بررسی اثرات تراکمهای مختلف ذخیره سازی بر روی سطوح کورتیزول تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

علیرضا حسنعلی پور اربوسرا*[۱]، محمود بهمنی[۲]، وحید یاوری[۱]، محمود محسنی[۲]، رضوان اله کاظمی[۲]، حسین پاشا زانوسی[۱] و وحید مرشدی[۱]

[۱] خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده منابع طبیعی دریا، گروه شیلات

[۲] رشت، موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۳۰

چکیده

به منظور ارزیابی اثرات استرس تراکم در تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) تعداد ۹۰ قطعه ماهی دو ساله با میانگین وزن ۳۰ ± ۳۴۲ گرم و طول ۱ ± ۴۵/۳ سانتیمتر در سه تیمار شامل تراکم پایین (۶ عدد ماهی)، متوسط (۱۲ عدد ماهی) و بالا (۱۸ عدد ماهی) طی یک دوره پرورشی ۵ ماهه مورد مطالعه قرار گرفتند. شرایط آزمایش غیر از تراکم ماهیان برای تیمارها یکسان در نظر گرفته شد. در پایان هر ماه از هر یک از تیمارها خونگیری به عمل آمد و نمونه های خون بلافاصله سانتریفیوژ شده و سرمهای جداسازی شده برای انجام آنالیز به آزمایشگاه منتقل شدند. نتایج حاصل حاکی از عدم معنی دار بودن اثر متقابل تراکم و زمان بر سطوح کورتیزول سرم خون بود ($P>0/05$). به طوری که در آنالیز جداگانه هر کدام از عوامل تأثیرگذار آزمایش (تراکم و زمان) بر میزان کورتیزول، تغییرات معنی دار تنها در واکنش به زمان و آن هم فقط در ماه مرداد مشاهده شد ($P<0/05$). سطوح کورتیزول در ماههای تیر، مرداد، مهر و آبان به ترتیب ng/ml ۱/۸۴±۴/۶۸، ۴/۴±۲۳/۲۲، ۱/۶۶±۳/۹۸ و ۲/۵۳±۱۱/۸ اندازه گیری شد. میانگین کورتیزول در تراکمهای ۶، ۱۲ و ۱۸ به ترتیب ng/ml ۳/۵۹±۷/۷۶، ۲/۷۸±۱۲/۹۴ و ۳/۷۲±۱۰/۷۶ بدست آمد که در هیچ کدام از تراکمها تفاوت معنی دار مشاهده نشد ($P>0/05$). در این بررسی که اثرات استرس تراکم پرورش در گونه تاسماهی سیبری (در شرایط پرورشی ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت، با توجه به عدم نوسانات معنی دار سطح کورتیزول، مشخص شد که در شرایط پرورشی تراکم به عنوان عامل استرس زا در گونه تاسماهی سیبری مطرح نمی باشد.

واژه های کلیدی: استرس، تراکم ذخیره، کورتیزول، تاسماهی سیبری، *Acipenser baeri*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۴۱۸۶۵۲، پست الکترونیکی: alirezahasanalipour@gmail.com

مقدمه

یکی از مسائل عمده در آبزی پروری استرس است. ماهیان مکرراً در معرض عوامل استرس زا هم در محیط طبیعی و هم در شرایط پرورشی قرار دارند (۷). در سیستمهای پرورشی با مدیریت مطلوب، استرس حاد کشنده به ندرت اتفاق می افتد در حالی که استرس مزمن ممکن است که مسبب بسیاری از مشکلات نظیر افزایش حساسیت به بیماری، افزایش سرعت متابولیک و مصرف انرژی، کاهش میزان رشد، اختلال در سیستم ایمنی و ممانعت از رسیدگی گناد و یا تخم ریزی باشد (۲۷). در آبزی پروری، تراکم ذخیره از جنبه ایجاد استرس مزمن مورد توجه قرار گرفته و از نظر فیزیولوژیکی باعث ایجاد استرس در ماهیان می شود، پس شناخت نوع عکس العمل ماهیان در برابر این نوع استرس به مدیریت بهتر آن کمک می کند (۸). از آنجایی که تراکم بهینه با توجه به سن، اندازه و عوامل خارجی نظیر دبی آب، درجه حرارت و میزان غذادهی از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است باید در هر گونه ماهی

