



## پاسخ‌های استرسی و خون‌شناسی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*)

### به صید و حمل و نقل پس از صید

مریم مددی<sup>۱</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵

### چکیده

با توجه به جایگاه ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) در صنعت آبی‌پروری، این مطالعه جهت بررسی استرس ناشی از صید و حمل و نقل پس از آن بر پاسخ‌های استرسی و خون‌شناسی ماهیان آمور ۲ ساله با وزن متوسط  $1/10 \pm 0/23$  کیلوگرم انجام شد. بدین‌منظور، شاخص‌های مختلف استرس و خونی، قبل از صید (کنترل)، بلافاصله پس از صید، پس از حمل تا عرضه به بازار و به‌ترتیب ۲، ۶ و ۲۴ ساعت پس از رسیدن به بازار عرضه اندازه‌گیری شدند. میزان کورتیزول، گلوکز و لاکتات از بلافاصله پس از صید تا ۶ ساعت پس از صید افزایش یافت و در ۲۴ ساعت پس از صید کاهش معنی‌داری پیدا کرد اما به سطح اولیه نرسید. در شاخص‌های خون‌شناسی، حجم متوسط گلبول‌های قرمز، مقدار متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، درصد لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت در زمان‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری بودند ( $P < 0/05$ )، اما تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز تفاوت معنی‌داری در زمان‌های مختلف از خود نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). نتایج این مطالعه نشان داد با توجه به اثرات ناشی از استرس صید و حمل و نقل بر وضعیت فیزیولوژیک ماهی آمور، برای حفظ سلامتی ماهیان و عرضه ماهی با کیفیت مطلوب به بازار باید از روش‌هایی با کمترین میزان استرس و دستکاری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: ماهی آمور، استرس، کورتیزول، گلوکز، شاخص‌های خونی



## **Stress and hematological responses of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) to capture and transport**

**Maryam Madadi<sup>1</sup>, Bahram Falahatkar<sup>2\*</sup>**

1. M.Sc. Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran
2. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran

**Received: 15-May-2021**

**Accepted: 3-Jan-2023**

### **Abstract**

Regarding the superior role of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in aquaculture industry, this study was conducted to evaluate the effects of catching and transportation on stress responses and hematological parameters of 2 years old grass carp with an average weight of  $1.10 \pm 0.23$  kg. For this purpose, the mentioned indices were measured before catching (control), immediately after catching, after transportation to the market and 2, 6 and 24 hours post arrival of fish to the market. Cortisol, glucose and lactate levels increased immediately after catching to 6 hours after catching and decreased significantly at 24 hours after catching but did not reach the initial level. In hematological indices, the mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, the number of white blood cells, lymphocyte, neutrophil and monocyte were significantly different among the times ( $P < 0.05$ ). The number of red blood cells, hematocrit, hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration did not show significant different among fish ( $P < 0.05$ ). The results of this study showed that due to the effects of catching and subsequent transport stress on physiological status of grass carp, in order to supply fish with worthy health and quality to the market, it is necessary to provide optimum methods to reduce the stress.

**Key words:** Grass carp, Stress, Cortisol, Glucose, Hematological indices

## ۱. مقدمه

ماهی‌آمور (*Ctenopharyngodon idella*) به‌علت ویژگی‌های منحصر به‌فرد مانند رشد سریع و تولید کم هزینه و پربازده، یکی از ماهیان بازارپسند برای پرورش در آب شیرین در بسیاری از نقاط جهان است. این ماهی نقش مهمی را در صنعت آبی‌پروری ایفا می‌کند، به‌طوری که تولید سالانه آن به ۶/۰۶ میلیون تن در سال ۲۰۱۸ رسیده است (FAO, 2020). این ماهی در بیش از ۱۰۰ کشور جهان از جمله کشورهای آسیای شرقی و آمریکای شمالی و اروپا به‌عنوان ماهی خوراکی مصرف شده و یک گونه مناسب جهت کنترل زیستی گیاهان آبی نیز محسوب می‌شود (Mitchell and Kelly, 2006; Chen *et al.*, 2009). ماهی‌آمور جزء کپور ماهیان چینی بوده و در سیستم پرورش توأم همراه با کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) پرورش داده می‌شود (Szabó *et al.*, 2019). این ماهی معمولاً در مزارع پرورش ماهی به‌وسیله تور پره صید شده و پس از حمل به بازار به‌صورت مرده یا زنده عرضه می‌شود.

استرس زنجیره‌ای پیوسته از رویدادهای فیزیولوژیک است که بدن در هنگام مواجهه با عامل استرس‌زا، برای بازگشت به حالت هموستاز و کنار آمدن با شرایط جدید، با آن روبه‌رو می‌شود. استرس اثرات متنوعی بر رشد، ایمنی و مقاومت ماهی در برابر عوامل بیماری‌زای منفی و سیستم فیزیولوژی بدن ماهیان دارد (Morales *et al.*, 2005). در واقع، عوامل استرس‌زا می‌توانند تحت تأثیر شرایط فیزیولوژیک، تغذیه‌ای و محیطی باعث بروز برخی پاسخ‌ها در موجود زنده شوند که این پاسخ‌ها عمدتاً به شکل تغییر در میزان کورتیکو سترئوئیدها و برخی متابولیت‌های خونی بروز می‌کنند (Falahatkar *et al.*, 2016). بنابراین یکی از موارد مهم در پرورش مصنوعی ماهیان توجه به عدم وجود استرس در فرآیند پرورش آن‌هاست (Zuberi *et al.*, 2020).

استرس را می‌توان به دو گروه حاد و مزمن طبقه‌بندی کرد. استرس‌های مزمن در اثر تکرار عامل استرس‌زای خفیف به‌وجود می‌آیند، حال آن‌که استرس‌هایی که در آن‌ها عامل استرس‌زا در مدت کوتاهی ظهور می‌یابد و یا استرس‌هایی مانند نوسانات دما و اکسیژن، مجاورت کوتاه مدت در معرض مواد سمی، حمل و نقل و تغییرات محیطی که به‌سرعت شروع و خاتمه می‌یابند، به‌عنوان استرس حاد طبقه‌بندی می‌شوند (Cordeiro *et al.*, 2012). واکنش جانور نسبت به این گونه استرس‌ها بسیار سریع بوده اما در برخی موارد ممکن است وقفه کوتاهی مدتی (مانند چند روز یا چند ساعت) در پاسخ به عامل استرس‌زا رخ دهد و اثرات آن‌ها بخش کوچکی از چرخه حیات را تحت تأثیر قرار دهد (Barton, 2002; Biwas *et al.*, 2006).

