

اثر بلندمدت کورتیزول خوراکی بر مقاومت به تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

آذر بیگزاده تاکری^{*}، محمدرضا ایمانپور و وحید تقی‌زاده

دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۷؛ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲

دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان

*مسئول مکاتبات: beikzad@gmail.com

چکیده. کورتیزول کورتیکواستروئیدی است که مهم‌ترین اثر آن تنظیم اسمزی در ماهیان دریازی است. هدف این مطالعه بررسی اثر کورتیزول خوراکی بر مقاومت به تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی *Cyprinus carpio* است. برای این منظور، کپور معمولی (1.36 ± 0.12 گرم) به مدت ۸ هفته با غذای تجاری حاوی صفر (شاهد)، ۵۰ (۱)، ۱۰۰ (۲) و ۲۰۰ (۳) میلی‌گرم بر کیلوگرم غذای هیدروکورتیزون تغذیه شدند (۳ تیمار و یک گروه شاهد و ۳ تکرار). سپس مقاومت در برابر تنش شوری، طی ۷ روز مقابله با شوری ۱۲ ppt، با اندازه‌گیری تغییرات هماتوکریت و پارامترهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، کلسیم و پروتئین کل) بررسی شد. نتایج نشان داد میزان بازماندگی بین تیمارها پس از ۷ روز مقابله با شوری، اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). میزان گلوکز قبل از تنش، در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از سه تیمار تغذیه‌شده با سطوح مختلف کورتیزول بود (73.04 ± 1.40) ($p < 0.05$) و پس از تنش، در تمام تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) و بیشترین مقدار در تیمار ۲ و ۳ مشاهده شد ($p < 0.05$). بیشترین میزان هماتوکریت پس از تنش در گروه شاهد مشاهده شد (61.67 ± 2.08) ($p < 0.05$). میزان یون کلسیم پس از تنش در تمامی تیمارها جز گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) که بیشترین مقدار در تیمار ۳ مشاهده شد (11.17 ± 0.31). پروتئین کل، در ماهیان تیمار شده با کورتیزول به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که کورتیزول خوراکی می‌تواند مقاومت بچه‌ماهی کپور معمولی را به تنش شوری افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی. کورتیزول، گلوکز، تنش شوری، تنظیم اسمزی، کپور معمولی

Long time effect of oral cortisol on resistant to salinity changes in Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) fingerling

Azar Beikzade Takori^{*}, Mohammad Reza Imanpoor and Vahid Taghizadeh

Received 17.05.2014 / Accepted 24.08.2015

Department of Fishery and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Correspondent author: beikzad@gmail.com

Abstract. Cortisol is a corticosteroid hormone which has important effects on osmoregulation in marine fish. In this study the effect of oral cortisol on resistance (salinity stress in 12ppt during 7 days) in common carp (*cyprinus carpio*) fry was investigated. For this purpose, common carp (1.36 ± 0.12 gr) was distributed in 3 treatments and 1 control group in 3 replicates and fed with commercial food containing 0 (control), 50, 100 and 200 mg kg⁻¹ food hydrocortisone during 8 weeks. At the end of the trial, hematocrit, biochemical blood parameters (glucose, calcium and total protein) and resistance of fish were determined. The results showed no significance in survival rates between treatments ($p > 0.05$). Glucose levels in the control treatment was significantly lower than other treatments at the end of the trial by serological investigation ($p < 0.05$). Fish were let in salinity stress and after 7 days all treatments showed a significant increase in the value of glucose ($p < 0.05$). The highest value of glucose was observed in fish on fed 100 and 200mg hydrocortisone per kg⁻¹ food (73.04 ± 1.40) ($p < 0.05$) and the highest level of haematocrit was observed after stress in the control group (61.67 ± 2.08) ($p < 0.05$). Calcium Ionic factor showed a significant increase in all treatments except for the control treatment (11.17 ± 0.31) ($p < 0.05$) and the highest value was observed in fish fed 200 mg hydrocortisone per kg⁻¹. Total protein in fish treat-cortisol was significantly lower than the control group ($p < 0.05$). The results of this study showed that oral administration of cortisol can improve the salinity resistance in the common carp fry.