Archive of SID
www.SID.ir

به صورت جداگانه تعریف شود (۳۲). تأثیر تراکم به عنوان یک عامل استرس زا در بسیاری از گونه های ماهیان استخوانی نظیر تیلاپیای نیل (۳۵)، زبرافیش(۲۹)، فلاندر ژاپنی (۹)، قزل آلای رنگین کمان (۲۴) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است ولی در تاسماهیان تنها می توان به مطالعات انجام شده بر روی تاسماهی پوزه کوتاه (۳۳) و تاسماهی آدریاتیک (۱۰) اشاره نمود. مطالعات انجام گرفته در رابطه با ماهیان خاویاری ایران عمدتاً به موضوعاتی نظیر تولیدمثل و تکثیر مصنوعی (۱ و ۲)، رشد (۳) و شاخصهای خونی (۴) مرتبط است. عمده تحقیقات مرتبط با استرس در تاسماهیان نیز به مطالعات بهمنی بر روی تاسماهی ایرانی (۱) بر می گردد. تاکنون تحقیقی در زمینه اثرات استرس زایی تراکم پرورشی به ویژه در گونه تاسماهی سیبری انجام نشده است.

کورتیزول درمطالعات استرس ماهیان، به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد و به عنوان شاخص استاندارد استرس هم در ماهیان استخوانی و هم خاویاری است (۷ و ۲۳).

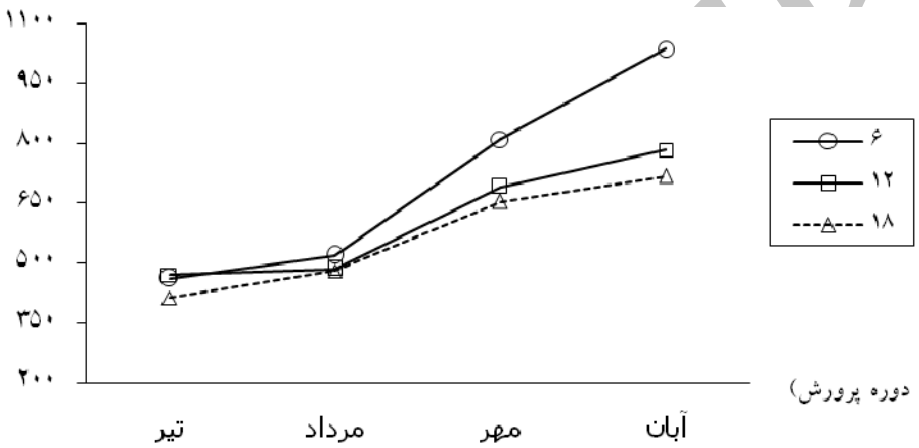
تاسماهی سیبری یک گونه آب شیرین غیر مهاجر (۱۶) است که به علت دارا بودن خصوصیات ارزشمندی نظیر قابلیت زندگی در آب شیرین، مقاومت نسبت به تغییرات شرایط محیط زیست، سازگاری با دماهای پایین، پذیرش طیف وسیعی از مواد خوراکی و استعداد فراوان برای رشد در شرایط مطلوب (۱۳) به عنوان گونه مناسب پرورشی شناخته شده است. این گونه با هدف توسعه آبزی پروری و فراهم نمودن بانک ژن برای تاسماهیان وارد ایران شد. امکان سازگاری این گونه به سیستمهای پرورشی رایج در ایران از اولویتهای مطالعه بر روی این گونه در قالب یک پروژه تحقیقاتی مد نظر قرار گرفت. از آنجایی که مطالعه آثار سوء استرس مزمن بر جنبه های رشدی ماهیان در محیطهای پرورشی از ضروریات پرورش گونه مورد نظر قبل از پرورش انبوه آن می باشد (۵)، و با توجه به اینکه هیچ اطلاعاتی در زمینه اثرات استرس زایی تراکم پرورشی در مورد گونه تاسماهی سیبری در دسترس نمی باشد، بنابراین این تحقیق با هدف بررسی امکان سازگاری این گونه با نرمهای تراکمی مورد استفاده برای تاسماهیان ایران با استفاه از تغییرات شاخص کورتیزول به اجرا در آمد.

