حمل و نقل ایجاد شد.

نیکو و همکاران در سال ۱۳۸۶ بیان نمودند که میزان گلوکز از ۲/۷ میلی مول در لیتر به ۶/۳۴ میلی-مول در لیتر افزایش یافته از خود نشان می‌دهد که این میزان در پایان حمل و نقل ماهی بیانگر تفاوت معنی دار در میزان گلوکز خون است. در کپور معمولی دستکاری و نقل و انتقال سبب افزایش گلوکز خون از ۴/۴۲ میلی مول در لیتر به ۷/۲۴ میلی مول در لیتر رسید و ۶۳٪ افزایش از خون نشان دارد (Svabodava, 1999). در قزل آلا رنگین کمان زمان ۱۰ دقیقه پس از جابجایی میزان گلوکز از ۲۶/۲۳ میلی مول به ۵۸/۵۳ رسید (Kudulay, 2002).

در مورد مقادیر لاکتات در ماهی سوف اوراسیایی در تحقیق (Elasert, 2003) بروی سوف اوراسیایی پس از انتقال تغییر معناداری مشاهده شد که می توان این موضوع را به علت سطح پایین فعالیت مشاهده شده ماهی در طول زمان انتقال نسبت داد که با نتایج این تحقیق همسوئی دارد.

اما در ماهی خاردار راه راه ***M.saxatilis*** پس از ۵ دقیقه باعث اسیدی شدن معنادار خود در ماهی شد(Rotllant and Tort, 1997) یا در ماهی کولی سرطلائی ***S.aurata*** باعث افزایش اسیدی شدن لاکتات پلاسما شد(معینی، ۱۳۹۰). در یک نتیجه گیری در خصوص لاکتات و تغییرات ایجاد شده می توان عنوان نمود که شاید ماهی باید مدت زمان طولانی‌تری در رابطه با این نوع عامل تنش قرار گیرد تا پاسخ مربوط به لاکتات را از خود نشان دهد. یا به احتمال قوی تر پاسخ رفتاری در تنش درجه بالای فعالیت عضلانی تنشی ندارد زیرا هیچ یک از تغییرات معنادار پس از انتقال نمونه ها مشاهده نشد.

استفاده از عصاره گیاهی باعث شد تا در تیمار سوم (۳ میلی گرم در لیتر) عصاره تغییر زیادی در میزان گلوکز ایجاد شود و میزان تغییرات در بین جابجایی و انتهای دوره معنادار شود و این بدان معنی

Archive of SID

www.SID.ir

است که اثر ضد استرسی و عصاره فوق بر میزان گلوکز قابل اثبات می‌باشد. اما عصاره گیاهی اضافه شده نتوانستند تأثیر معنادار در لاکتات داشته باشند .

چون لاکتات در گروه شاهد و در دوره حمل و نقل تغییر چندانی از خود نشان نداد.

تأثیرات گیاهان داروئی یا عصاره های حاصل از آنها بر فعالیت‌های ضد باکتریایی مشخص است. ترکیبات موجود در گیاهان داروئی از قبیل فنول‌ها، پلی‌ساکاریدها، پروتوگلیکان و فلاوونوئیدها نقش مهمی را در کنترل بیماری ها دارند اما از سوی دیگر ترکیبات گیاهی توانائی جلوگیری از تولید اکسیدان‌ها و از بین بردن رادیکال‌های آزاد را دارند و بنابراین اثرات بر کاهش استرس در ماهیان دارند (Citarasu et al., 2002).

اما بیشتر تحقیقات انجام شده بر روی اثرات ضد باکتریایی و افزایش اشتها و سنتز پروتئین در آبزیان بوده (Citarasu et al., 2002) در ایران نگاه بر روی ماهیان بروی همین موضوع بوده است.

بعنوان مثال عصاره گل سرخ را بر روی رشد ماهی گوپی مورد مطالعه قرار دادند و نتایج بیانگر افزایش معنی دار در رشد ماهی گوپی بوده است (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳).