Keywords. cortisol, glucose, salinity stress, osmoregulation, common carp

مقدمه

کپور معمولی با نام علمی (*Cyprinus carpio* L. 1758) به طور طبیعی در حوضه دریای خزر، سیاه، آرال و حوضه‌های کم عمق رودخانه ولگا زندگی می‌کند و جزء ماهیان استخوانی و اقتصادی دریای خزر است. بیشترین فراوانی این گونه در جنوب شرقی دریای خزر (خلیج گرگان و تالاب گمیشان) است. این ماهی جزء ماهیان رود کوچک است که برای تخم‌ریزی و تکثیر به آب شیرین رودخانه‌ها و تالاب‌ها وابسته است (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). آمارها حاکی از آن است که صید این ماهی در دهه‌های اخیر نوسان داشته است و همچنین رهاکردن فاضلاب کارخانه‌ها و فاضلاب کشاورزی به آب رودخانه‌ها باعث آلودگی آب‌ها به کودهای شیمیایی و دیگر آلاینده‌ها شده است. در نتیجه تخم‌ریزی اندک مولدین باقی‌مانده با مشکل مواجه می‌باشد (عبدالملکی و غنی‌نژاد، ۱۳۸۶) که برای جبران این مسأله و به منظور بازسازی ذخایر اقدام به تکثیر نیمه‌طبیعی این ماهی شده است، اما بقا و بازدهی پایین در مراکز تکثیر و پرورش ماهی یکی از بزرگ‌ترین عوامل موثر در جلوگیری از بازسازی مناسب ذخایر ماهی است (Maynard et al., 1995; Olla et al., 1998). یکی از مشکلات مربوط به تلفات بچه‌ماهیانی است که از مراکز تکثیر رها می‌شوند (Olla et al., 1998). لذا الگوی مناسبی برای کاهش مرگ‌ومیر بعد از رهاکردن ضروری است. یکی از مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیک موثر در موفقیت رهاسازی ماهیان توانایی تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان در محل رها شدن و نیز هنگام انتقال از محل رهاسازی به مقصد نهایی یعنی دریا است (عطایی‌مهر و همکاران، ۱۳۸۵).

کورتیزول مهم‌ترین کورتیکوستروئیدی است که از طریق بافت درون‌ریز غده بین کلیوی ماهی‌ها تولید می‌شود. این هورمون هر دو فعالیت گلوکوکورتیکوئیدی و مینرالوکورتیکوئیدی را از خود نشان می‌دهد که مهم‌ترین اثرش تنظیم اسمزی در ماهیان دریازی است، زیرا در نمو سلول‌های غنی از میتوکندری (سلول‌های کلراید) نقش دارد (Evans et al., 2005). همچنین می‌تواند باعث کاهش التهاب، تخفیف واکنش‌های ایمنی، تأثیر بر متابولیسم و افزایش قند خون در بدن شود (McCormick, 2011). این هورمون به صورت مستقیم یا