مواد و روشها

شرایط نگهداری تاسماهیان سیبری پرورشی: تعداد ۹۰ عدد تاسماهی سیبری دو ساله با میانگین وزن ۳۰ ± ۳۴۲ گرم و طول ۱ ± ۴۵/۳ سانتیمتر در سه تیمار تراکم پایین (۶ عدد ماهی)، متوسط (۱۲ عدد ماهی) و بالا (۱۸ عدد ماهی) به ترتیب با تکرارهای ۳، ۳ و ۲ برای یک دوره پرورشی ۵ ماهه انتخاب شدند. با توجه به فرمهای مختلف تراکم (تراکم تعداد در واحد سطح و تراکم بیوماس در واحد حجم) در مطالعات بر روی تاسماهیان (۱۰ و ۳۴) و بر اساس پیشنهاد Fanouraki و همکاران (۱۱) در استفاده از واحد تعداد ماهی در هر تانک به جای واحد **Kg/m^3** ، تیمارها به صورت ۶، ۱۲ و ۱۸ عدد ماهی در تانکهای پرورشی انتخاب شدند. تاسماهیان در تانکهای فایبرگلاس نیم تنی با حجم آب ۳۰۰ لیتر در بخش پرورش انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری نگهداری می شدند. دبی آب ورودی به تانکها تقریباً **lit/s** ۱۰ و سیستم مورد استفاده در این آزمایش از نوع جریان دار بود. روزانه بخشی از آب (تقریباً به میزان ۱/۳ حجم کل آب) در دو نوبت از روز (صبح و عصر) به وسیله سیستم خروجی مرکزی تعویض می شد. دو هفته زمان به منظور سازگاری ماهیان با شرایط تانک و محیط آزمایش در نظر گرفته شد. شرایط فتوپریود به صورت **۱۴L/۱۰D** بود. به منظور تأمین اکسیژن کافی برای ماهیان، سنگ هوا در تمامی تانکها قرار داده شد. ماهیان با یک جیره دست ساز به میزان ۲ – ۱ درصد کل وزن بدن و ۴ مرتبه در روز (ساعات ۷ صبح – ۱۲ ظهر – ۵ عصر – ۱۰ شب) غذادهی می شدند. تمام شرایط آزمایش غیر از تعداد ماهی در شرایط کاملاً یکسان برای تمامی تیمارها در نظر گرفته شد.

Archive of SID
www.SID.ir

پروتکل آزمایش: ماهیان مورد مطالعه پس از عملیات جداسازی و نشان گذاری، از تانکهای فایبرگلاس دو تنی واقع در محیط بیرون سوله به انواع نیم تنی آن واقع در داخل سالن منتقل شدند. نشان گذاری در قسمت باله پشتی و از ۱/۳ جمعیت هر تانک انجام گرفت. دو هفته زمان به منظور عادت به شرایط سالن برای ماهیان در نظر گرفته شد. بر اساس طراحی آزمایش ۴ بار خونگیری به ترتیب در تیر و مرداد (فاز اول آزمایش) و مهر و آبان (فاز دوم آزمایش) انجام گرفت. تاسماهیان در زمان خونگیری از نظر وضعیت ظاهری و سلامتی بررسی می شدند، در صورت مشاهده علائم مشکوک، موارد مذکور ثبت می شد. دما و اکسیژن محلول در طول دوره اندازه گیری می شد. خونگیری در شرایط کاملاً یکسان برای تمامی نمونه ها و با استفاده از سرنگهای هپارینه **cc** ۲ از بخش ساقه دمی ماهی (۳۱) و بدون استفاده از بیهوشی انجام گرفت زیرا که برخی محققین در گزارشات خود از بیهوشی به عنوان یک عامل استرس زا یاد کرده و استفاده از روش بیهوشی در اندازه گیری کورتیزول را مناسب تشخیص نداده اند (۱۹ و ۲۵).



شکل ۱- تغییرات ماهانه وزن تاسماهی سیبری در سه تراکم ۶، ۱۲ و ۱۸

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس تراکم و زمان بر کورتیزول

اثرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	P
تراکم	۲	۱۰۱	۵۰	./۶۹	n.s./۵۱
زمان(دوره پرورش)	۳	۱۷۰۷	۵۶۹	۷/۷۵	./۰۰۱
تراکم × زمان	۶	۱۲۸	۲۱	./۲۹	n.s* ./۹۳
خطای آزمایش	۱۹	۱۳۹۵	۷۳		

* n.s. : غیر معنی دار

جدول۲- میانگین تغییرات ماهیانه اکسیژن و دما در طول دوره آزمایش (Mean±SE)

فاکتور / ماههای سال	تیر	مرداد	مهر	آبان
اکسیژن (میلی گرم بر لیتر)	^{b}۶/۱۷ ± ۰/۰۵	^{b}۵/۹۹ ± ۰/۰۵	^{a}۶/۸۰ ± ۰/۱۲	^{a}۶/۶۷± ۰/۱۲
دما (درجه سانتیگراد)	^{b} ۲۴/۴۲ ± ۰/۱۱	^{a} ۲۶/۶۳ ± ۰/۲۶	^{c} ۲۰ ± ۰/۲۵	^{d} ۱۷/۵۷ ± ۰/۳۶

حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است

www.SID.ir

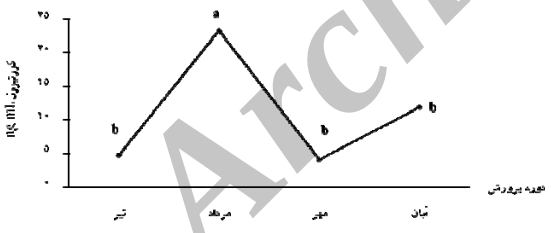
۲، ۴ و ۶ قطعه ماهی نشان گذاری شده به ترتیب از تراکمهای پایین، متوسط و بالا بر اساس طراحی آزمایش در ماههای تیر، مرداد، مهر و آبان خونگیری شدند. به منظور کاستن اثرات استرس دست کاری در زمان خونگیری و یکسان سازی مدت زمان خونگیری در تراکمهای مذکور، خونگیری در تراکمهای ۱۲ و ۱۸ توسط دو نفر انجام گرفت (۱۱) چرا که تعداد ماهیان خونگیری شده در این تراکمها دو و سه برابر تعداد ماهیان خونگیری شده در تراکم ۶ بودند و تنها به این صورت از نظر زمان خونگیری برای هر تانک (کمتر از ۱ دقیقه) بین تمامی تیمارها شرایط یکسان حکمفرما بود. نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و پس از عملیات تهیه سرم خون نمونه ها توسط سانتریفیوژ (مدل Labofuge 200 ، ساخت کشور آلمان) به مدت ۷ دقیقه در ۷۰۰۰ دور انجام، سپس با استفاده از پیپت پاستور، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر سرم به اپندورفهای شماره گذاری شده منتقل و تا زمان اندازه گیری کورتیزول، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری می شدند. سطوح کورتیزول به روش RIA (۳۰) اندازه گیری شد.

از نرم افزار SPSS (Version 11.5)در عملیات تجزیه واریانس دو طرفه (ANOVA two-way) و از تست دانکن به منظور تعیین اختلاف آماری بین تیمارها استفاده شد.

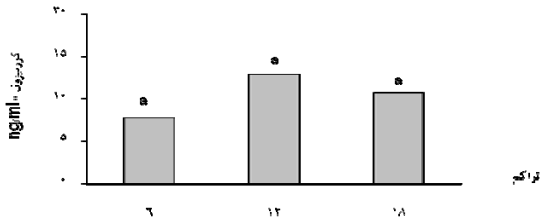
نتایج

به دلیل تأثیرپذیری استرس از هر دو عامل تراکم (موضوع مورد بررسی) و زمان (دوره پرورشی)، لذا در کنار اثر تراکم، تأثیر اجتناب ناپذیر زمان نیز در نظر گرفته شد. واژه اثر متقابل که در زیر به آن اشاره خواهد شد در برگیرنده این مفهوم است.

میانگین وزن تاسماهیان مورد مطالعه طی دوره پرورش به ترتیب در ماههای تیر، مرداد، مهر و آبان در تراکم پایین ۴۶۰/۵۰±۴۰، ۵۱۸/۵۰±۴۳، ۸۱۰/۲۸±۶۰ و ۱۰۳۴/۷۸±۳۵ گرم، تراکم متوسط ۴۷۰/۸۷±۴۰، ۴۸۴/۵۰±۳۷، ۶۹۰±۲۳ و ۷۸۲/۵۶±۴۲ گرم، تراکم بالا ۴۱۳/۱۰±۳۳، ۴۷۹/۷۲±۱۲، ۶۵۲/۹۲±۳۴ و ۷۱۶/۷۵±۵ به دست آمد که بیانگر این است که میانگین وزن در هر سه تراکم در طول دوره پرورش افزایش داشته است (شکل ۱). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تراکم و زمان بر تغییرات کورتیزول معنی دار نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۱). در آنالیز مستقل هر یک از عوامل آزمایش (تراکم و زمان) بر سطوح کورتیزول، معنی داری تنها در مورد زمان (P<۰/۰۰۱) مشاهده شد. سطوح کورتیزول در ماههای تیر، مرداد، مهر و آبان به ترتیب ng/ml ۴/۶۸±۱/۸۴، ۲۳/۲۲±۴/۴، ۳/۹۸±۱/۶۶ و ۱۱/۸±۲/۵۳ اندازه گیری شد که فقط در ماه مرداد افزایش معنی دار کورتیزول به ثبت رسید و در سایر ماهها اختلافات معنی دار مشاهده نشد (شکل ۲). میانگین سطوح کورتیزول در تراکمهای ۶، ۱۲ و ۱۸ به ترتیب ng/ml ۷/۷۶±۳/۵۹، ۱۲/۹۴±۲/۷۸ و ۱۰/۷۶±۳/۷۲ به دست آمد که در هیچ کدام از تراکمها اثرات معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل ۳). میانگین تغییرات پارامترهای کیفی آب شامل اکسیژن و دما در طول دوره پرورش در جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲ – تغییرات کورتیزول در طول دوره پرورش در تاسماهی سیبری حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.



Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۳ – تغییرات کورتیزول در سه تراکم ۶، ۱۲ و ۱۸ در تاسماهی سیبری حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

در تحقیق حاضر، عکس العمل تاسماهی سیبری طی یک دوره ۵ ماهه در قبال تراکم ذخیره مورد ارزیابی قرار گرفت و از کورتیزول به عنوان مناسب ترین پارامتر جهت ارزیابی سطوح استرس (۱۰ و ۲۰) استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تراکمهای مختلف ذخیره سازی تأثیر معنی داری بر سطوح کورتیزول پلاسما در تاسماهیان سیبری مورد مطالعه نداشت که مشابه با نتایج به دست آمده در تاسماهی آدریاتیک (۱۰) می باشد.

در زمینه عکس العمل کورتیزول در قبال استرس تراکم تاکنون مطلب قطعی و مشخصی به ثبت نرسیده است. به عنوان مثال در چندین مطالعه که اثرات تراکمهای مختلف ذخیره سازی در قزل آلای رنگین کمان بررسی شد، با افزایش تراکم ذخیره سازی سطوح کورتیزول پلاسما افزایش (۲۶)، کاهش (۱۸) و بدون تأثیر (۱۵ و ۱۷) گزارش شده است.

نتایج برخی از مطالعات برخلاف نتایج تحقیق حاضر بوده است. در مطالعه ای که برای اولین بار تأثیر تراکم پرورشی را بر روی سطوح کورتیزول در گونه تاسماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) مورد بررسی قرار داد (۳۳)، سطوح کورتیزول در تراکمهای متوسط (۲۰ kg/m_3) و بالا (۴۰ kg/m_3) افزایش یافته و در نهایت تراکم پرورشی در این گونه به عنوان یک عامل استرس زای مهم محیطی معرفی شد. Ramsay و همکاران (۲۹) اثر تراکم را بر گونه زبرافیش (*Danio rerio*)، با محوریت کورتیزول به عنوان شاخص استرس، مورد بررسی و مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که کورتیزول در زبرافیشهای بالغ غذادهی نشده، شاخص مناسبی برای استرس تراکم به شمار می رود.

عوامل متعددی در نتایج متفاوت به دست آمده توسط محققین در مطالعات مربوط به استرس تراکم پرورشی دخالت دارد که نوع گونه مورد مطالعه، طراحی و شرایط آزمایش از جمله مهم ترین آنهاست. به طور کلی پاسخ به یک عامل استرس زا به طول دوره قرارگیری در معرض آن و شدت تأثیرگذاری آن بستگی دارد(۷). Wuertz و همکاران (۳۳) استرس زا بودن تراکم ذخیره سازی را وابسته به نوع گونه ماهی می دانند. Pottinger و Pickering (۲۸) نیز به نقش مهم نوع گونه در تأثیر یا عدم تأثیر عامل استرس زا اشاره کرده اند. تأثیر زمینه های ژنتیکی ماهیان در نوع و شدت پاسخ به یک عامل استرس زای خاص نیز در مطالعه Barton (۶) مورد توجه قرار گرفته است و در این بررسی او علی رغم اینکه سه گونه استورژن پالید (*Scaphirhynchus albus*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض یک عامل استرس زای مشابه بودند (۳۰ ثانیه در معرض هوا) ولی سطوح کورتیزول به ترتیب افزایش ۱، ۱۰ و ۲۵ برابری را نشان دادند(۶). با توجه به مطالب عنوان شده توسط محققین به نظر می رسد که می توان بین تاسماهیان و ماهیان استخوانی به دلیل قدمت چند میلیون ساله تاسماهیان و در نتیجه مواجه با انواع شرایط بحرانی و به نحوی سازگار شدن با این موقعیتها نسبت به ماهیان استخوانی در رویارویی با موقعیتهای استرس زا، تفکیک قائل شد. این مطلب در مطالعات Barton (۶) به صورت عکس العملهای ضعیف تر تاسماهیان نسبت به استرس در مقایسه با ماهیان استخوانی اشاره شده است. یافته هایی نظیر توانایی سنتز ویتامین C به عنوان یک ترکیب ضد استرس (۳۴) و وجود مکانیسم دفع نیتریت از پلاسما (۱۴) در کنار دیدگاه مطرح شده در مورد وجود زمینه های ژنتیکی مقاومت در تاسماهی سیبری همگی بر وجود قابلیتهای ویژه جهت مقابله با شرایط بحرانی دلالت دارد. به علاوه ماهیان ساکن در رودخانه نظیر تاسماهی سیبری از نظر اجدادی برخلاف

Archive of SID

www.SID.ir

ماهیان ساکن در دریا تغییرات بیشتری همچون تغییرات در سطح آب، خشک شدن، سیلابی شدن و غیره را متحمل شده و در مواجهه با شرایط بحرانی سازگارتر به نظر می رسند.