ماهیان در محیط‌های طبیعی و پرورشی دچار استرس‌های گوناگونی می‌شوند که پاسخ به این استرس‌ها به‌صورت تغییرات رفتاری و یا فیزیولوژیک بروز می‌نماید (Calcagno *et al.*, 2016). استرس باعث بروز پاسخ‌های مختلف در بدن ماهی می‌شود همچنین می‌تواند موجب بروز بیماری یا مرگ در آبی‌پروری شود (Martinez-Porchas *et al.*, 2009). استرس می‌تواند منجر به ایجاد ضعف در سیستم ایمنی و سیستم تولید مثل شود (Morales *et al.*, 2005). از جمله استرس‌هایی که ماهیان پرورش‌یافته در محیط‌های مصنوعی با آن مواجه هستند می‌توان به حمل و نقل، دستکاری، نمونه‌برداری، تراکم و شرایط نامساعد محیطی اشاره کرد (Barton, 2002). دستکاری ماهیان هنگام صید و حمل و نقل پس از آن فعالیت اجتناب‌ناپذیر در مزارع پرورش ماهی است که با کاهش حجم آب و افزایش فعالیت ماهیان موجب ایجاد استرس حاد می‌شود. استرس حاد اغلب موجب افزایش فعالیت‌های زیستی شده و باعث تغییر در رفتار و ویژگی‌های فیزیولوژیک ماهی می‌گردد و افزایش شاخص‌های استرس در خون ماهی را به‌دنبال دارد (Gatica *et al.*, 2010; Omeji *et al.*, 2017). در واقع، در سیستم‌های صنعتی پرورش ماهی برای به‌حداقل رساندن میزان استرس، درک دقیق و صحیح از فیزیولوژی ماهی

و منطقه‌ای به صورت زنده، شناخت کافی از واکنش‌های فیزیولوژیک ناشی از صید و دستکاری‌های پس از آن مهم تلقی می‌گردد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی روند تغییرات فیزیولوژیک ماهی‌های مورد مطالعه شامل فاکتورهای استرسی و خونی در طی صید و به دنبال آن حمل و نقل و عرضه به بازار است تا با استفاده از این اطلاعات بتوان راهکار مناسبی برای کاهش اثرات مخرب این نوع استرس و ارزیابی کیفیت ماهی در زمان عرضه به بازار ارائه داد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. تهیه و نگهداری ماهی

پژوهش حاضر در آبان‌ماه سال ۱۳۹۹ در مزرعه پرورش ماهی بامداد واقع در شهرستان رشت انجام شد. تعداد ۳۰ قطعه ماهی ۲ ساله آمور پرورش یافته در استخر خاکی به مساحت ۶۰۰۰ متر مربع، با وزن  $1/10 \pm 0/23$  کیلوگرم و طول کل  $44/44 \pm 44/80$  سانتی‌متر توسط تور پره صید و به مخزن پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری رایج برای عرضه ماهیان زنده به بازار فروش، منتقل شدند. آب مخزن از رودخانه تأمین کننده آب مزرعه بود. دمای آب در طی دوره نگهداری ماهیان در مخزن عرضه به بازار در محدوده ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن محلول در مخزن  $7/1-8/9$  میلی‌گرم در لیتر بود.

### ۲.۲. طراحی آزمایش

خون‌گیری از ماهیان در ۶ مرحله انجام شد، بدین صورت که در مرحله اول، برای صید تیمار کنترل و به منظور به حداقل رساندن میزان استرس در ماهیان، تعداد ۵ عدد ماهی در داخل استخر صید شد و بلافاصله در همان محل عملیات خون‌گیری انجام شد. در مراحل بعدی پس از صید ماهیان با تور پره، خون‌گیری در هر مرحله از ۵ ماهی و به ترتیب در زمان‌های بلافاصله پس از صید با تور پره، پس از حمل ۲۰ دقیقه‌ای با ماشین تا بازار (حدود ۴۰ دقیقه پس از صید) و ۲، ۶ و ۲۴ ساعت

در هنگام بروز استرس، امری ضروری است و می‌تواند کمک شایانی به مدیریت در پرورش ماهی نماید (Falahatkar and Poursaeid, 2013). همچنین چگونگی صید و کشتار ماهی می‌تواند بر کیفیت فیله ماهی در هنگام عرضه به بازار اثرگذار باشد (Merkin *et al.*, 2010). مطالعات نشان می‌دهند که وجود استرس پیش از مرگ ماهی می‌تواند موجب کاهش تازگی و تسریع فرآیند فساد گوشت ماهی در هنگام عرضه به بازار شود. این امر می‌تواند ناشی از تسریع متابولیسم پس از مرگ به علت تجزیه سریع آدنوزین‌تری فسفات و همچنین افزایش پروتئولیز باشد (Daskalova, 2019). از این‌رو، آگاهی از چگونگی ایجاد استرس در ماهی در هنگام صید و دستکاری پس از آن می‌تواند به ایجاد روش‌های مدیریتی در جهت کاهش استرس کمک زیادی کند.

حمل و نقل ماهی زنده، فرآیندی چند مرحله‌ای است که باید با کمترین میزان استرس و هزینه انجام شود (Dobšíková *et al.*, 2006). مطالعات متعددی در زمینه تأثیر عملیات صید و به دنبال آن حمل و نقل ماهی بر شاخص‌های استرس و فاکتورهای هماتولوژیک (خون‌شناسی) انجام شده است (Sadler *et al.*, 2000; Dobšíková *et al.*, 2006; Hosoya *et al.*, 2007; Adeyemo *et al.*, 2009; Dobšíková *et al.*, 2009; Falahatkar *et al.*, 2016). این مطالعات نشان می‌دهند که در طی وقوع استرس، افزایش کورتیزول به دلایل متعددی از جمله فعال‌سازی سیستم عصبی مرکزی و به دنبال آن افزایش گلوکز خون اتفاق می‌افتد تا موجود بتواند خود را برای سازگاری با شرایط استرس‌زا آماده کند (Pottinger *et al.*, 2003; Barton *et al.*, 2005). از این‌رو، کورتیزول و گلوکز اغلب به عنوان شاخص‌های استرس در ماهی استفاده می‌شوند. بنابراین تعیین میزان گلوکز و شاخص‌های متابولیک نظیر لاکتات و کورتیزول می‌تواند برای ارزیابی شرایط سلامت ماهی مفید واقع شود (Barton, 2002).

با توجه به اهمیت توجه به عرضه محصول سالم به بازار مصرف و عرضه آبزیان در بسیاری از بازارهای محلی

گردید (Bayunova et al., 2002). اندازه‌گیری لاکتات با روش آنزیمی-رنگ سنجی (LOD-PAP) و کیت تشخیص آزمایشگاهی لاکتات شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) انجام شد. اساس این روش یک واکنش آنزیمی است که در آن لاکتات در مجاورت لاکتات اکسیداز به پیرووات و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. سنجش میزان لاکتات پلاسما همانند گلوکز با استفاده از اسپکتروفتومتر و با طول موج ۶۰۰ نانومتر انجام شد (Barton et al., 2005). شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) پس از رقیق‌سازی خون با محلول Natt-Herrick با نسبت رقت ۱ به ۲۰۰ و با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد (Houston, 1990). مقدار غلظت هموگلوبین (Hb)، با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد، به این صورت که ۲۰ میکرولیتر از نمونه خون توسط یک پیپت به ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین اضافه شد و سپس سرلوله توسط پارافیلیم بسته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در محیط تاریک تا ظاهر شدن رنگ قهوه‌ای شفاف مخلوط گردید. سپس حدود ۲ میلی‌لیتر از محلول در اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر قرار داده شد و میزان جذب قرائت و در نهایت غلظت Hb با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه گردید (Houston, 1990). اندازه‌گیری هماتوکریت (Hct) با پر کردن لوله‌های موبینه از خون و انتقال آن‌ها به میکروسانتریفیوژ هماتولوژی (Hettich, Kirchlengem, Germany) با دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه انجام شد. شاخص‌های گلبول‌های قرمز شامل حجم متوسط گلبول‌های قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (Thrall, 2004):

$$MCV (fL) = [Hct(\%) / RBC(10^6/mm^3)] \times 10$$

$$MCH (pg/cell) = [Hb(g/dL) / RBC(10^6/mm^3)] \times 10$$

$$MCHC (g/dL) = [Hb(g/dL) / Hct(\%)] \times 100$$

شمارش تعداد گلبول‌های سفید (WBC) نیز پس از رقیق‌سازی خون با محلول Natt-Herrick به نسبت ۱ به ۵۰ و با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد

پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی پلی‌اتیلنی در زمان عرضه به بازار انجام شد. به‌منظور جلوگیری از اختلاط ماهیان، در هر مرحله ماهیان خون‌گیری شده به حوض جداگانه‌ای منتقل و از چرخه آزمایش خارج شدند.