غیرمستقیم نقش مهمی در جنبه‌های مختلف فیزیولوژی ماهی شامل متابولیسم واسطه، تنظیم یونی و اسمزی، رشد، استرس و عملکرد ایمنی بازی می‌کند (Henderson & Garland, 1980; McCormick, 1995; Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999). کورتیکواستروئیدی بیشترین غلظت را در آبشش، روده و کلیه دارند و فراوانی آنها اغلب تحت تأثیر شوری محیط تغییر می‌کند (McCormick, 2011). تأثیر کورتیزول برای افزایش قدرت مواجهه با شرایط اسمولالیه جدید، چشمگیرتر از دیگر هورمون‌ها است. اثر پاسخ هورمونی، سلول‌های غنی از میتوکندری آبششی را به تغییرات سازشی تحریک می‌کند. این سلول‌ها نقش بسیار مهمی در تنظیم آب و مواد معدنی و سازش با شوری‌های جدید دارند (Varsamos et al., 2005). Khoshnood و همکاران دریافتند که هورمون کورتیزول با منشأ خارجی در بچه‌تاسماهی ایرانی می‌تواند سبب ایجاد تغییرات مورفولوژیک، مورفومتریک و بیوشیمیایی در بافت آبششی در جهت آمادگی ماهی در مواجهه با شوری‌گرد (Khoshnood et al., 2009). برخی تحقیقات ثابت کرده است که کورتیزول اثر مهمی بر جذب یون در نتیجه تنظیم اسمزی در آب شور و شیرین دارد (Nakano et al., 1998; Varsamos, 2002; Mancera et al., 2002). در اکثر ماهیان استخوانی، کورتیزول نقش فیزیولوژیکی در بالا بردن جذب یونی دارد. این وظیفه کورتیزول نمی‌تواند از اهمیت نقش کورتیزول در ترشح نمک‌ها کم کند (McCormick, 2011). Sanchez و همکاران در بررسی *Acipenser naccarii* در آب شور با تأکید بر سن، وزن و اندازه‌گیری اسمولالریته، عوامل خونی (Hct, Hb, RBC) و یون‌های سرم خون (Mg^{+2} , Ca^{+2} , K^{+} , Na^{+} , Cl^{-}) در ماهیان مشخص شد که سیستم تنظیم یونی-اسمزی مستقل از سن نیست و مطالعه همزمان سن به همراه وزن در بررسی روند سازش‌پذیری ماهیان به آب شور موثرتر است. در این تحقیق میزان یون‌های سرم خون و اسمولالریته ماهیان در محیط آب شور افزایش و مقادیر هموگلوبین و همتوکریت آنها کاهش یافت (Sanchez de Lamadrid et al., 2000). Abo Hegab و Hanke اعلام کردند که انتقال کپور (حدود ۴۰ گرم در دمای ۱۶ درجه) از

شوری صفر به ۱۵ قسمت در هزار موجب تلفات نمی‌شود بلکه شاخص‌های استرس خون را تغییر می‌دهد (Abo Hegab & Hanke, 1984). در نتیجه شاید بتوان بچه‌ماهیان کپور معمولی را قبل از رهاسازی با استفاده از این هورمون به صورت خوراکی به شوری دریای خزر سازش داده و بعد رها کرد. فاکتورهای خونی به میزان زیادی به عنوان نشانگرهای فیزیولوژیکی واکنش به استرس در ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Cataldi et al., 1998) که در تحقیق حاضر برخی از مهم‌ترین آنها شامل، همتوکریت، گلوکز و پروتئین کل به عنوان شاخص‌های استرس و کلسیم به عنوان یکی از یون‌های تأثیرگذار در تنظیم اسمزی بررسی شدند. این تحقیق با هدف تعیین اثر کورتیزول خوراکی مقاومت به تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به مدت ۱۰ هفته (دو هفته سازگاری، هشت هفته پرورش) انجام شد. تعداد ۲۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $1/36 \pm 0/12$ گرم و میانگین طولی $4/15 \pm 0/19$ سانتی‌متر از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی سیجوال تهیه شدند. ماهیان ابتدا با غوطه‌وری در محلول نمک دو درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی و سپس در تانک‌های ۴۰۰ لیتری (با حجم مفید آبیگری ۲۰۰ لیتر) و با تراکم ۲۰ قطعه در هر تانک ذخیره‌سازی شدند (دما 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد؛ PH برابر $7/8 \pm 0/07$ ؛ میزان اکسیژن برابر $5/9 \pm 0/65$ میلی‌گرم بر لیتر؛ میزان سختی آب ۲۶۰ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم و شرایط نوری در طول دوره آزمایش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود).

