

بررسی اثرات ناشی از استرس کلرور سدیم روی قند خون و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

پریوش حافظ امینی^(۱)، شهربانو عریان^(۲) و کاظم پریور^(۳)

P-hafezamini@yahoo.com

۱- تهران صندوق پستی: ۱۹۶۱۵-۵۷۵

۲ و ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران صندوق پستی: ۱۹۵۸۵-۱۸۱

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۱

چکیده

در این تحقیق دو عامل خونی شامل قند خون و هورمون کورتیزول و تغییرات آنها نسبت به مقادیر مختلف شوری در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد مطالعه قرار گرفتند. در ۷ آکواریوم ۱۰۰ لیتری غلظت‌های، (آب معمولی) ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ گرم در لیتر نمک طعام به آب معمولی اضافه شد و در هر کدام ۱۶ ماهی کپور معمولی با اوزان مختلف ۵۰ تا ۹۰ گرم ریخته شد. در زمانهای بین ۱۲ ساعت الی ۹۶ ساعت، از خون ماهیان نمونه‌گیری بعمل آمد و فاکتورهای مزبور سنجش شدند. نتایج نشان داد که با غلظت ۱۸ گرم در لیتر، کلیه ماهیان در کمتر از ۱۲ ساعت تلف شدند. قند خون ماهی کپور معمولی به شوری بالا حساسیت زیادی نشان داد و با افزایش شوری، از مقدار آن کاسته شد. در این تحقیق تغییرات میزان قند خون بین ۱۳/۵ تا ۳۲۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در نوسان بود. هورمون کورتیزول بین ۱۰ تا ۷۰ میکروگرم در دسی‌لیتر متغیر بود و با افزایش شوری افزایش نشان داد.

کلمات کلیدی: قند خون، کورتیزول، کپور معمولی، *Cyprinus carpio*

مقدمه

در بین ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی از سهولت زیادی جهت پرورش برخوردار است و در مقابل تنگناهای محیطی، مقاومت بیشتری نسبت به سایر ماهیان دارد و با وجودی که یک ماهی آب شیرین است، ولی می‌تواند در آبهای لب شور نیز زندگی کند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۶۵).

قند خون یکی از عوامل مهمی است که معمولاً تحت تأثیر هورمون‌ها و کنترل هورمونی است و محققین چند تغییر غلظت آنرا در استرس‌های مختلف بررسی نموده‌اند. از جمله عنوان شده است که استرس اکسیژن می‌تواند روی گلوکز پلاسماهای ماهی کپور معمولی تأثیر بگذارد (سیف‌آبادی، ۱۳۷۵). Chen و همکارانش در سال ۱۹۹۵ معنی‌دار بودن رابطه بین افزایش قند خون ماهی و استرس حرارتی را گزارش نموده‌اند. بعلت گسترده‌گی اندام‌های هدف برای هورمون کورتیزول، آثار فیزیولوژیک آن در همه نقاط بدن دیده می‌شود. مهمترین اثر کورتیزول افزایش مقاومت بدن در مواقع استرس و تداوم حیات است. رابطه تنظیم فشار اسمزی با تغییرات غلظت کورتیزول در ماهی Coho salmon مورد مطالعه قرار گرفته و بالا رفتن این هورمون باعث عدم تعادل فشار اسمزی شده است (Redching, 1983).

در این تحقیق سعی شده که استرس شوری با سنجش قند خون و هورمون کورتیزول ارزیابی گردد تا شرایط مناسب رشد ماهی و حد تحمل ماهی کپور معمولی با غلظت‌های شوری بهنگام سازش پذیری آن در انتقال از آب شیرین به منابع آبی لب شور کشور معین گردد.

مواد و روش کار

۱۱۲ عدد ماهی کپور معمولی سالم در فاصله‌های وزنی ۵ تا ۹۰ گرم و سن ۱ تا ۱/۵ سال از حوضچه پرورش ماهی ورامین (وابسته به بخش خصوصی) تهیه شد و به ۷ آکواریوم به ابعاد ۴۰×۳۰×۹۰ سانتیمتر که حجم هر کدام ۱۰۰ لیتر آب بود منتقل گردیدند. هوادهی توسط پمپ هوا تأمین شد و روزی ۲ بار با غذای مخصوص ماهی، غذادهی (تهیه شده از شرکت چینه) صورت پذیرفت. هر ۲۴ ساعت یکبار و به مدت ۴ روز خونگیری به روش حذفی انجام پذیرفت. دمای آزمایش بطور متوسط 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد و pH آب چاه مصرفی ۶/۸-۶/۵ اندازه‌گیری گردید. آکواریوم اول به عنوان شاهد و آکواریوم ۲ تا ۷ بترتیب با غلظت‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ گرم در لیتر نمک طعام (NaCl) تهیه شدند. در هر آکواریوم ۱۶ عدد ماهی قرار داده شد و خونگیری از ماهیان باروش خونگیری از قلب هر ۲۴ ساعت یکبار و تا ۹۶ ساعت ادامه داشت. فاکتور قند خون و هورمون کورتیزول بلافاصله پس از خونگیری سنجش شدند و در طول آزمایش ماهیان تلف شده