این مسئله که چرا افزایش بیوماس در طول دوره ۵ ماهه پرورش حتی در تراکم بالا عکس العملهای معنی دار کورتیزول را در پی نداشت به نظریه سازگاری با استرس توسط Gollock و همکاران (۱۲) برمی گردد. بر اساس این نظریه ماهیان به استرسهای دوره ای پس از گذشت مدت زمانی عادت می کنند و افزایش موقتی کورتیزول به میزان عادی خود برمی گردد. این نظریه توسط Cataldi و همکاران (۱۰) در مورد عدم حساسیت تاسماهی آدریاتیک به استرس تراکم و همچنین در مورد ماهی آزاد چینوک (۲۲) نیز مطرح شده و مورد توجه قرار گرفته است.

چندین تفاوت بنیادی بین مطالعه حاضر و مطالعه Wuertz و همکاران (۳۳) وجود دارد که بروز نتایج متفاوت را ممکن می سازد. اول اینکه نوع گونه در دو آزمایش متفاوت است به طوری که این امر می تواند تغییرات فیزیولوژیک متعددی را در مقابله با عوامل استرس زا از خود بروز دهد. دوم اینکه جدای از اختلافات گونه ای، مرحله رشد و نمو و سن ماهی(۳۲) (تاسماهی سیبری مورد مطالعه دوساله و کوتاه پوزه ۴ ساله بود) می تواند حساسیت ماهی را به یک عامل استرس زا تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات نشان داد که بین سرعت برگشت به حالت تعادل (رکاوری) کورتیزول موجود در خون و سرعت رشد در بچه ماهیان قزل آلای رنگین، ارتباط مثبتی وجود دارد (۶). سوم، مدت زمان قرارگیری در معرض استرس تراکم در این دو آزمایش متفاوت است (دوره آزمایش کوتاه مدت ۱۴ روزه در تاسماهی پوزه کوتاه در برابر دوره طولانی مدت ۵ ماهه در مطالعه حاضر) که در این رابطه Mommsen و همکاران (۲۳) بیان کردند که در مطالعات مربوط به کورتیزول باید بین تیمارهای کوتاه مدت و دراز مدت تمایز قائل شد. در شرایط استرس حاد، کورتیزول پلاسما تمایل به افزایش ناگهانی در مدت زمان دقیقه تا ساعت را دارد که به دنبال آن با گذشت یک روز یا بیشتر تدریجاً به سطح قبل از تیمار باز می گردد (بر اساس شرایط نگهداری ماهیان) اما در شرایط استرس مزمن، به نظر می رسد که ماهی با استرس سازگار می شود و نوسانات کورتیزول پلاسما را در یک محدوده تقریباً نرمال (بر اساس نوع گونه) نگه می دارد.

Pickering و Pottinger (۲۶) بیان نمودند که در بحث استرس تراکم بیشتر از اینکه میزان تراکم مطرح باشد، کیفیت آب مخازن نگهداری ماهی که با بالا رفتن تراکم سبب بحرانی شدن شرایط زیست می شود، می تواند سبب استرس شود و این امر با اعمال مدیریت صحیح قابل پیشگیری خواهد بود. به عبارتی در این تحقیق، مدیریت صحیح سیستمهای نگهداری ماهیان همراه با دبی و هوادهی مناسب در سطح تمام تیمارها، در کاهش قابل ملاحظه و یا حتی حذف آثار احتمالی استرس تراکم مؤثر بوده است. نتایج مطالعات North و همکاران (۲۴) و Pottinger و Pickering (۲۸) نیز کاهش اثرات استرس زایی تراکم و در نتیجه سطوح کورتیزول را در یک سیستم جریان دار با تعویض مناسب آب تأیید نموده است.

در سیستمهای پرورشی تاسماهیان افزایش دما و در نتیجه کمبود اکسیژن می تواند سبب افزایش سطح معنی دار کورتیزول شود (۱ و ۱۰ و ۲۱). از این رو علی رغم هوادهی و جریان مناسب آب در تمامی تیمارها، افزایش معنی دار کورتیزول در ماه مرداد (شکل ۲) احتمالاً به دلیل افزایش دمای آب و در نتیجه کاهش میزان اکسیژن محلول در آب (جدول ۲) به دلیل اثرات سینرژیک آن در پایداری وضعیت استرس می باشد. نتایج مشابهی نیز در تاسماهی ایرانی (۱) به دست آمده است.