پس از دو هفته تغذیه با جیره کنترل (انرژی ۳۰۰۱، شرکت ماهیران) جهت سازگاری، ماهیان سپس به مدت هشت هفته با غذای حاوی صفر (گروه شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کورتیزول (هیدروکورتیزون، سیگما، آلمان) به‌ازای هر کیلوگرم غذا و به میزان سه درصد وزن بدن و در سه وعده در طول روز، تغذیه شدند و همه گروه‌ها دارای سه تکرار بودند. به

منظور تهیه جیره ابتدا مقادیر لازم کریستال‌های کورتیزول در اتانول ۹۶ درصد حل شد. سپس بر سطح پلت‌های غذایی اسپری شد و پلت‌ها به منظور تبخیر اتانول در معرض هوای آزاد و خشک قرار داده شدند. سپس تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Olla et al., 1998). پس از پایان دوره جهت سنجش اثر هورمون کورتیزول اضافه‌شده به جیره، بچه‌ماهیان به مدت هفت‌روز تحت تنش شوری ۱۲ ppt قرار گرفتند. درصد بازماندگی آن‌ها پس از تنش شوری از فرمول زیر محاسبه شد.

درصد بازماندگی: {تعداد ماهیان اولیه - تعداد ماهیان پس از قرارگیری در معرض استرس شوری / تعداد ماهیان اولیه} ضربدر ۱۰۰

به منظور سنجش اثر فیزیولوژیک کورتیزول، خون‌گیری از طریق قطع ساقه دم و با استفاده از لوله‌های موبینه هیارینه انجام شد. اولین خون‌گیری قبل از تنش شوری و سپس در روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم پس از تنش انجام گرفت. نمونه‌های خون جهت جداسازی سرم سانتریفیوژ شد (۳ دقیقه؛ $13600g$). در آزمایش‌های سرولوژیکی درصد همتوکریت با استفاده از دستگاه همتوکریت‌خوان، پارامترهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، پروتئین کل و کلسیم) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند (مکوندی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Cataldi, 1998).

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک-طرفه (one-way ANOVA) انجام پذیرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد و برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) و Excel (۲۰۰۷) استفاده شد.

نتایج

در جدول ۱ درصد بازماندگی پس از تنش شوری را در تیمارهای مختلف مشاهده می‌کنید که از لحاظ معنی‌داری تفاوتی با یکدیگر نداشتند ($p > 0/05$). ولی در ماهیان گروه شاهد بی‌حالی و بی‌قراری دیده شد.

جدول ۱- درصد بازماندگی پس از تنش شوری ۱۲ ppt.

Table 1. Survival rate after salinity 12 ppt.

تیمار	گروه ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
	شاهد	۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول	۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول	۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول
درصد بازماندگی	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a

حروف انگلیسی یکسان در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار است.

Same English letters in each row indicate no significant difference in the 0.05. Data are in the form of mean $\pm$ standard deviation.

جدول ۲ به بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون می‌پردازد و نشان می‌دهد که میزان گلوکز قبل از تنش شوری ۱۲ ppt، در گروه شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود ($p < 0/05$) و پس از تنش شوری، در تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$) که در روز اول پس از تنش،

بیشترین افزایش در تیمار ۳ و ۴ ($187/10 \pm 34/22$) مشاهده شد ($p < 0/05$). از روز سوم پس از تنش، میزان گلوکز کاهش یافت و در روز هفتم، بیشترین مقدار در تیمار ۴ ($132/17 \pm 2/64$) مشاهده شد ($p < 0/05$).

جدول ۲- تغییرات غلظت شاخص گلوکز بر حسب میلی گرم در دسی‌لیتر.

Table 2. Concentration changes of glucose index (mg.dl⁻¹).