### ۳.۲. نمونه‌گیری و اندازه‌گیری شاخص‌ها

در هر مرحله، خون‌گیری از ساقه دمی و به‌وسیله سرنگ هپارینه ۵ میلی‌لیتری انجام شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از خون برای اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی در میکروتیوب ریخته شد. همچنین مقدار ۳ میلی‌لیتر خون باقیمانده برای اندازه‌گیری شاخص‌های استرسی توسط سانتریفیوژ (Labofuge 200, Germany) با دور rpm ۷۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس پلاسما به آزمایشگاه انتقال یافت (Zaragoza et al., 2008). برای اندازه‌گیری کورتیزول با توجه به یکسانی ساختار مولکولی هورمون کورتیزول در مهره‌داران، از کیت انسانی Immunotech (Marseille, France) استفاده شد. اندازه‌گیری هورمون با واحد ng/mL با روش رادیوایمیونواسی براساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در نمونه پلاسما با هورمون نشان‌دار شده با ید رادیواکتیو ۱۲۵ جهت اتصال به آنتی‌بادی ضد هورمون در فاز جامد انجام شد (Olsen et al., 1995).

مقدار گلوکز با روش آنزیمی کالریمتری (GOD-PAP) و با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور، ۱۰ میکرولیتر محلول استاندارد یا نمونه پلاسما به یک لوله آزمایش منتقل شد و ۱۰۰۰ میکرولیتر از معرف آزمایشی (شامل ۲۵۰ mmol/L بافر فسفات با pH ۷/۵، ۵ mmol/L فنول، ۰/۵ mmol/L از ۴ آمینو آنتی‌پیرین، ۱۰ آنزیم گلوکز اکسیداز و ۱ kU/L آنزیم پراکسیداز) به آن اضافه گردید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای اندازه‌گیری جذب نوری از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico 2100 UV/Vis، آمریکا) با طول موج ۵۴۶ نانومتر استفاده شد و مقدار گلوکز بر حسب mg/dL تعیین

کمترین میزان کورتیزول در تیمار کنترل اندازه‌گیری شد ( $19/31 \pm 8/80$  ng/mL) که با سایر زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ) و ۲۴ ساعت بعد تقریباً به سطح اولیه بازگشت. کمترین میزان گلوکز قبل از صید دیده شد ( $10/99 \pm 85/60$  mg/dL) و سپس میزان آن تا ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی در حال افزایش بود و بیشترین میزان آن در ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی مشاهده شد ( $183/20 \pm 22/06$  mg/dL) که با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ، شکل ۲). همچنین ۲۴ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی عرضه به بازار، تغییرات گلوکز روند کاهشی داشت و تقریباً به سطح اولیه بازگشت. کمترین میزان لاکتات نیز قبل از صید دیده شد ( $20/42 \pm 1/27$  mg/dL) و پس از آن میزان این ماده افزایش نشان داد به طوری که بیشترین میزان لاکتات ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی مشاهده شد ( $28/90 \pm 1/40$  mg/dL) که با سایر زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ، شکل ۳). ۲۴ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی مجدداً میزان لاکتات روندی کاهشی داشت و تقریباً به سطح اولیه بازگشت.

(Houston, 1990). به منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید گسترش خونی تهیه و سپس با رنگ‌آمیزی به‌وسیلهٔ محلول گیمسا ۵٪ سلول‌های خونی قابل شناسایی شدند (Campbell and Ellis, 2013).

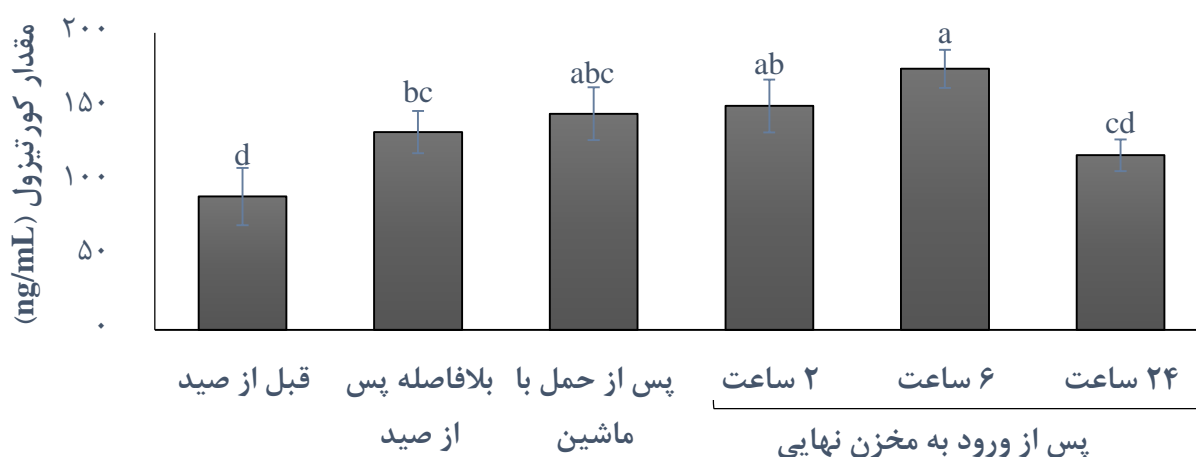
#### ۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25 (IBM, Armonk, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در ابتدا، نرمال بودن داده‌ها به‌وسیلهٔ آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene سنجش شد. آنالیز داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