بلافاصله از آکواریومها خارج می‌شدند تا باعث آلودگی نگردند. برای سنجش قند خون از روش اورتوتولونیدین (سیف‌آبادی، ۱۳۷۵) استفاده گردید و مقدار قند با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۰ نانومتر سنجش گردید. سنجش هورمون کورتیزول با روش رادیوایمونواسی (RIA) صورت گرفت. در این روش از دستگاه گاما کاتر و کیت Inestar آمریکا استفاده شد.

نتایج

در تیمار شاهد پس از ۱۲ ساعت، میزان قند خون به مقدار $۲/۵۰۶ \pm ۳۰$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۳ گرم نمک در لیتر روز اول $۲۲/۰۲ \pm ۳۰$ و در روز دوم $۲۰/۴ \pm ۳۳$ و در روز سوم $۱۲/۴ \pm ۱۱۱/۱۱$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۶ گرم نمک در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب $۱۰/۲ \pm ۱۰۳$ و $۱۱۴/۰۸$ و $۱۲/۹ \pm ۷۱$ و $۱۵/۶ \pm ۹۲/۵۹$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

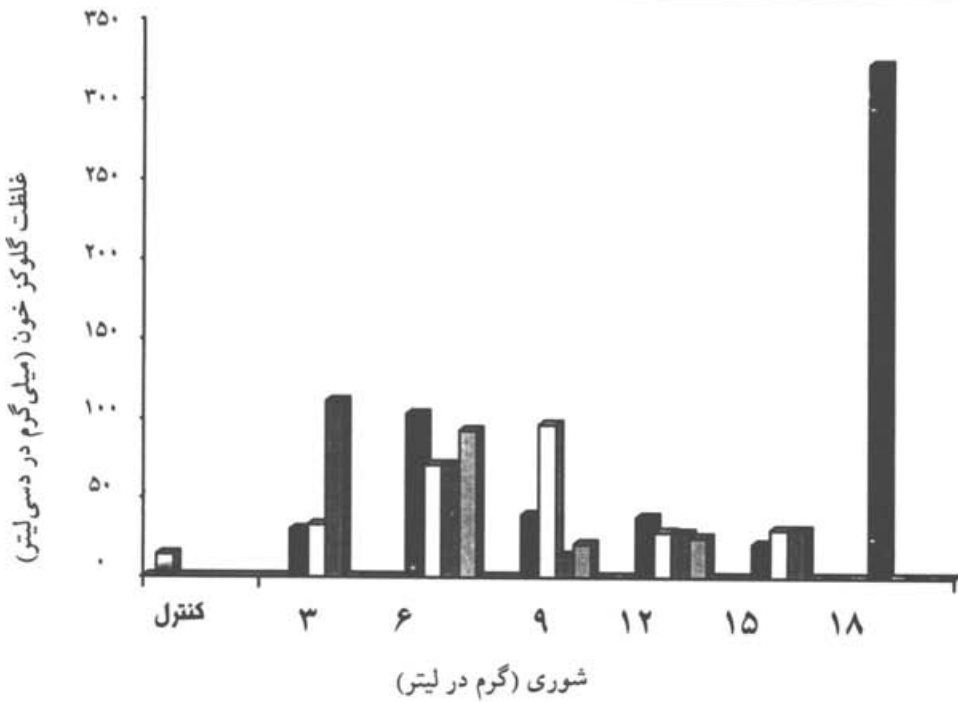
در تیمار مربوط به ۹ گرم نمک در لیتر از روز اول تا چهارم مقادیر قند بترتیب $۲۷/۱ \pm ۳۹$ و $۱۹/۴ \pm ۹۶$ و $۱۲/۹ \pm ۱۳/۵$ و $۱۹/۱ \pm ۲۱$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر سنجش شد.