شاخص گلوکز / تیمار	گروه ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
	شاهد	۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول	۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول	۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم غذای کورتیزول
قبل از تنش	۷۳/۰۴ $\pm$ ۱/۴۰ ^{bD}	۸۳/۱۹ $\pm$ ۱/۶۳ ^{aC}	۸۰/۷۲ $\pm$ ۱/۵۱ ^{aD}	۸۵/۳۶ $\pm$ ۱/۷۶ ^{aE}
روز اول پس از تنش	۱۳۵/۵۱ $\pm$ ۱/۴۰ ^{bA}	۱۵۴/۲۰ $\pm$ ۱۲/۵۰ ^{abA}	۱۸۷/۱۰ $\pm$ ۳۴/۲۲ ^{aA}	۱۷۲/۳۲ $\pm$ ۳/۲۹ ^{aA}
روز سوم پس از تنش	۱۱۰/۵۸ $\pm$ ۱۳/۷۹ ^{bB}	۱۲۶/۲۳ $\pm$ ۱۱/۹۷ ^{bB}	۱۵۳/۷۷ $\pm$ ۶/۷۵ ^{aB}	۱۶۳/۱۹ $\pm$ ۴/۵۲ ^{aB}
روز پنجم پس از تنش	۸۸/۹۸ $\pm$ ۱/۷۶ ^{cC}	۱۲۸/۲۶ $\pm$ ۱۹/۹۹ ^{bB}	۱۳۱/۵۹ $\pm$ ۳/۰۸ ^{aBC}	۱۴۷/۹۷ $\pm$ ۲/۱۹ ^{aC}
روز هفتم پس از تنش	۸۷/۹۷ $\pm$ ۰/۶۶ ^{cC}	۱۱۸/۹۹ $\pm$ ۱/۰۹ ^{bB}	۱۱۴/۴۹ $\pm$ ۱۰/۵۱ ^{bC}	۱۳۲/۱۷ $\pm$ ۲/۶۴ ^{aD}

حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده است.

Small English letters in each row and capital English letters in each column indicate significant difference in the 0.05. Data are in the form of mean $\pm$ standard deviation.

جدول ۳ نشان می‌دهد که میزان هماتوکریت در پایان دوره بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). پس از تنش شوری میزان هماتوکریت در تمامی تیمارها به جز تیمار ۲ به طور معنی‌داری افزایش یافت که بیشترین مقدار آن در گروه شاهد

($61/67 \pm 2/08$) مشاهده شد ($p < 0/05$). از روز سوم میزان هماتوکریت در تمامی تیمارها کاهش یافت اما اختلاف روز سوم تا هفتم معنی‌دار نبود و کمترین میزان هماتوکریت در روز هفتم در تیمار ۴ ($43/33 \pm 0/57$) مشاهده شد ($p < 0/05$).

جدول ۳- تغییرات شاخص هماتوکریت بر حسب درصد.

Table 3. Changes in hematocrit index (%).

شاخص هماتوکریت / تیمار	گروه ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
	شاهد	۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول
قبل از تنش	۴۹/۳۳±۶/۶۶ ^{aB}	۵۴/۶۶±۱۰/۶۹ ^{aA}	۴۲/۳۳±۱/۱۵ ^{aC}	۴۸/۳۳±۷/۵۰ ^{aAB}
روزاول پس از تنش	۶۱/۶۷±۲/۰۸ ^{aA}	۵۸/۶۷±۳/۵۱ ^{aA}	۴۸/۶۷±۰/۵۸ ^{bA}	۵۴±۱ ^{bA}
روز سوم پس از تنش	۵۱±۱ ^{aB}	۵۲/۶۷±۱/۵۳ ^{aA}	۴۷±۱ ^{bB}	۴۷/۶۷±۰/۵۸ ^{bAB}
روز پنجم پس از تنش	۴۸/۳۳±۳/۵۱ ^{abB}	۵۱±۳ ^{aA}	۴۵/۳۳±۰/۵۸ ^{bB}	۴۴/۶۷±۱/۵۳ ^{bB}
روز هفتم پس از تنش	۴۸/۵۰±۴/۴۴ ^{abB}	۵۰/۳۳±۲/۰۸ ^{aA}	۴۶±۱ ^{abB}	۴۳/۳۳±۰/۵۷ ^{bB}

حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

Small English letters in each row and capital English letters in each column indicate significant difference in the 0.05. Data are in the form of mean ± standard deviation.

جدول ۴ نشان می‌دهد که میزان کلسیم قبل از تنش شوری بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت ($p < 0/05$) و پس از تنش، میزان آن در تمامی تیمارها جز گروه شاهد افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$) که بیشترین افزایش در تیمار ۴ ($9/92 \pm 1/22$) مشاهده شد.