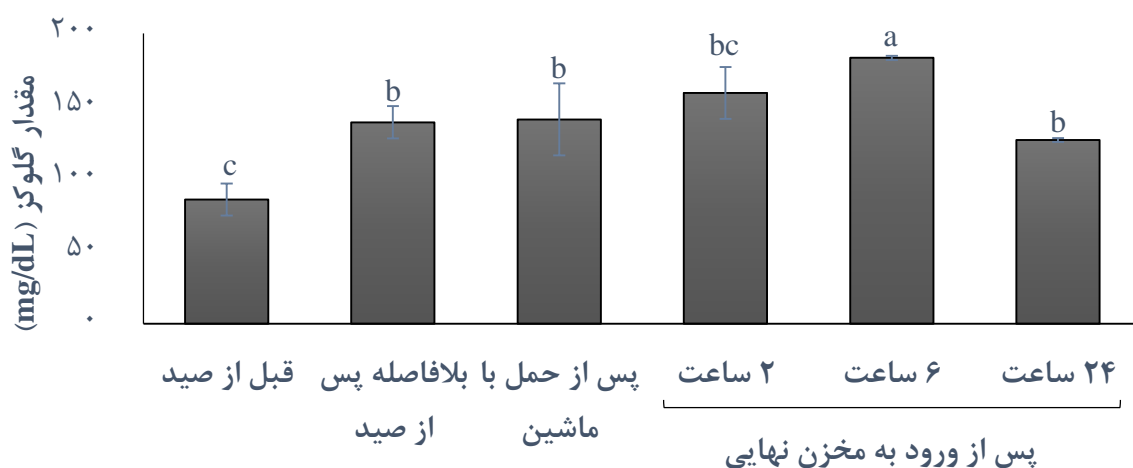
### ۳. نتایج

#### ۱.۳. شاخص‌های استرس

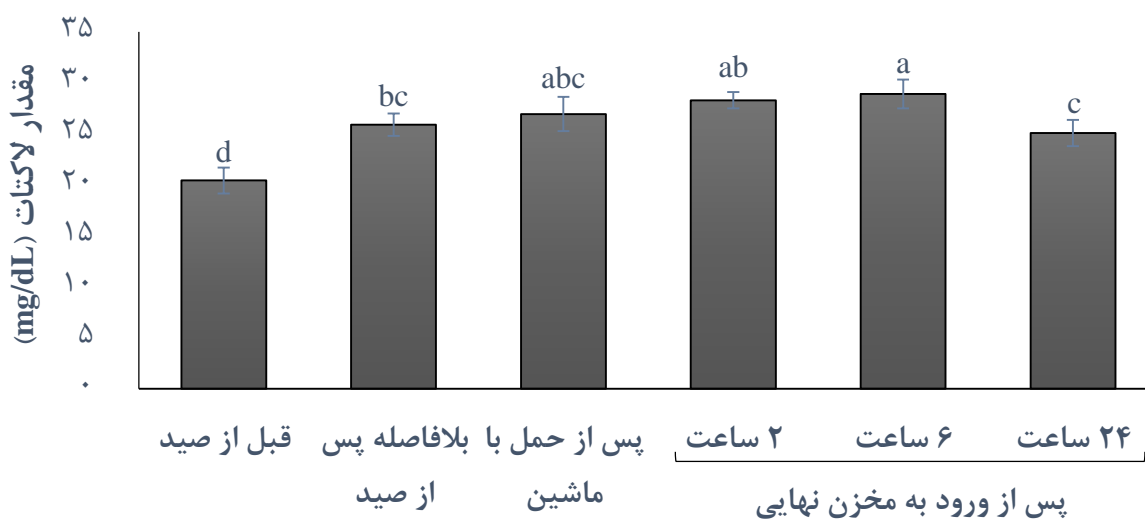
بر اساس نتایج، بیشترین میزان کورتیزول ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخازن نهایی سنجیده شد ( $12/87 \pm 175/80$  ng/mL، شکل ۱). همچنین



شکل ۱- تأثیر استرس صید و حمل و نقل بر میزان کورتیزول پلاسمای خون ماهی آمور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=5$  برای هر زمان) (حروف متفاوت بر روی هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0/05$ )).



شکل ۲- تأثیر استرس صید و حمل و نقل بر میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی آمور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=5$  برای هر زمان) (حروف متفاوت بر روی هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ )).



شکل ۳- تأثیر استرس صید و حمل و نقل بر میزان لاکتات پلاسمای خون ماهی آمور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=5$  برای هر زمان) (حروف متفاوت بر روی هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ )).

### ۲.۳. شاخص‌های خون‌شناسی

اختلاف معنی‌داری نبود ( $P > 0.05$ ). حداقل میزان MCV پس از حمل با ماشین ( $243/0 \pm 3/87$  fL) و همچنین بیشترین میزان آن ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی ( $255/4 \pm 5/02$  fL) مشاهده شد که با سایر زمان‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). کمترین و بیشترین میزان MCH به ترتیب بلافاصله پس از صید و ۲ ساعت

حداکثر میزان هماتوکریت و هموگلوبین پس از حمل ۲۰ دقیقه‌ای ماهیان با ماشین مشاهده شد اما با سایر زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ( $P > 0.05$ ). جدول (۱). همچنین حداکثر تعداد گلبول‌های قرمز در ۲۴ ساعت پس از صید دیده شد اما با سایر زمان‌ها دارای

زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ). حداکثر میزان MCHC پس از حمل ماهیان دیده شد اما با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری نبود ( $P > 0.05$ ).

پس از ورود به مخزن نهایی مشاهده شد ( $P < 0.05$ )، اما در سایر زمان‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) در حالی که حداکثر میزان MCV، ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی دیده شد که با سایر

جدول ۱- تأثیر استرس صید و حمل و نقل بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی آمور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=5$  برای هر زمان)

زمان نمونه‌برداری						شاخص
۲۴ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	۶ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	۲ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	پس از حمل با ماشین	بلافاصله پس از صید	قبل از صید	
۱/۹۴ $\pm$ ۰/۱۸	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۲۱	۱/۷۱ $\pm$ ۰/۱۰	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۱۴	۱/۷۲ $\pm$ ۰/۱۱	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۱۲	RBC ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )
۸/۰۰ $\pm$ ۱/۰۲	۷/۲۶ $\pm$ ۱/۰۵	۷/۵۶ $\pm$ ۰/۴۵	۸/۱۶ $\pm$ ۰/۶۶	۷/۳۴ $\pm$ ۰/۵۳	۷/۱۸ $\pm$ ۰/۵۹	هموگلوبین (g/dL)
۴۵/۶ $\pm$ ۶/۰۶	۴۲/۲ $\pm$ ۶/۱۸	۴۳/۶ $\pm$ ۲/۹۶	۴۶/۲ $\pm$ ۳/۰۳	۴۲/۲ $\pm$ ۲/۵۸	۴۰/۴ $\pm$ ۲/۹۶	هماتوکریت (%)
۲۴۷/۰۰ $\pm$ ۵/۰۹ <sup>bc</sup>	۲۵۵/۴ $\pm$ ۵/۰۲ <sup>a</sup>	۲۵۳/۰۸ $\pm$ ۲/۵۸ <sup>ab</sup>	۲۴۳/۰۰ $\pm$ ۳/۸۷ <sup>c</sup>	۲۴۴/۰۰ $\pm$ ۲/۳۴ <sup>c</sup>	۲۴۵/۰۰ $\pm$ ۱/۸۷ <sup>c</sup>	MCV (fL)
۴۳/۳۶ $\pm$ ۱/۲۰ <sup>ab</sup>	۴۳/۹۶ $\pm$ ۰/۶۴ <sup>a</sup>	۴۴/۰۴ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۴۲/۸۸ $\pm$ ۰/۶ <sup>ab</sup>	۴۲/۰۴ $\pm$ ۰/۵۹ <sup>b</sup>	۴۳/۴۸ $\pm$ ۰/۸۰ <sup>ab</sup>	MCH (pg/cell)
۱۷/۵۰ $\pm$ ۰/۳۰	۱۷/۲۰ $\pm$ ۰/۱۲	۱۷/۳۴ $\pm$ ۰/۲۰	۱۷/۶۴ $\pm$ ۰/۳۲	۱۷/۳۶ $\pm$ ۰/۲۶	۱۷/۰۷ $\pm$ ۰/۴۳	MCHC (g/dL)

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در زمان‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲- تأثیر استرس صید و حمل و نقل بر تعداد و درصد افتراقی گلبول‌های سفید خون ماهی آمور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛  $n=5$  برای هر زمان)

