

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

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۱

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۰

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 پلاسمای 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 گستردگی 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 برتیب 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 با روش 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 می شدند تا باعث آلودگی نگردند. برای سنجش قند خون از روش اورتوتولونیدین (سیف آبادی، 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 کانتر و کیت Incstar آمریکا استفاده شد.

نتایج

در تیمار شاهد پس از ۱۲ ساعت، میزان قند خون به مقدار $۲/۵۰۶ \pm ۳۰$ میلی گرم در دسی لیتر 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 $۱۲/۴ \pm ۱۱۱/۱۱$ میلی گرم در دسی لیتر 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 $۱۵/۶ \pm ۹۲/۵۹$ میلی گرم در دسی لیتر بدست آمد.

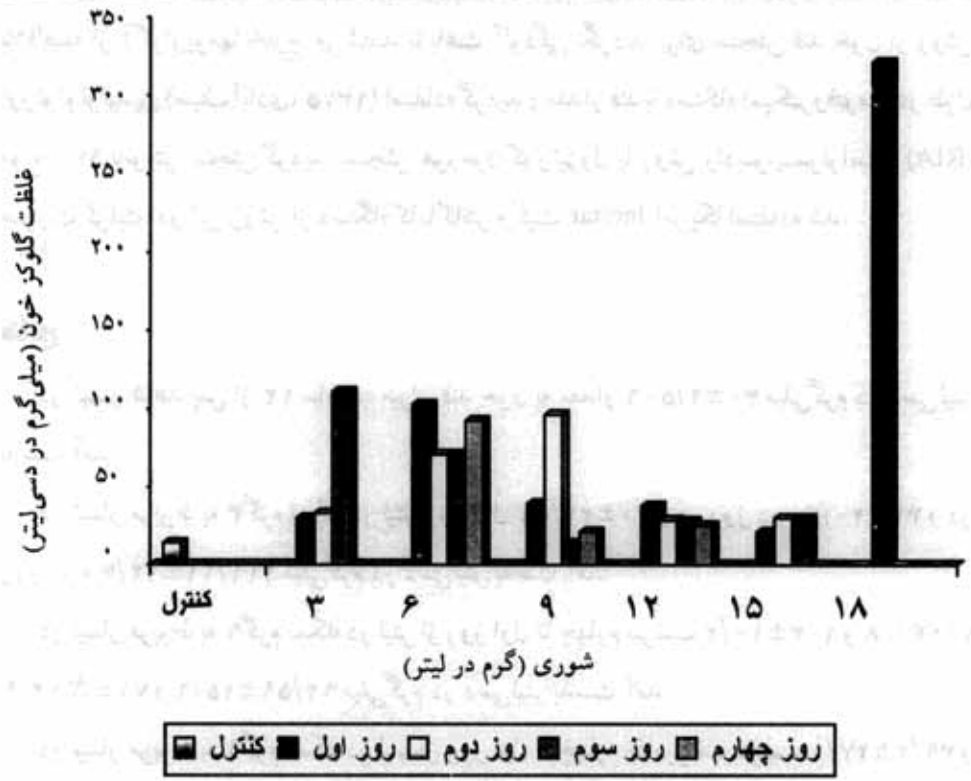
در تیمار مربوط به ۹ گرم نمک در لیتر از روز اول تا چهارم مقادیر قند بترتیب $۲۷/۱ \pm ۳۹$ و $۱/۹ \pm ۹۶/۴$ و $۱۲/۹ \pm ۱۳/۵$ و $۱۹/۱ \pm ۲۱$ میلی گرم در دسی لیتر سنجش شد.

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 $۲/۱۶ \pm ۲۸/۵$ و $۴/۱۷ \pm ۲۸$ و $۱/۲۵ \pm ۲۰$ میلی گرم در دسی لیتر بدست آمد.

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

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

جمع بندی مقادیر قند خون ماهی کپور معمولی در شوری های مختلف در مدت چهار روز در نمودار ۱ ملاحظه می گردد.



■ کنترل ■ روز اول □ روز دوم ■ روز سوم ■ روز چهارم

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.

