

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

پریوش حافظ امینی^(۱), شهربانو عربان^(۲) و کاظم پریور^(۳)

P-hafezamini@yahoo.com

۱- تهران صندوق پستی: ۱۹۶۱۵-۵۷۵

۲- 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، 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 مستجش 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 میلی گرم در دسی لیتر در نوسان بود. هورمون کورتیزول بین ۷۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در دسی لیتر متغیر بود و با افزایش شوری افزایش نشان داد.

لغات 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 تنگکاهای محیطی، مقاومت پیشتری 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 مستجير، ۱۳۶۵).

قند خون یکی از عوامل مهمی است که معمولاً تحت تأثیر هورمونها و کتترل هورمونی است و محققین چند تغییر غلظت آنرا در استرس‌های مختلف بررسی نموده‌اند. از جمله عنوان شده است که استرس اکسیژن می‌تواند روى گلوکز پلاسمای ماهی کپور معمولی تأثیر بگذارد (سیف‌آبادی، Chen و همکارانش در سال ۱۹۹۵ معنی دار بودن رابطه بین افزایش قند خون ماهی و استرس حرارتی را گزارش نموده‌اند. بعلت گستردگی اندام‌های هدف برای هورمون کورتیزول، آثار فیزیولوژیک آن در همه نقاط بدن دیده می‌شود. مهمترین اثر کورتیزول افزایش مقاومت بدن در موقع 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 $۴۰ \times ۳۰ \times ۹۰$ 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 ۲۶ ساعت یکبار و به مدت ۴ روز خونگیری به روش حذفی انجام پذیرفت. دمای آزمایش بطور متوسط ۲۲ ± ۱ درجه سانتی‌گراد و pH آب چاه مصرفی $۶/۸ - ۶/۵$ اندازه‌گیری گردید. آکواریوم اول به عنوان شاهد و آکواریوم ۲ تا ۷ برتریب با غلظت‌های $۱۳, ۹, ۶, ۳$ و $۱۸, ۱۵, ۱۲$ گرم در لیتر نمک طعام (NaCl) تهیه شدند. در هر آکواریوم ۱۶ عدد ماهی قرار داده شد و خونگیری از ماهیان با روش خونگیری از قلب هر ۲۶ ساعت یکبار و تا ۹۶ ساعت ادامه داشت. فاکتور قند خون و هورمون کورتیزول بلا فاصله 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 اورتوتولوئیدین (سیف‌آبادی، ۱۳۷۵) استفاده گردید و مقدار قند با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۰ نانومتر سنجش گردید. سنجش هورمون کورتیزول با روش رادیوایسیونواسی (RIA) صورت گرفت. در این روش از دستگاه گاماکاتر و کیت Incstar آمریکا استفاده شد.

نتایج

در تیمار شاهد پس از ۱۲ ساعت، میزان قند خون به مقدار ۳۰ ± ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۳ گرم نمک در لیتر روز اول ۳۰ ± ۲ و در روز دوم ۳۳ ± ۲ و در روز سوم ۱۱ ± ۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۶ گرم نمک در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب ۱۰ ± ۱ و ۱۰ ± ۰ و ۱۱ ± ۱ و ۱۲ ± ۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

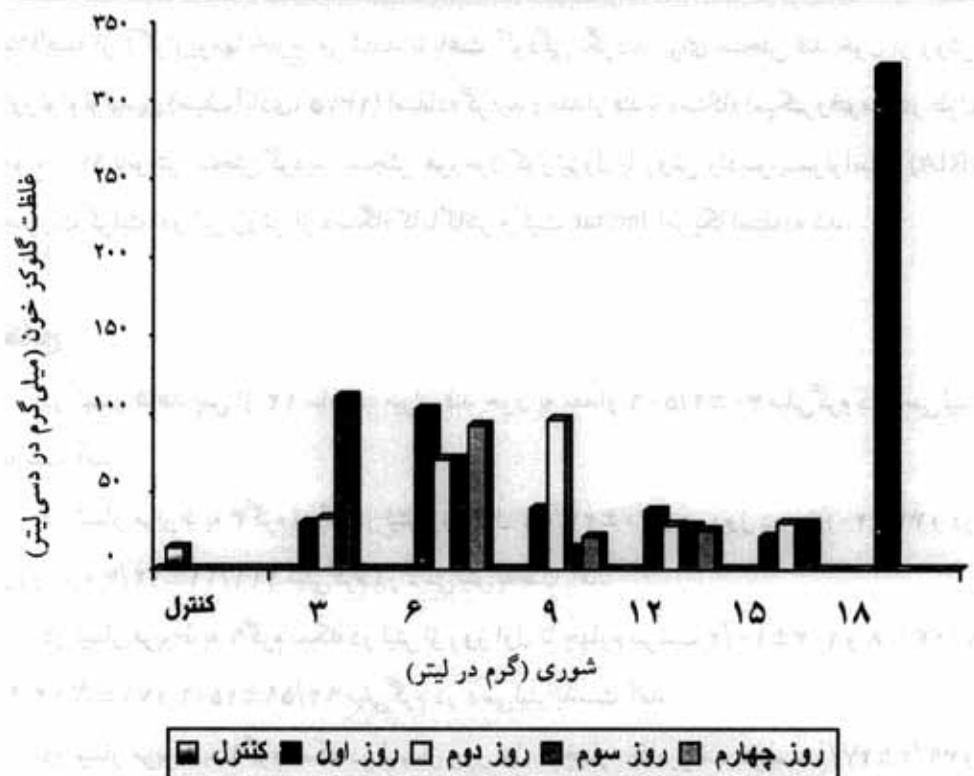
در تیمار مربوط به ۹ گرم نمک در لیتر از روز اول تا چهارم مقدادر قند بترتیب ۱ ± ۲ و ۲ ± ۲ و ۳ ± ۱ و ۹ ± ۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

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 و ۲۸ ± ۵ و ۲۸ ± ۴ و ۲۵ ± ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

در تیمار مربوط به ۱۵ گرم نمک در لیتر روز اول ۲۱ ± ۱۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و روز دوم ۳۰ ± ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و روز سوم ۳۰ ± ۱۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تعیین گردید.