زمان نمونه برداری						شاخص
۲۴ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	۶ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	۲ ساعت پس از ورود به مخزن نهایی	پس از حمل با ماشین	بلافاصله پس از صید	قبل از صید	
۶۹۴۰ $\pm$ ۹۱۲/۶۸ <sup>ab</sup>	۱۲۰۲/۹۰ <sup>a</sup> ۷۶۸۰	۷۵۶۰ $\pm$ ۸۱۱/۱۷ <sup>ab</sup>	۸۱۶۰ $\pm$ ۱۴۲۰/۵۶ <sup>a</sup>	۷۰۸۰ $\pm$ ۱۱۹۰/۳۷ <sup>b</sup>	۵۵۲۰ $\pm$ ۴۵۴/۹۷ <sup>b</sup>	WBC (/mm <sup>3</sup> )
۸۰/۸۰ $\pm$ ۲/۷۷ <sup>ab</sup>	۷۷/۰۰ $\pm$ ۲/۵۴ <sup>b</sup>	۷۸/۸۰ $\pm$ ۲/۱۶ <sup>b</sup>	۷۸/۲۰ $\pm$ ۱/۹۲ <sup>b</sup>	۸۱/۲۰ $\pm$ ۲/۳۸ <sup>ab</sup>	۸۴/۰۰ $\pm$ ۱/۲۲ <sup>a</sup>	لنفوسیت (%)
۱۳/۸۰ $\pm$ ۱/۷۸ <sup>bc</sup>	۱۷/۶۰ $\pm$ ۱/۱۴ <sup>a</sup>	۱۵/۲۰ $\pm$ ۱/۳۰ <sup>ab</sup>	۱۶/۰۴ $\pm$ ۱/۱۴ <sup>a</sup>	۱۳/۰۰ $\pm$ ۱/۲۳ <sup>bc</sup>	۱۱/۸۰ $\pm$ ۰/۸۳ <sup>c</sup>	نوتروفیل (%)
۴/۸۰ $\pm$ ۱/۴۸	۴/۴۰ $\pm$ ۱/۱۴	۵/۲۰ $\pm$ ۰/۸۳	۴/۸۰ $\pm$ ۰/۸۷ <sup>c</sup>	۵/۰۰ $\pm$ ۰/۷۰	۴/۰۰ $\pm$ ۰/۷۰	مونوسیت (%)

حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در زمان‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).

## ۴. بحث و نتیجه‌گیری

### ۴.۱. شاخص‌های استرس

استرس می‌باشد و اندازه‌گیری آن می‌تواند نشان‌دهنده بروز استرس و شدت آن باشد (Barton, 2002). تحت شرایط استرس (دستکاری، حمل و نقل و کمبود اکسیژن) هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین ترشح شده از هیپوتالاموس باعث تحریک هیپوفیز برای ترشح

افزایش سطح کورتیزول خون به‌عنوان شاخص اصلی پاسخ به استرس در نظر گرفته می‌شود (Haukenes et al., 2008). در واقع کورتیزول معمول‌ترین هورمون



وقوع استرس است که این امر در مطالعه بر روی بچه ماهی کپور نقره‌ای تأیید شد و سطح کورتیزول پس از گذشت ۲۴ ساعت از وقوع استرس به نزدیک حالت پایه بازگشت (Falahatkar et al., 2016).

روند تغییرات گلوکز و کورتیزول در مطالعه حاضر تقریباً مشابه هم بود زیرا این دو شاخص در مواقع استرس تقریباً تغییرات مشابهی را از خود نشان می‌دهند؛ در واقع تغییرات گلوکز با تغییرات کورتیزول ارتباط دارد و پس از افزایش کورتیزول میزان گلوکز نیز افزایش می‌یابد (Falahatkar et al., 2016). وقوع استرس یکی از دلایل اصلی بالا بردن میزان گلوکز است، زیرا استرس مصرف انرژی را افزایش می‌دهد (Kavitha et al., 2010). در واقع کورتیزول و کتکول آمین‌ها با تأثیر بر کبد باعث القای گلیکولیز و گلوکونئوزنک‌ه فرآیند ساخت گلوکز از منابع غیر کربوهیدراتی است، می‌شوند. در نهایت، افزایش تجزیه گلیکوژن منجر به هایپرگلیسمی می‌شود تا بدن بتواند با استرس که فرآیندی انرژی‌خواه است، مقابله کند (Jenssen and Waterman, 1998; Costas et al., 2011).

در مطالعه حاضر، میزان گلوکز پس از وقوع استرس افزایش پیدا کرد. این امر در اکثر مطالعات مورد تأیید قرار گرفته است. به‌طور مثال، بیان شده است که حمل و نقل باعث افزایش گلوکز خون در چندین گونه ماهی از جمله بچه ماهی کپور نقره‌ای (Falahatkar et al., 2016)، بچه ماهیان آزاد (Barton, 2000)، ماترینکسا (Urbinati et al., 2004) و سوف حاج طرخان (Acerete et al., 2004) می‌شود. در مطالعه حاضر، بالاترین میزان گلوکز ۶ ساعت پس از وقوع استرس حاد صید اندازه‌گیری شد که این امر در *Scaphirhynchus albus* نیز دیده شده است (Webb et al., 2007). مقادیر بالای گلوکز به مدت طولانی را می‌توان به تقاضای بالای انرژی در ماهیانی که با استرس مواجه بودند، مرتبط دانست. در پژوهش حاضر، میزان گلوکز پس از ۲۴ ساعت روند کاهشی داشت که مشابه نتایج به‌دست آمده بر روی بچه ماهی کپور نقره‌ای (Falahatkar et al., 2016)، ماترینکسا (Urbinati et al., 2004) و همچنین سوف سفید (*Sander lucioperca*) و

آدرنو کورتیکوتروپین می‌شود، این هورمون به قسمت قدامی کلیه وارد شده و با تحریک سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول و به دنبال آن افزایش سطح کورتیزول خون می‌شود (Schreck et al., 2001).

در مطالعه حاضر، افزایش قابل توجه کورتیزول پس از وقوع استرس نسبت به زمان قبل از ایجاد استرس مشاهده شد؛ به‌طوری که میزان کورتیزول از ۸۹/۸۰ mg/dL در بیمار شاهد به میزان ۱۷۵/۸۰ mg/dL در بیشترین حالت خود یعنی ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی رسید که حاکی از این نکته است که در ساعات اولیه پس از بارگیری و حمل نقل میزان استرس در ماهی بیشتر است (Kubilay and Uluköy, 2002). در تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) نیز کورتیزول خون پس از صید و حمل ماهی افزایش یافته، اما برخلاف مطالعه حاضر که کورتیزول در ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی به حداکثر رسید، در آن مطالعه حداکثر کورتیزول در انتهای مرحله حمل یعنی ۱۵ ساعت پس از صید مشاهده شد (Belanger et al., 2001).

پس از وقوع استرس، کورتیزول می‌تواند به ۴۰ تا ۲۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر (Pickering and Pottinger, 1989) و حتی در برخی گونه‌ها به ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر برسد (Barton and Iwama, 1991). در مطالعه حاضر، روند کاهش میزان کورتیزول پس از گذشت ۲۴ ساعت آغاز شد و به میزان ۱۱۷/۶۰ mg/dL رسید که این روند کاهشی با مطالعه بر روی استرس حمل و نقل در ماترینکسا (*Brycon cephalus*) (Urbinati and Carneiro, 2003)، سوف حاج طرخان (*Perca fluviatilis*) (Acerete et al., 2004)، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Falahatkar et al., 2012) و گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) (Refaey and Li, 2018) مطابقت داشت. پس از سازگار شدن ماهی با شرایط استرس‌زا، سطح کورتیزول اغلب می‌تواند به حالت پایه بازگردد (Acerete et al., 2004; Biswas et al., 2006). در واقع، کاهش کورتیزول پس از ۲۴ ساعت در مطالعه حاضر به علت پاکسازی کتکول آمین‌ها و سپس کورتیزول پس از گذشت چند ساعت از

تاسماهی ایرانی (Falahatkar et al., 2012) بود.