در تیمار مربوط به ۱۲ گرم نمک در لیتر پس از انتقال به این شوری گلوکز خون از روز اول تا چهارم بترتیب $۱۷/۸ \pm ۳۷$ و $۱۶/۲ \pm ۲۸/۵$ و $۱۷/۴ \pm ۲۸$ و $۲۰/۱ \pm ۲۵$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۱۵ گرم نمک در لیتر روز اول $۱۸/۷ \pm ۲۱$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و روز دوم $۲۰/۱ \pm ۳۰$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و روز سوم $۱۹/۹ \pm ۳۰$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تعیین گردید.

در شوری ۱۸ گرم در لیتر گلوکز خون قبل از مرگ ماهیان سنجش و مقدار $۱۰/۳ \pm ۳۲۱/۴$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

جمع‌بندی مقادیر قند خون ماهی کپور معمولی در شوری‌های مختلف در مدت چهار روز در نمودار ۱ ملاحظه می‌گردد.



روز چهارم روز سوم روز دوم روز اول کنترل

نمودار ۱: غلظت گلوکز خون در شوری‌های مختلف برحسب زمان

سنجش کورتیزول در گروه شاهد پیش از ۱۲ ساعت ۱۴ میکروگرم در دسی‌لیتر بدست آمد (تمامی ماهیان کنترل پس از این مدت از بین رفتند چون وجود مقدار نسبی شوری در آب برای ادامه حیات ماهی کپور معمولی ضروری بنظر می‌رسد).

در شوری ۳ گرم در لیتر در روز اول ۳۰ میکروگرم در دسی‌لیتر و در روز دوم ۲۲ و در روز سوم ۱۰/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در شوری ۶ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب میزان متوسط کورتیزول بترتیب ۲۰/۵ و ۳۳ و ۱۳/۵ و ۳۲ میکروگرم در دسی‌لیتر سنجش گردید.

در شوری ۹ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب مقادیر ۳۶، ۱۰ و ۱۶ و ۷۰ میکروگرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

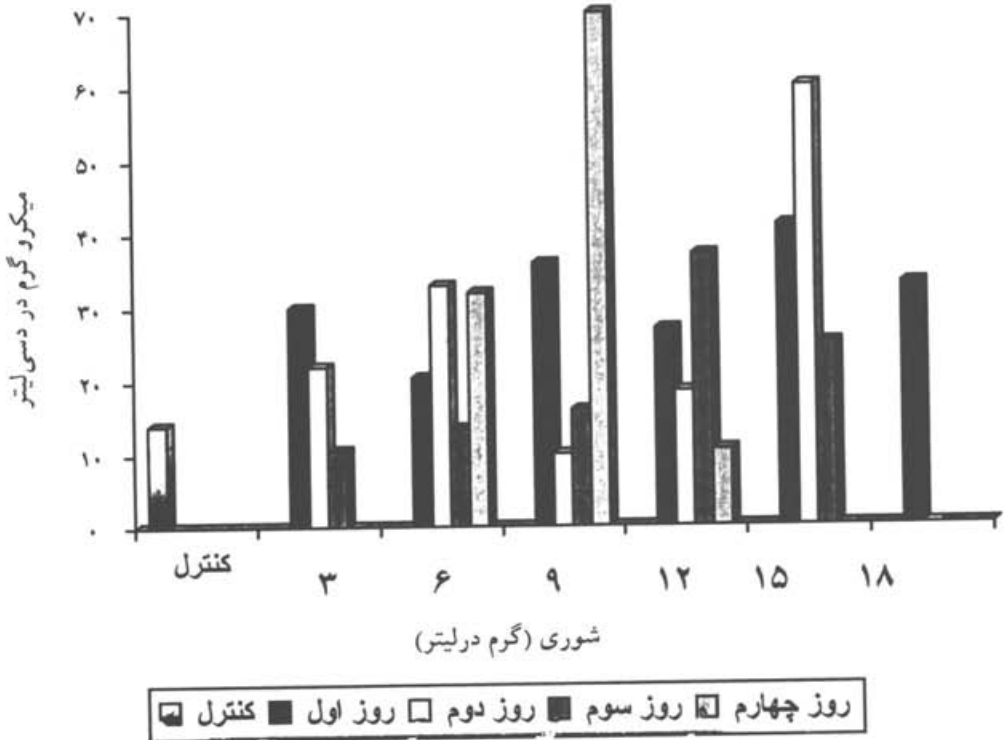
در شوری ۱۲ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب ۲۷، ۱۸/۵، ۳۷ و ۱۰/۵ میکروگرم در

دسی لیتر تعیین گردید.