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به اولین تجربه پرورشی این گونه وارداتی در ایران و نبود هیچ گونه اطلاعاتی در این زمینه لذا منطقی است که در این مطالعه سازگار کردن ماهی به شرایط پرورشی و آب و هوایی ایران مد نظر باشد تا اطلاعات به دست آمده مقدمه و مبنای مطالعات بعدی قرار گیرد و به نظر می رسد که این سازش به شرایط پرورشی با توجه به عدم تغییرات معنی دار میانگین کورتیزول انجام گرفته است.

منابع

۱- بهمنی، م. ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر به محورهای HPI و HPG سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی (*Acipenser pesicus*). رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ##

۲- بهمنی، م. ؛کاظمی، ر. ؛ پور دهقانی، م. ؛ حلاجیان، ع. ؛ محسنی، م. ؛ دژندیان، س. ؛ وهابی، ی. ؛ ملک زاده، ر. و محمدی پرشکوهی، ح. ۱۳۸۴. بیوتکنیک نوین تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون(*Acipenser stellatus*) در ایران. مجله علمی شیلات ایران، سال ۱۴، شماره ۴، صفحات ۳۱-۴۸.##

۳- فلاحتکار، ب. ۱۳۸۶. ساخت اسید اسکوربیک در سه گونه از ماهیان خاویاری (Acipenseriformes) و نقش آن در پارامترهای کمی رشد. مجله زیست شناسی ایران. شماره ۱. جلد ۲۰. صفحات۱۳۷-۱۲۸.##

۴- هدایتی، ع. ؛ باقری، ط. ؛ یاوری، و. ؛ بهمنی، م. و علیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) در آب لب شور. مجله زیست شناسی ایران. شماره ۴. جلد ۲۱. صفحات ۶۶۶-۶۵۹.##

5- Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C. and Quevedo,R.M. (2006) Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundia´ (Rhamdia quelen, Quoy and Gaimard) fingerlings. *Aquaculture*. 253, 317-321. ##

6- Barton, B.A. (2002) Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ and Comp. Biol*. 42, 517-525. ##

7- Bayunova, L., Barannikova, I. and Semenkova, T. (2002) Sturgeon stress reaction in aquaculture. *Appl. Ichthyol*. 18, 397-404. ##

8- 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 ransmontanus*. *Aquaculture*. 203, 165-176. ##

9- Bolasina, S., Tagawa, M., Yamashita, Y. and Tanaka, M. (2006) Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 259, 432-443. ##

10- Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A. and Cataudella, S. (1998) Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces:Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Biochem. Physiol*. Part A. 121, 351-354. ##

11- Fanouraki, E., Divanach, P. and Pavlidis, M. (2007) Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*. 265, 294-304. ##

12- Gollock, J., R.kennedy,C.and Brown, J.A. (2005) Physiological responses to acute temperature increase in European eels, *Anguilla anguilla*, infected with *Anguillicola crassus*. *Dis. Aquat. Org*. 64, 223-228. ##

13- Holcik, J. (1989) The freshwater fishes of Europe.Aulaverlag Wiesbaden. 1(2) pp 227-262.##

14- Huertas, M., Gisbert, E., Rodriguez, A., Cardona, L., Williot, P. and Castello-Orvay, F. (2002) Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt) yearling to nitrite: median-letal concentration (LC_{50}) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tisses. *Aquatic toxicology*. 57, 257-266. ##

15- Kebus, M.J., Collins, M.T. and Brownfield, M.S. (1992) Effects of rearing density on the stress response and growth of rainbow trout. *J. Aquat. Anim. Health*. 4, 1-6. ##

16- Koksal, G., Rad, F. and Kindir, M. (2000) Growth performance and feed conversion efficiency of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juvenile reared in concrete raceways. Turk. *J. Vet.Anim. Sci*. 24, 435-442. ##

Archive of SID
www.SID.ir

17- Leatherland, J.F. (1993) Stocking density and cohort sampling effects on endocrine interactions in rainbow trout. *Aquac. Int.* 1, 137-156. ##

18- Leatherland, J.F. and Cho, C.Y. (1985) Effect of rearing density on thyroidand interrenal gland activity and plasma and hepatic metabolite levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Biol*. 27, 583–592. ##

19- Marino, G., Di Marco, P., Mandich, A., Finoia, M.G. and Cataudella, S. (2001) Changes in serum cortisol, metabolites, osmotic pressure and electrolytes in response to different blood sampling procedures in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Appied Ichthyology*. 17: 115-120. ##

20- Martinez-Alvarez, R.M., Hidalgo, M.C., Domezain, A., Morales, A.E., Garcia-Gallego, M. and Sanz, A. (2002) Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *J. Experimental Biology*. 205, 3699-3706. ##