در شوری ۱۸ گرم در لیتر گلوکز خون قبل از مرگ ماهیان سنجش و مقدار ۳ ± ۱ و ۴ ± ۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

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



نمودار ۱: غلظت گلوکز خون در شوری‌های مختلف بر حسب زمان

سنجهش کورتیزول در گروه شاهد پیش از ۱۲ ساعت ۱۴ میکروگرم در دسی‌لیتر بدست آمد (تمامی ماهیان کنترل پس از این مدت از بین رفته‌چون 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 ۱۰، ۱۶ و ۷۰ میکروگرم در دسی‌لیتر بدست آمد.

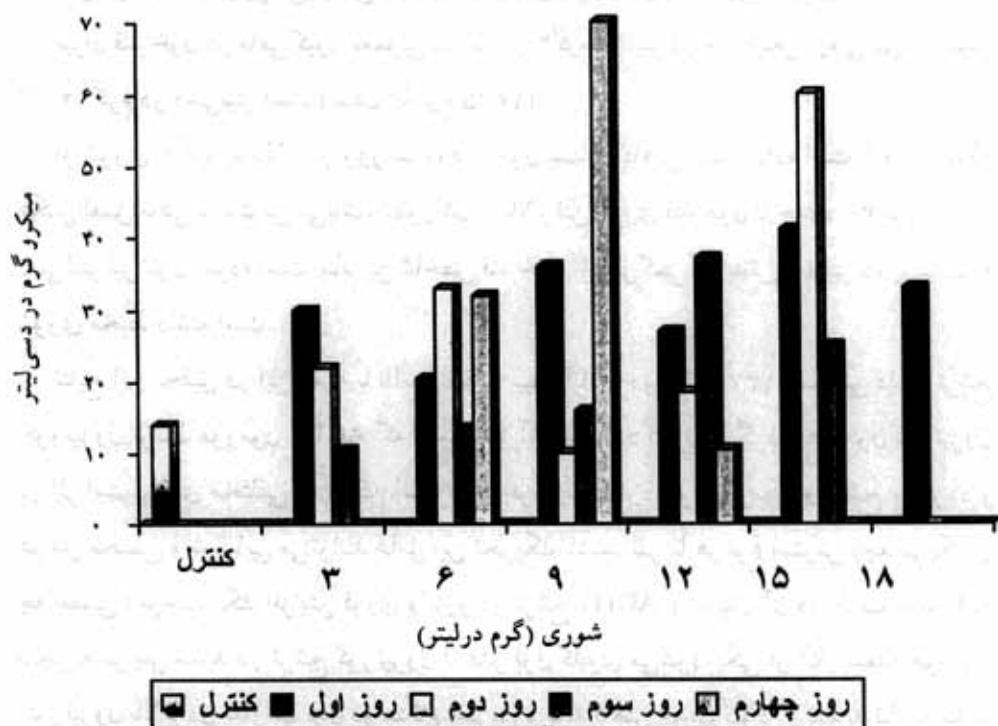
در شوری ۱۲ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب ۲۷، ۱۸/۵، ۱۸/۵ و ۱۰/۵ میکروگرم در

دسى لیتر تعیین گردید.

در شوری ۱۵ گرم در لیتر از روز اول تا سوم مقدار کورتیزول برتریب ۴۱، ۶۰ و ۲۵ میکروگرم در دسى 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 دسى لیتر بدست آمد.

جمع‌بندی مقادیر هورمون کورتیزول در غلظت‌های مختلف شوری در طی مدت ۴ روز در نمودار ۲ ملاحظه می‌گردد.



نمودار ۲: غلظت کورتیزول خون در شوری‌های 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 زیست‌شناسی آنها و نیز تعیین بهترین شرایط زندگی برای رشد و نمو و تولید مثل آنها می‌باشد. استرس شوری می‌تواند 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 می‌بایستی آستانه‌های 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 دسی‌لیتر است (سیف‌آبادی، 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 می‌باشد. بطور کلی با بالا رفتن شوری قند خون تا حدود ۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر 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 سیف‌آبادی در سال ۱۳۷۵ هموئی دارد. ترشح کورتیزول توسط هورمون ACTH که از هیپوفیز آزاد می‌شود کنترل می‌گردد. هورمون کورتیزول در اثر استرس‌های مختلفی که ممکن است به موجود زنده وارد شود تحریک و ترشح می‌گردد و عوامل محیطی و شیمیایی می‌توانند 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 می‌شود. 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 می‌باشد.

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

نزویی 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 از دیاد 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 مجددأ بر اثر عمل تطابق و یا کاهش محرک به میزان اولیه خود بر می 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

سیف‌آبادی، 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 آب‌شیرین چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۷۸ تا ۱۷۹.

- Bone, Q. ; Marshall, 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.