با توجه به نتایج حاصل از تغییرات کورتیزول، گلوکز و هماتوکریت در طی دوره انتقال (میان دوره و پایان دوره) می توان بیان نمود که استفاده از عصاره های گیاهی سنبل الطیب و گل سرخ که هر دو به عنوان داروهای آرام بخش و ضد استرس هستند در میزان ۳ میلی گرم در لیتر پس از ۸ هفته تغذیه می-تواند باعث کاهش استرس در هنگام و پایان حمل و نقل باشد و از آنجائیکه حمل و نقل ماهیان زینتی یکی از مهمترین دلائل تلفات و ایجاد بیماری می باشند با اضافه کردن عصاره های فوق از میزان تلفات ۲۰ درصد موجود در حمل و نقل ماهیان زینتی کم نموده اگرچه از ۳ درصد حتمی نبوده و شاید با تحقیقات بیشتر در مقادیر بالاتر نتایج بهتری هم حاصل شود ولی این تحقیقات بیانگر ارزش قابل استفاده میزان ۳٪ می‌باشد.

فهرست منابع

۱- **بهمنی م. ;پوردهقانی م. ; کاظمی ر. ; شناور ماسوله ع. ر. ; یوسفی جوردهی ا. وجلیل** پور ج. **(۱۳۸۱)**. بررسی مقایسه ای فاکتورهای هماتولوژی مولدین تاس ماهی ایرانی ***cipencer persicus*** دریایی وپرورشی. پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران- تهران. س.

۲- **ستاری، م. شاهسونی، د. و شفیعی، ش.(۱۳۸۲)**، ماهی شناسی (۲). سیستماتیک نشر حق شناس. ۵۰۲ صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

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

۴- **عبدا... مشائی، م.، (۱۳۸۶).** کاربردهای فیزیولوژی در پرورش ماهی. انتشارات دریاسر. ۱۲۸ ص.

۵- **معینی و همکاران، (۱۳۹۰).** 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، صفحات ۱۵۳-۱۶۲

۶- **نعمت‌اللهی، محمدعلی، (۱۳۸۹).** پاسخ به اسارت در تور در ماهی کپور معمولی (Cyprinuscarpiol.)، نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۳، شماره ۱، صفحات ۳۹-۴۷.

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

8- **Barton, B., (2002).** Stress in fishes: a diversity with particular reference in changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology 42, 517– 525.

9- **Barton, B., Iwama, G., (1991)**. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases 1, 3 –26.

10- **Davis, K. B. , Newsom, J. , Simco, B. , (1993)**. Physiological stress in channel catfish harvested in lift net, vacuum Pump, or turbine pump. J. Appl. Aquacult. 3, 297– 309 .

11- **Molinero, A., Go´mez, E., Balasch, J., Tort, L., (1997).** Stress in fish removal in the gilthead sea bream, Sparus aurata: a time course study on the remaining fish in the same tank. Journal of Applied Aquaculture 7 (2), 1– 12.

12- **Rotllant, J., Tort, L., (1997).** Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. Journal of Fish Biology 51, 21– 28.

13- **Sjo¨beck, M.L., Haux, C., Larsson, A., Lithner, G., (1984)**. Biochemical and hematological studies on perch, Perca fluviatilis, from the cadmium-contaminated river Eman. Ecotoxicology and Environmental Safety 8 (3), 303– 312.

14- **Sures, B., (2002).** Competition for minerals between Acanthocephalus Lucii and its definitive host perch (Perca fluviatilis). International Journal for parasitology 32, 1117-1122.

Archive of SID

www.SID.ir

15- **Tort, L., Go'mez, E., Montero, D., Sunyer, O., (1996).** Serum hemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocometence: their suitability in stress and dietary studies. Aquaculture International 4, 31-41.
16- **Wedemeyer, G. A. , mcleay, D. J. , (1981).** Methods for determining the tolerance of fishes to environmental Stressors. In: Pickering, A. D. (Ed.), Stress and Fish. Academic Press, New York, NY, pp. 247– 275 .

Archive of SID

www.SID.ir