در پژوهش حاضر، میزان لاکتات پلاسما در زمان بلافاصله پس از صید افزایش معنی‌داری پیدا کرد که مطابق با مطالعات پیرامون استرس دستکاری در بچه ماهی کپور نقره‌ای (Falahatkar et al., 2016)، *Callorhynchus milii* (Martins et al., 2018) و *Poroderma pantherinum* (Scarponi et al., 2021) بود. میزان لاکتات تا ۲۴ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی به سطح پایه بازنگشت. این امر در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نیز بیان شده است که میزان لاکتات تا ۲۴ ساعت پس از استرس بالا بود (Pankhurst et al., 1994). بالاترین میزان لاکتات ۶ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی دیده شد. میزان لاکتات پلاسما خون ماهی تحت شرایط استرس افزایش پیدا می‌کند که این پدیده، پاسخی به کمبود اکسیژن و افزایش فعالیت تنفسی است، زیرا در شرایط استرس، ذخیره گلیکوژن کاهش و لاکتات در بافت عضله افزایش می‌یابد (Milligan and Girard, 1993). در واقع، سطح لاکتات به‌عنوان واکنش متابولیک فعالیت عضلانی در طی استرس افزایش می‌یابد (Caruso et al., 2005). بالا بودن میزان لاکتات بلافاصله پس از صید احتمالاً به دلیل فعالیت زیاد ماهی در هنگام صید و اسارت آن در تور و همچنین کمبود اکسیژن که منجر به افزایش آن می‌شود، می‌باشد که نتایج مشابه در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Pottinger, 1993) و کپور معمولی (van Raaij et al., 1996) این امر را تأیید می‌کنند.

#### ۲.۴. شاخص‌های خون‌شناسی

در مطالعه حاضر، در طی روند استرس، تعداد RBC افزایش یافت، هرچند که این افزایش معنی‌دار نبود اما می‌توان آن را به آزاد شدن گلبول‌های قرمز از طحال نسبت داد (Vijayan and Leatherland, 1989; Pulsford et al., 1994). از میان فاکتورهای خونی، دو فاکتور غلظت هموگلوبین و هماتوکریت با یکدیگر مرتبط هستند، به نحوی که با افزایش غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت

نیز افزایش می‌یابد (Pearson and Stevens, 1991; Benfey and Biron, 2000). در طی استرس، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش می‌یابد که سه علت احتمالی کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزادسازی مجدد گلبول‌های قرمز اضافی در خون برای این امر وجود دارد (Witters et al., 1990; Pearson and Stevens, 1991). افزایش هماتوکریت و هموگلوبین در مطالعه بر روی ماهی آمور معنی‌دار نبود که این عدم معنی‌داری در مطالعه Urbinari و Carneiro (۱۹۹۸) نیز گزارش شده است و می‌تواند به این دلیل باشد که استرس حاکم در شرایط صید و حمل و نقل پس از آن، نوعی استرس حاد بوده است و از طرفی معمولاً تفاوت معنی‌دار در افزایش میزان هماتوکریت و هموگلوبین در طی استرس مزمن اتفاق می‌افتد (Morales et al., 2005). به‌طور کلی، افزایش هموگلوبین را می‌توان در جهت مقابله ماهی با شرایط استرس‌زا دانست، زیرا تحت این شرایط، ماهی به انرژی بیشتری نیاز دارد و به‌دنبال آن نیاز اکسیژنی از طریق تغییر در میزان هموگلوبین افزایش می‌یابد (Ruane et al., 1999). علت افزایش هماتوکریت را می‌توان به افزایش غلظت هموگلوبین و افزایش تعداد گلبول‌های قرمز نسبت داد (Mousavinezhad et al., 2017). به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که علت افزایش میزان هموگلوبین و هماتوکریت در طی استرس، تأمین اکسیژن اندام‌هایی است که نرخ سوخت و ساز آنها بالا رفته که این امر از طریق افزایش ظرفیت حمل اکسیژن توسط خون صورت می‌گیرد (Ruane et al., 1999).

بالاترین میزان MCV و MCH به ترتیب ۶ و ۲ ساعت پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی مشاهده شد که با زمان قبل از صید دارای تفاوت معنی‌داری بود. بالا بودن میزان MCV و MCH در ساعات اولیه پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی می‌تواند تحت تأثیر اثر آدرنرژیک باشد که در شرایط استرس باعث افزایش آزادسازی گلبول‌های قرمز از طحال می‌شود تا اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها افزایش یابد و نهایتاً مجموع این فرآیندها منجر به تأمین اکسیژن لازم در ساعات اولیه پس از صید می‌شود (Randall and

(Perry, 1992; Val *et al.*, 2004).

در زمانی که ماهی در شرایط استرس‌زا قرار می‌گیرد تغییراتی در غلظت خون به وجود می‌آید، در واقع غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت یا تعداد گلبول‌های قرمز تغییر می‌کند که این تغییرات احتمالاً ناشی از اختلالات اسمزی است (Houston, 1990; Tavares *et al.*, 2004). ثبات تقریبی میزان MCHC در مطالعه حاضر احتمالاً ناشی از این است که موجود با بهبود جریان خون، افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش ضربان قلب به مقابله با رقیق شدن خون می‌پردازد (Mousavinezhad *et al.*, 2017).

یکی از شاخص‌های اصلی سنجش سلامت سیستم ایمنی ماهی تعداد WBC است. در مطالعه حاضر، بیشترین تعداد WBC در زمان پس از حمل با ماشین مشاهده شد که با زمان پیش از صید تفاوت معنی‌داری را نشان داد. این افزایش می‌تواند ناشی از افزایش نیاز به تولید آنتی‌بادی توسط گلبول‌های سفید و همچنین انتقال گلبول‌های سفید از طحال به جریان خون، در طی ساعات اولیه پس از وقوع استرس حاد باشد (Joshi *et al.*, 2002; Fazio *et al.*, 2015). اما تعداد WBC پس از ورود ماهیان به مخزن نهایی و گذر از ساعات اولیه ایجاد استرس حاد، کاهش نشان داد که با مطالعات در رابطه اثر استرس بر روی ازون‌برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) (Yoonaszade *et al.*, 2009) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Falahatkar *et al.*, 2009; Zarejabad *et al.*, 2010; Falahatkar and Poursaeid, 2013) مطابقت دارد. کاهش WBC می‌تواند ناشی از لکوسیتوپنی یا کاهش کلی تعداد لکوسیت‌ها باشد (Mazon *et al.*, 2002). به بیان دیگر، بسته به شدت و زمان استرس و به دلیل فعالیت مداوم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بافت اینترنال در طی استرس، پس از افزایش اولیه تعداد WBC شاهد کاهش تعداد آن خواهیم بود که این امر را می‌توان به تمرکز گلبول‌های سفید در اندام‌های آسیب‌دیده و بنابراین کاهش تعداد آن‌ها در خون نسبت داد (Tort, 2011).