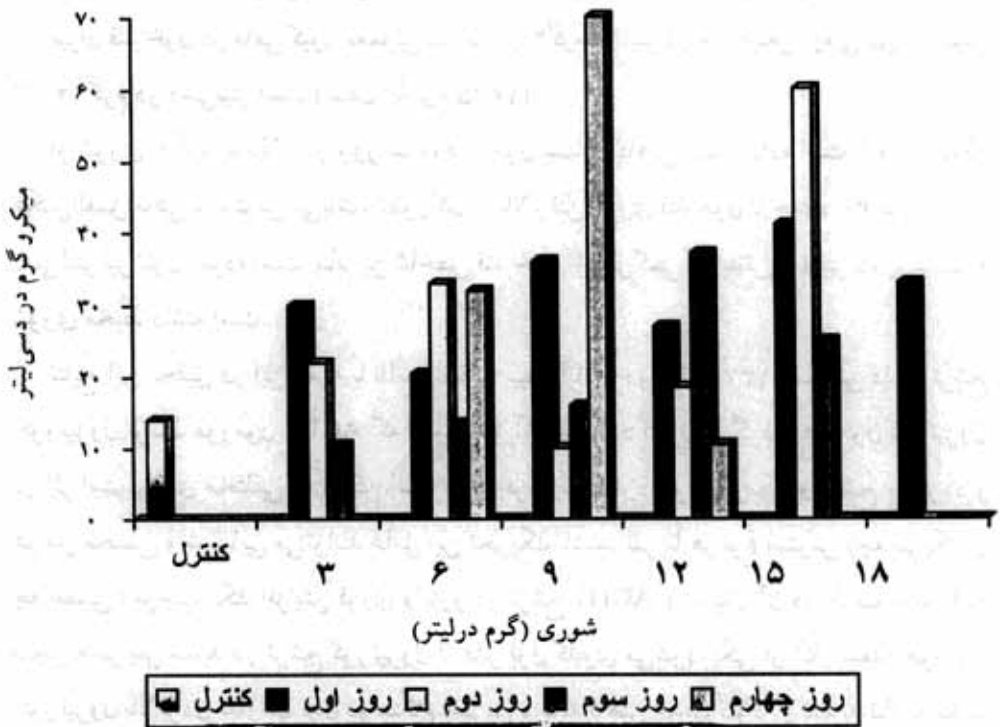
در شوری ۱۲ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب ۲۷، ۱۸/۵، ۳۷ و ۱۰/۵ میکروگرم در

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 برحسب 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 می‌باشد، این نتیجه توسط Bone و همکاران در سال ۱۹۹۵ نیز گزارش شده است. غلظت کورتیزول در خون در طی روز در گاوهای بالغ به طور متوسط ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومول در لیتر است. مقدار هورمون کورتیزول به حداقل خود یعنی ۱۰ میکروگرم در دسی لیتر رسیده و به نظر می‌رسد که در این غلظت استرسی به ماهی وارد نشده است و حداکثر ترشح هورمون در غلظت ۱۵ گرم در لیتر مشاهده می‌شود. از طرف دیگر در ماهیان فقط نوع کورتیزول آزاد است که از نظر فیزیولوژی فعال می‌باشد. بنابراین کورتیزول ترکیب شده با پروتئین (CBP)^(۱) که در سنجش مجموعه غلظت کورتیزول موجود است نمی‌تواند بیانگر تغییرات غلظت کورتیزول آزاد باشد (Thomas, 1990 ; Brown, 1973).

برخی محققین اثر استرس‌های 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 می‌توان از نوع مزمن قلمداد نمود که نتیجه آن همسویی از دیاد قند و کورتیزول بوده است. در ضمن گزارش‌های متعددی وجود دارند که از عدم موفقیت در سنجش کورتیزول در ردیابی استرس‌های حاد خبر می‌دهند (Jeney & Jeney, 1987; Freeman *et al.*, 1981; Thomas, 1990). Heath, 1990) و همچنین محققین دیگری تغییرات کورتیزول را در ساعت‌های مختلف روز گزارش کرده‌اند در حالیکه در تحقیق حاضر مقدار کورتیزول در ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح سنجش شده است.

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

تشکر و قدردانی

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

منابع

- سیف آبادی، س.ج.، ۱۳۷۵. بررسی اثرات غلظت های اکسیژن بر کمیت کورتیزول و گلوکز خون به عنوان شاخص های استرس و روند رشد کپور معمولی. پایان نامه 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.II , 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 impact on 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.