در شوری ۱۵ گرم در لیتر از روز اول تا سوم مقدار کورتیزول بترتیب ۴۱، ۶۰ و ۲۵ میکروگرم در دسی لیتر سنجش گردید.

در شوری ۱۸ گرم در لیتر که برای کلیه ماهیان مرگ آور بود قبل از ۱۲ ساعت مقدار کورتیزول ۳۳ میکروگرم در دسی لیتر بدست آمد.

جمع بندی مقادیر هورمون کورتیزول در غلظت های مختلف شوری در طی مدت ۴ روز در نمودار ۲، ملاحظه می گردد.



نمودار ۲: غلظت کورتیزول خون در شوری های مختلف بر حسب زمان

بحث

چنانچه بتوانیم از آبهای شور و لب شور منابع داخلی جهت پرورش ماهیانی با ارزش اقتصادی و سازگار با شرایط جدید استفاده کنیم تا حدود زیادی خواهیم توانست کمبود پروتئینهای جانوری را جبران نمائیم.

لازمه سازگار کردن ماهیان، مطالعه زیست شناسی آنها و نیز تعیین بهترین شرایط زندگی برای رشد و نمو و تولید مثل آنها می باشد. استرس شوری می تواند مانع بزرگی در جهت تولید ماهیان سازگار باشد.

ماهی کپور یکی از ماهیان آب شیرین است که ارزش اقتصادی داشته و آمادگی سازگار شدن با آب شور را دارد. بنابراین می بایستی آستانه های تحمل شوری در مورد این ماهی شناخته شود. میزان قند خون در ماهی کپور معمولی در شوری ۶ گرم در لیتر در حد طبیعی، یعنی بین ۷۰ میلی تا ۱۲۰ گرم در دسی لیتر است (سیف آبادی، ۱۳۷۵).

از شوری ۹ گرم به بالا و از روز سوم، قند خون بشدت کاهش نشان داده است که نمایانگر عکس العمل ماهی به استرس می باشد. بطور کلی با بالا رفتن شوری قند خون تا حدود ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر نیز تنزل نموده است. بنابراین شاخص قند خون از نظر کمی شدیدترین تغییرات را نسبت به شوری محیط داشته است.

نتایج این تحقیق در این زمینه با نتایج تحقیق سیف آبادی در سال ۱۳۷۵ همسوئی دارد. ترشح کورتیزول توسط هورمون ACTH که از هیپوفیز آزاد می شود کنترل می گردد. هورمون کورتیزول در اثر استرس های مختلفی که ممکن است به موجود زنده وارد شود تحریک و ترشح می گردد و عوامل محیطی و شیمیایی می توانند عامل این تحریک باشند. تقریباً هر نوع استرس (چه فیزیکی و چه عصبی) موجب یک افزایش فوری و بارز در ترشح ACTH و بدنبال آن در ظرف چند دقیقه منجر به افزایش شدید در ترشح کورتیزول از قشر فوق کلیوی می شود. یکی از آثار متعدد هورمون کورتیزول بالا بردن مقاومت بدن در هنگام استرس بوسیله کاهش جذب گلوکز و تشدید نیاز به سدیم و آب بدن می باشد.

با توجه به نمودار ۲، در مورد نتایج هورمون کورتیزول ملاحظه می شود که در غلظت ۳ گرم در لیتر، مقدار قند خون از روز اول تا سوم افزایش می یابد، در صورتی که میزان هورمون کورتیزول سیر

نزولی دارد که این امر نمایانگر اثر فیدبکی هورمون کورتیزول و قند می باشد، این نتیجه توسط Bone و همکاران در سال ۱۹۹۵ نیز گزارش شده است.

در غلظت ۹ گرم در لیتر شوری، مقدار هورمون کورتیزول به حداقل خود یعنی ۱۰ میکروگرم در دسی لیتر رسیده و به نظر می رسد که در این غلظت استرسی به ماهی وارد نشده است و حداکثر ترشح هورمون در غلظت ۱۵ گرم در لیتر مشاهده می شود. از طرف دیگر در ماهیان فقط نوع کورتیزول آزاد است که از نظر فیزیولوژی فعال می باشد. بنابراین کورتیزول ترکیب شده با پروتئین (CBP)^(۱) که در سنجش مجموعه غلظت کورتیزول موجود است نمی تواند بیانگر تغییرات غلظت کورتیزول آزاد باشد (Thomas, 1990 ; Brown, 1973).