از آنجا که با بروز استرس بدن نیاز به افزایش تعداد

لکوسیت‌ها دارد، این پدیده، موجب تغییر در تعداد و تراکم گلبول‌های سفید در بخش‌های مختلف بدن می‌شود (Wojtaszek *et al.*, 2002). تغییر در تعداد لکوسیت‌ها با کاهش قابل توجه در تعداد و درصد لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها و همچنین افزایش در تعداد و درصد نوتروفیل‌ها دنبال می‌شود. در پژوهش حاضر، تعداد نوتروفیل‌ها افزایش و تعداد لنفوسیت‌ها کاهش یافت که این امر در بچه ماهی کپور نقره‌ای (Falahatkar *et al.*, 2016) و ماهی کاراس (*Carassius carassius*) (Sula and Aliko, 2017) نیز دیده شده است. کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش تعداد نوتروفیل‌ها، از اثرات ثانویه استرس تحت تأثیر هورمون کورتیزول در ماهیان هستند (Mousavinezhad *et al.*, 2017). دو علت اصلی برای این اتفاق وجود دارد؛ اول توزیع مجدد لنفوسیت‌ها به بافت‌های لنفاوی و دوم از بین رفتن لنفوسیت‌ها طی پاسخ سیتولیتیک در واکنش به افزایش کورتیزول خون (Pickering, 1984; Angelidis *et al.*, 1987). در واقع، تحت شرایط استرس مسیر تولید سلول‌های لنفوئید متوقف شده و مسیر تولید سلول‌های میلوئید فعال می‌شود که این امر احتمالاً به دلیل اختلال در سنتز سیتوکیناز توسط سلول‌های بافت لنفومیلوئید می‌باشد که مسئول فرایند‌های تمایز، واکنش‌های بین سلولی و شکل‌گیری سیستم ایمنی همورال و سلولی می‌باشند (Witeska, 2005). دلیل دیگر کاهش لنفوسیت‌ها می‌تواند نشت آن‌ها به داخل اپیتلیوم آبشش، پوست و روده باشد (Ruane *et al.*, 2002).

نتایج این مطالعه نشان داد که عملیات صید و حمل و نقل پس از آن تأثیرات مهمی بر شرایط فیزیولوژیک ماهی‌آمور می‌گذارد که موجب تغییرات معنی‌داری در فاکتورهای خونی و استرسی این ماهی می‌شود. این موضوع می‌تواند بر روی کیفیت لاشه و شرایط نگهداری پس از کشتار ماهی نیز اثرگذار باشد که می‌بایست در مطالعات آینده این مباحث نیز در نظر گرفته شوند. بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به اثرات نامطلوب استرس تا حد ممکن عملیات صید و حمل و نقل ماهی با

حداقل استرس انجام شود و از راهکارهای مدیریتی جدیدی در فرآیند حمل و نقل ماهی استفاده شود.

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارکنان مزرعه پرورش ماهی بامداد و رئیس این مجموعه جناب آقای سیروس مددی، همچنین مهندس نیما مددی، مهندس شایان مذنبی و سایر عزیزانی که در انجام این پروژه همکاری داشته‌اند ابراز می‌داریم.

## ۵. تشکر و قدردانی

## ۶. منابع

## References

- Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A., Tort, L., 2004. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237(1-4), 167-178.
- Adeyemo, O.K., Naigaga, I., Alli, R.A., 2009. Effect of handling and transportation on haematology of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Fisheries Sciences* 3(4), 333-341.
- Angelidis, P., Baudin-Laurencin, F., Youinou, P., 1987. Stress in rainbow trout, *Salmo gairdneri*: effects upon phagocyte chemiluminescence, circulating leucocytes and susceptibility to *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Fish Biology* 31(sA), 113-122.
- Barton, B.A., 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture* 62(1), 12-18.
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* 42(3), 517-525.
- Barton, B.A., Iwama, G.K., 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.
- Barton, B.A., Ribas, L., Acerete, L., Tort, L., 2005. Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to acute handling. *Aquaculture Research* 36(2), 172-179.
- Bayunova, L., Barannikova, I., Semenkova, T., 2002. Sturgeon stress reactions in aquaculture. *Journal of Applied Ichthyology* 18(4-6), 397-404.
- Belanger, J.M., Son, J.H., Laugero, K.D., Moberg, G.P., Doroshov, S.I., Lankford, S. E., Cech, Jr. J.J., 2001. Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* 203(1-2), 165-176.
- Benfey, T.J., Biron, M., 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 184(1-2), 167-176.
- Biswas, A.K., Seoka, M., Takii, K., Maita, M., Kumai, H., 2006. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. *Aquaculture* 252(2-4), 566-572.
- Calcagno, E., Durando, P., Valdés, M.E., Franchioni, L., de los Ángeles Bistoni, M., 2016. Effects of carbamazepine on cortisol levels and behavioral responses to stress in the fish *Jenynsia multidentata*. *Physiology & Behavior* 158, 68-75.
- Campbell, T.W., Ellis, C.K., 2013. Avian and exotic animal hematology and cytology. John Wiley & Sons. 286 p.
- Carneiro, P.C., Urbinati, E.C., 2001. Plasma electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus*, transported under influence of benzocaine. *Journal of Applied Aquaculture* 11(4), 1-13.

- Caruso, G., Genovese, L., Maricchiolo, G., Modica, A., 2005. Haematological, biochemical and immunological parameters as stress indicators in *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* farmed in off-shore cages. *Aquaculture International* 13(1-2), 67-73.
- Chen, Q., Wang, C.H., Lu, G., Song, X., Xu, J.W., Yang, Q.L., Li, S.F., 2009. Analysis of genetic variation in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) from native and colonized regions using ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 37(5), 549-555.
- Cordeiro, O.D., Silva, T. S., Alves, R.N., Costas, B., Wulff, T., Richard, N., Rodrigues, P.M., 2012. Changes in liver proteome expression of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) in response to repeated handling stress. *Marine Biotechnology* 14, 714-729.
- Costas, B., Conceição, L.E., Aragão, C., Martos, J.A., Ruiz-Jarabo, I., Mancera, J.M., Afonso, A., 2011. Physiological responses of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) after stress challenge: effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism. *Aquaculture* 316(1-4), 68-76.
- Daskalova, A., 2019. Farmed fish welfare: stress, post-mortem muscle metabolism, and stress-related meat quality changes. *International Aquatic Research* 11(2), 113-124.
- Dobšíková, R., Svobodová, Z., Blahová, J., Modrá, H., Velišek, J., 2006. Stress response to long distance transportation of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno* 75(3), 437-448.
- Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Efatpanah, I., Meknatkhah, B., 2012. Primary and secondary responses of juveniles of a teleostean, pikeperch *Sander lucioperca*, and a chondrosteian, Persian sturgeon *Acipenser persicus*, to handling during transport. *North American Journal of Aquaculture* 74(2), 241-250.
- Falahatkar, B., Poursaeid, S., 2013. Stress responses of great sturgeon *Huso huso* subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International* 21(4), 947-959.
- Falahatkar, B., Poursaeid, S., Shakoorian, M., Barton, B., 2009. Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*. *Journal of Fish Biology* 75(4), 784-796.
- Falahatkar, B., Rahdari, A., Bagherpour, A., 2016. Stress and hematological responses of juvenile silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) to handling caused by capturing. *Aquatic Physiology and Biotechnology* 4(2), 57-74. (In Persian)
- FAO, 2020. The State of Food Insecurity in the World, Rome, Italy.
- Fazio, F., Ferrantelli, V., Fortino, G., Arfuso, F., Giangrosso, G., Faggio, C., 2015. The influence of acute handling stress on some blood parameters in cultured sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Italian Journal of Food Safety* 4(1), 4-6.
- Gatica, M.C., Monti, G.E., Knowles, T.G., Warriss, P.D., Gallo, C.B., 2010. Effects of commercial live transportation and preslaughter handling of Atlantic salmon on blood constituents. *Archivos de Medicina Veterinaria* 42(1), 73-78.
- Haukenes, A.H., Barton, B.A., Bollig, H., 2008. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. *Journal of Fish Biology* 72(3), 780-784.
- Hosoya, S., Johnson, S.C., Iwama, G.K., Gamperl, A.K., Afonso, L.O.B., 2007. Changes in free and total plasma cortisol levels in juvenile Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) exposed to long-term handling stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146(1), 78-86.
- Houston, C.B., 1990. Blood and circulation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.), *Methods for fish Biology*. American Fishery Society, USA, pp. 415-488.
- Janssens, P.A., Waterman, J., 1988. Hormonal regulation of gluconeogenesis and glycogenolysis in carp (*Cyprinus carpio*) liver pieces cultured in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology* 91(3), 451-455.