جدول ۴- تغییرات غلظت شاخص کلسیم بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر.

Table 4. Concentration changes calcium index (mg.dl⁻¹).

شاخص کلسیم / تیمار	گروه ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
	شاهد	۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول
قبل از تنش	۶/۳۱±۳/۰۸ ^{aA}	۶/۸۵±۰/۶۵ ^{aC}	۷/۳۶±۰/۰۳ ^{aC}	۶/۲۴±۱/۱۹ ^{aC}
روزاول پس از تنش	۸/۰۱±۰/۱۶ ^{bA}	۷/۲۱±۰/۷۹ ^{bBC}	۷/۱۷±۰/۴۹ ^{bC}	۹/۹۲±۱/۲۲ ^{aAB}
روز سوم پس از تنش	۸/۱۳±۰/۴ ^{bA}	۷/۸۵±۰/۴۱ ^{bBC}	۸/۵۵±۰/۴۴ ^{bB}	۱۱/۱۳±۰/۳۶ ^{aA}
روز پنجم پس از تنش	۷/۷۵±۱/۰۳ ^{aA}	۸/۳۰±۰/۶۸ ^{aB}	۸/۴۵±۰/۵۲ ^{aB}	۹/۴۶±۰/۵۲ ^{aB}
روز هفتم پس از تنش	۸/۴۱±۰/۲۷ ^{bA}	۱۰/۶۲±۰/۱۳ ^{aA}	۱۱/۱۷±۰/۳۱ ^{aA}	۱۰/۸۵±۰/۵۷ ^{aAB}

حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

Small English letters in each row and capital English letters in each column, indicating significant difference in the 0.05. Data are in the form of mean ± standard deviation.

جدول ۵ نشان می‌دهد که میزان پروتئین کل، در پایان دوره و در روز اول پس از تنش، در ماهیان تیمارشده با کورتیزول به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$).

اما در روزهای سوم و پنجم و هفتم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($p < 0.05$). در میزان پروتئین کل، طی تنش شوری در گروه شاهد کاهش معنی‌داری مشاهده شد اما در تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری نداشت ($p < 0.05$).

جدول ۵- تغییرات غلظت شاخص پروتئین کل بر حسب گرم بر دسی‌لیتر.

Table 5. Concentration changes Total Protein index (mg.dl⁻¹).

شاخص پروتئین کل / تیمار	گروه ۱ شاهد	تیمار ۲ ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	تیمار ۳ ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول	تیمار ۴ ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای کورتیزول
قبل از تنش	۶/۴۹±۰/۰۸ ^{aA}	۴/۳۲±۰/۲۶ ^{bA}	۴/۶۷±۰/۹۷ ^{bA}	۳/۹۵±۰/۸۴ ^{bA}
روزاول پس از تنش	۶/۱۲±۰/۳۷ ^{aA}	۴/۰۳±۰/۳۱ ^{bA}	۴/۷۹±۱/۱۱ ^{bA}	۴/۳۰±۰/۶۰ ^{bA}
روزسوم پس از تنش	۴/۹۱±۰/۵۱ ^{aB}	۳/۸۸±۰/۷۹ ^{aA}	۴/۷۹±۰/۸۸ ^{aA}	۴/۵۰±۰/۳۵ ^{aA}
روزپنجم پس از تنش	۴/۰۵±۰/۱۳ ^{aC}	۴/۴۵±۰/۱۰ ^{aA}	۴/۴۳±۰/۳۱ ^{aA}	۴/۳۸±۰/۲۳ ^{aA}
روزهفتم پس از تنش	۳/۷۶±۰/۰۸ ^{aC}	۴/۶۴±۰/۱۷ ^{aA}	۴/۹۷±۱/۳۸ ^{aA}	۴/۸۶±۰/۱۴ ^{aA}

حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف و حروف انگلیسی بزرگ در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ±

انحراف معیار ارائه شده است.