21- Maxime, V., Nonnotte, G., Peyraud, C., Williot, P. and Truchot, J.P. (1995) Circulatory and respiratory effects of an hypoxic stress in the Siberian sturgeon. *Respiration Physiology.* 100, 203-212. ##

22- Mazur, C.F. and Iwama, G.K. (1993) Effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma cortisol, and survival in wild and hatchery - reared chinnok salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*. 112, 291–299. ##

23- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W. (1999) Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish* 9, 211-268. ##

24- North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J. and Bromage, N.R. (2006) The impact of stocking density on the welfare rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 255, 466-479. ##

25- Papoutsoglou, S.E., Karakatsouli, N., Louizos, E., Chadi, S., Kalogiannis, D., Dalla, C., Polissidis, A. and Papadopoulou-Daifoti, Z. (2007) Effect of Mozart's music (Romanze-Andante of ''Eine Kleine Nacht Musik'', sol major, K525) stimulus on commoncarp (Cyprinus carpio L.) physiology under different light conditions. *Aquaculture Engineering.* 36, 61-72. ##

26- Pickering, A.D. and Pottinger, T.G. (1987) Crowding causes prolonged leucopenia in salmonid fish, despite interregnal acclimation. *J. Fish. Biol*. 30, 701-712. ##

27- Plante, S., Audet, C., Lambert, Y. and Deianone, J. (2003) Capmarision of stress responses in wild and captive winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus walbaum*) brood stock. *Aquaculture research*. 34, 803-812. ##

28- 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. ##

29- Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z.M., Westerfield, M., Kent, M.L. and Schreck, C.B. (2006) Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. *Aquaculture*. 258, 565-574. ##

30- Rotllant, J., Balm, P.H.M., Pe´rez-Sa´nchez, J., Wendelaar-Bonga, S.E. and Tort, L. (2001) Pituitary and interregnal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. *General and Comparative Endocrinology*. 121, 333–342. ##

31- Trenzado, C.E., Carrick, T,R. and Pottinger, T.G. (2003) Divergence of endocrine and metabolic responses to stress in two rainbow trout lines selected for differing cortisol responsiveness to stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 133, 332-340. ##

32- Wang, N., Hayward, R.S. and Noltie, D.B. (2000) Effects of social interaction on growth of juvenile hybrid sunfish held at two density. North American Journal of Aquaculture, 62, 161-167. ##

33- Wuertz, S., Lutz, I., Gessner, J., Loeschau, P., Hogans, B., Kirschbaum, F. and Kloas, W. (2006) The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *J. Appl. Ichthyol*. 22, 269-273. ##

34- Xie, Z ., Niu, C., Zhang, Z. and Bao, L. (2006) Dietary ascorbic acid may be necessary for enhancing the immune response in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), a species capable of ascorbic acid biosynthesis. *Com Bio Physio.* Part A 145, 152-157. ##

35- Yousif, O.M. (2002) The effects of stocking density, water exchange rate, feeding frequency and grading on size hierarchy development in

Archive of SID

www.SID.ir

juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus L. J. Agric. Sci*. 14, 45-53. ##

Effects of stocking density on cortisol level of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*

Hasanalipour A.R.[1], Bahmani M.[2], Yavari V.[1], Mohseni M.[2], Kazemi R.[2], Pashazanosi H.[1] and Morshedi V.[1]

[1] Fisheries Dept., Faculty of Marine Natural Resources, Marine Science and Technology University, Khoramshahr, I.R. of IRAN

[2] International Sturgeon Research Institute, Rasht, I.R. of IRAN

Abstract

Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) has been imported to Iran as a valuable candidate for aquaculture purpose. Since the stocking density is considered as an important stressor in aquaculture, Hence this study was conducted to investigate the impacts of its stocking densities on chronic stress using the blood cortisol level. In total, 90 specimens with 342 ± 30 g mean weight and 45.3 ± 1cm total length were stocked in three densities (6, 12 and 18 specimen/tank) pending 5 months rearing period. The results showed no significant interaction among density–time parameters and cortisol level ($p > 0.05$), whereas solely time showed a significant correlation with cortisol level ($p < 0.05$). The levels of cortisol in July, August, October and November were 4.68±1.84, 23.22±4.44, 3.98±1.66 and 11.8±2.53ng/ml respectively. Mean cortisol concentrations in low, moderate and high densities obtained 7.76±3.59, 12.94±2.78 and 10.76±3.72 ng/ml, respectively that was not observed significant changes in no treatments.

Results of this study can suggest that Siberian sturgeon withstand stocking density norms which are used for Iranian sturgeons.

Keywords: Stress; Stocking density; Cortisol; *Acipenser baerii*

Archive of SID

www.SID.ir