- Joshi, P., Harish, D., Bose, M., 2002. Effect of lindane and malathion exposure to certain blood parameters in a fresh water teleost fish *Clarias batrachus*. *Pollution Research* 21(1), 55-57.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S.S., Ramesh, M., 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food and Chemical Toxicology* 48(10), 2848-2854.
- Kubılay, A., Uluköy, G., 2002. The effects of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology* 26(2), 249-254.
- Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova, L.R., Ramos-Enriquez, R., 2009. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress?. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4(2), 158-178.
- Martins, C.L., Walker, T.I., Reina, R.D., 2018. Stress-related physiological changes and post-release survival of elephant fish (*Callorhynchus milii*) after longlining, gillnetting, angling and handling in a controlled setting. *Fisheries Research* 204, 116-124.
- Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinteiro, G.H., Fernandes, M.N., 2002. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish (*Prochilodus scrofa*). *Brazilian Journal of Biology* 62, 621-631.
- Merkin, G.V., Roth, B., Gjerstad, C., Dahl-Paulsen, E., Nortvedt, R., 2010. Effect of pre-slaughter procedures on stress responses and some quality parameters in sea-farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 309(1-4), 231-235.
- Milligan, C.L., Girard, S.S., 1993. Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* 180(1), 175-193.
- Mitchell, A.J., Kelly, A.M., 2006. The public sector role in the establishment of grass carp in the United States. *Fisheries* 31(3), 113-121.
- Morales, A.E., Cardenete, G., Abellán, E., García-Rejón, L., 2005. Stress-related physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research* 36(1), 33-40.
- Mousavinezhad, S.M., Alaf Novirian, H., Falahatkar, B., Ghafoori, H., Babakhani Lashkan, A., 2017. Effect of different temperature regims on blood parameters of *Acipenser ruthenus* during a simulated transport experiment. *Journal of Animal Research* 30(2), 225-236. (In Persian).
- Olsen, Y.A., Einarsdottir, I.E., Nilssen, K.J., 1995. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture* 134(1-2), 155-168.
- Omeji, S., Apochi, J.O., Egwumah, K. A., 2017. Stress concept in transportation of live fishes—a review. *Journal of Research in Forestry, Wildlife and Environment* 9(2), 57-64.
- Pankhurst, N.W., Dedual, M., 1994. Effects of capture and recovery on plasma levels of cortisol, lactate and gonadal steroids in a natural population of rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 45(6), 1013-1025.
- Pearson, M.P., Stevens, E.D., 1991. Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry* 9, 39-50.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G., 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry* 7, 253-258.
- Pottinger, T.G., Moran, T.A., 1993. Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Biology* 43(1), 121-130.
- Pottinger, T.G., Rand-Weaver, M., Sumpter, J.P., 2003. Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilisation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 136(3), 403-417.
- Pulsford, A., Lemaire-Gony, S., Tomlinson, M., Collingwood, N., Glynn, P., 1994. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 109(2), 129-139.

- Randall, D.J., Perry, S.F., 1992. Catecholamines. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Farrell, A.P. (Eds.). *Fish Physiology* 12, Academic Press, London. pp. 255-300.
- Refaey, M.M., Li, D., 2018. Transport stress changes blood biochemistry, antioxidant defense system, and hepatic HSPs mRNA expressions of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Frontiers in Physiology* 9, 1-11.
- Ruane, N.M., Carballo, E.C., Komen, J., 2002. Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Research* 33(10), 777-784.
- Ruane, N.M., Wendelaar Bonga, S.E., Balm, P.H.M., 1999. The adrenergic stress in fish: Control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120(1), 1-27.
- Sadler, J., Wells, R.M., Pankhurst, P.M., Pankhurst, N.W., 2000. Blood oxygen transport, rheology and haematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 184(3-4), 349-361.
- Scarponi, V., Gennari, E., Hughes, W., 2021. Physiological response to capture stress in endemic Southern African catsharks (family Scyliorhinidae). *Journal of Fish Biology* 99(1), 186-196.
- Schreck, C.B., Contreiras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M.I., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture* 197(1-4), 3-24.
- Sula, E., Aliko, V., 2017. Effects of stressors on hematological and immunological response in the fresh water crucian carp fish, *Carassius carassius*. *Second International Conference "Biotechnology in Agriculture"*, Agricultural University of Tirana, Albania, 583-590.
- Szabó, T., Urbányi, B., Müller, T., Szabó, R., Horváth, L., 2019. Assessment of induced breeding of major Chinese carps at a large-scale hatchery in Hungary. *Aquaculture Reports* 14, 100-193.
- Tavares-Dias, M., Bozzo, F.R., Silva Sandrin, E.F., de Campos-Filho, E., De Moraes, F.R., 2004. Blood cells, electrolyte and *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) hepatosomatic and splenosomatic relation in the first gonadal maturation. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 20, 73-80.
- Tort, L., 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology* 35(12), 1366-1375.
- Urbinati, E.C., de Abreu, J.S., da Silva Camargo, A.C., Parra, M.A.L., 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture* 229(1-4), 389-400.
- Val, A.L., Silva, M.N.P., Val, V.M.F.A., 2004. Physiological stress in fish-adjustments and organic disorders: health of aquatic organisms. Sao Paulo, 758 p.
- Van Raaij, M.T.M., van den Thillart, G.E.E.J.M., Vianen, G.J., Pit, D.S.S., Balm, P.H.M., Steffens, A.B., 1996. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, and common carp, *Cyprinus carpio* L., during deep hypoxia and subsequent recovery. *Journal of Comparative Physiology B* 166, 443-452.
- Vijayan, M., Leatherland, J., 1989. Cortisol-induced changes in plasma glucose, protein, and thyroid hormone levels, and liver glycogen content of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*, Walbaum). *Canadian Journal of Zoology* 67(11), 2746-2750.
- Webb, M.A., Allert, J.A., Kappenman, K.M., Marcos, J., Feist, G.W., Schreck, C.B., Shackleton, C.H., 2007. Identification of plasma glucocorticoids in pallid sturgeon in response to stress. *General and Comparative Endocrinology* 154(1-3), 98-104.
- Witeska, M., 2005. Stress in fish-hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology* 1(1), 35-41.
- Witters, H.E., Van Puymbroek, S., Van Den Sande, I., Vanderborght, O.L.J., 1990. Haematological disturbances and osmotic shifts in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* under acid and aluminium exposure. *Journal of Comparative Physiology B* 160, 563-571.

- Wojtaszek, J., Dziewulska-Szwajkowska, D., Łozińska-Gabska, M., Adamowicz, A., Dżugaj, A., 2002. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. *General and Comparative Endocrinology* 125(2), 176-183.
- Yoonaszade, M., Bahmani, M., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Feizbakhsh, H., 2009. The survey of seasonal changes of cortisol, glucose and ionic in farmed female stellate sturgeon, *Acipenser stellatus*. *New Technologies in Aquaculture Development (Fisheries)* 4, 37-46. (In Persian)
- Zaragoza, O.D.R., Rodríguez, M.H., Bückle Ramirez, L.F., 2008. Thermal stress effect on tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) blood parameters. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 41, 79-89.
- Zuberi, A., Ahmad, M., Amir, I., Kamran, M., Ahmad, M., 2020. Influence of early rearing environment on water-borne cortisol and expression of stress-related genes in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Molecular Biology Reports* 47(2), 5051-5060.