برخی محققین اثر استرس های دیگر نظیر حرارت (Chen *et al.*, 1995) را بررسی نموده و به منظور سازش دادن ماهیان با استرس حتی در بعضی از موارد محیطهای حد واسطی را برای انتقال ماهیان در نظر گرفته بودند در نتیجه استرس آنها را می توان از نوع مزمن قلمداد نمود که نتیجه آن همسویی ازدیاد قند و کورتیزول بوده است.

در ضمن گزارش های متعددی وجود دارند که از عدم موفقیت در سنجش کورتیزول در ردیابی استرس های حاد خبر می دهند (Jeney & Jeney, 1987; Freeman *et al.*, 1981; Thomas, 1990; Heath, 1990) و همچنین محققین دیگری تغییرات کورتیزول را در ساعت های مختلف روز گزارش کرده اند در حالیکه در تحقیق حاضر مقدار کورتیزول در ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح سنجش شده است.

مطالعات نشان می دهد که هورمون کورتیزول از چند ثانیه تا چند دقیقه بسته به شدت تحریک، واکنش نشان می دهد و مجدداً بر اثر عمل تطابق و یا کاهش محرک به میزان اولیه خود برمی گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر علی حائری روحانی استاد گروه زیست شناسی دانشگاه تهران که صمیمانه ما را در اجرای هرچه بهتر این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

سیف آبادی، س.ج. ، ۱۳۷۵. بررسی اثرات غلظت‌های اکسیژن بر کمیت کورتیزول و گلوکز خون به عنوان شاخص‌های استرس و روند رشد کپور معمولی. پایان‌نامه دکترای تخصصی دانشگاه ملی شیلاتی پوسان (کره جنوبی). وزارت فرهنگ و آموزش عالی، ۷۷ صفحه.

وثوقی، غ. و مستجیر، ب. ، ۱۳۶۵. ماهیان آب شیرین چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۷۵ تا ۱۷۸.

- Bone, Q. ; Narshall, N.B. and Blaxter, J.H.S. , 1995. Biology of fishes. Sec.ed. 32 P.
- Brown, M.E. , 1973. The physiology of fishes. Vol. I, Ch. 17, PP.163-199.
- Chen, G.R. ; Sun, L.T. ; Lee, Y.H. and Chang, C.F. , 1995. Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio* exposed to low temperatures. J. of Applied Aquaculture, Vol.5, No. 3. pp.21-31.
- Freeman. H.C. ; Sangalang, G.B. and Uthe, J.F. , 1981. The effects of pollutants on Steroid hormone metabolism in fish. In stress and fish (Ed. A.D. Pickering). London and NewYork, Academic Press. 332 P.
- Heath, A.G.H , 1990. Summary and perspectives. In biological indicators of stress in fish. Am. Fish Soc. Symp., Vol. 8, pp.183-191.
- Jeney, Z. and Jeney, G. , 1987. A system of diagnostic parameters for detection of environmental impacton fish. European association of fish Pathologists. Conference Abstract. 139 P.
- Redching, J.M. , 1983. Stress, osmoregulation and the hormone cortisol in Yearling Coho salmon. Diss. Abst. Int. pt. B. Sci. Vol.43, No.12, 144 P.
- Thomas, P. , 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. Am. Fish. Soc. Symp., Vol. 8, pp.9-28.

Effects of NaCl Stress on Blood Glucose and Cortisol in Common Carp (*Cyprinus carpio*)

Hafez Amini P.⁽¹⁾ ; Oryan Sh.⁽²⁾ and Parivar K.⁽³⁾

P_hafezamani@yahoo.com

1- P.O.Box: 19615-575 Tehran, Iran

2- Science Faculty, Tarbiat Moallem University, Tehran

3- Islamic Azad University, P.O.Box: 19858-181 Tehran, Iran

Received: January 2002

Accepted: September 2002

Key words : Blood glucose, Cortisol, Salinity, Common Carp, *Cyprinus carpio*.

ABSTRACT

In this study, the fluctuation of two parameters of blood glucose and cortisol hormone were investigated in different salinities in *Cyprinus carpio*.

Seven tanks with 100 lit. volume were used and different salinities of 0, 3, 6, 12, 15 and 18 ppm were chosen as treatments. Then, 16 specimen of common carps (each 50-90 g weight) were added to the tanks.

In periods of 12 up to 96 hours, the blood sample was taken from each fish for further measurement of parameters.

The results showed that all fishes died at 18 ppm salinity within less than 12 hours. The blood glucose indicated high sensitivity to the higher salinity.

In this research, blood glucose had a reange of 13.5 to 321.0 mg/dc.lit and also, cortisol showed a fluctuation from 10 up to 70 μ g/dc. lit and its concentration had a direct relationship with increasing the salinity.