Small English letters in each row and capital English letters in each column, indicating significant difference in the 0.05. Data are in the form of mean ± standard deviation.

بحث

تنش شوری به شدت روی بقای بچه‌ماهیان کپور (یک گونه استنوهالین) و در نتیجه موفقیت عملیات بازسازی ذخایر موثر می‌باشد (ایمان‌پور، ۱۳۷۸). باید تمهیداتی جهت افزایش بقای کپورماهیان رهاشده اندیشید. در کنار ارتقای مدیریت رهاسازی، یکی از راه‌هایی که می‌توان برای مقابله با این فرایند زیست-محیطی به کار برد، افزایش تحمل استرس از طریق دستکاری جیره غذایی ماهیان است. ماهیان استخوانی تحت تطابق با آب-شور دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین کلیوی می‌شوند و به این ترتیب تغییراتی در عواملی نظیر غلظت یون‌ها، سلول‌های کلراید و هماتوکریت ایجاد می‌شود. کلسیم و منیزیم در فرآیندهای بیولوژیکی خون ماهی ضروری هستند (Zabelinskii et al., 2006). یکی از پاسخ-های ثانویه‌ای که بسیار متداول است، اندازه‌گیری گلوکز خون

به عنوان معیار اندازه‌گیری غیرمستقیم هورمون استرس است (Abdolah Mashaie, 2000). گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی در تولید انرژی جانوران با تولید ATP دارد.

تحت شرایط استرس‌زا کاتکولامین و کورتیزول با تأثیر بر کبد سبب القای گلوکونئوزنز می‌شود و در نتیجه میزان گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد (آذری تاکامی، ۱۳۶۳). در این آزمایش نیز شاهد افزایش گلوکز خون هم‌زمان با افزایش شوری آب بودیم ($p < 0.05$). در مطالعه دیگری بعد از انتقال ماهی تیلپای موزامبیک *Oreochromis mossambicus* W.K.H. (Peters, 1852) به آب دریا، ماهی نیاز به گلوکز بیشتری جهت منبع انرژی برای سازوکارهای اسمزی دارد (Mommensen et al., 1999). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان گلوکز در ماهیان تحت تنش شوری افزایش یافته که این افزایش در ماهیان تحت تیمار کورتیزول از لحاظ آماری معنی-

دار است از واکنش فیزیولوژیک ثانویه ماهیان نسبت به شرایط استرس‌زا حکایت دارد (McCormick, 1995). یکی دیگر از علل افزایش میزان گلوکز را می‌توان تأمین انرژی برای مقابله با استرس ایجاد شده توجیه نمود که با مطالعات قبلی همخوانی دارد (Lee et al., 1996). در مطالعات حافظ آمینی و همکاران در سال ۱۳۸۲ نیز میزان گلوکز در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با شوری ۱۲ ppt ابتدا افزایش یافته و سپس روند کاهشی نشان داده و همسویی ازدیاد قند و کورتیزول را در استرس‌های مزمن گزارش کرده است (حافظ‌امینی و همکاران، ۱۳۸۲)، که در مطالعه حاضر این موضوع می‌تواند دلیلی برای افزایش گلوکز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح بالاتر کورتیزول باشد.

قبل از تنش شوری اختلاف معنی‌داری در میزان همتوکریت بین ماهیان تحت تیمار کورتیزول و تیمار شاهد مشاهده نشد که با مطالعه Dang و همکاران همخوانی دارد (Dang et al., 2000). افزایش میزان همتوکریت پس از مواجهه با تنش شوری نیز ممکن است نتیجه کاهش غیرمستقیم کورتیزول در مایع خارج سلولی وابسته به حجم سلول‌های خونی و یا به دلیل تغییر در مایع داخل سلولی یا خارج سلولی یا تکثیر و ازدیاد اریتروسیت‌ها و یا به علت کاهش حجم مایع خون در اثر افزایش سرعت تولید اوره توسط سلول‌های گلومرولی کلیه باشد که با مطالعات Cook و عنایت‌غلامپور همخوانی دارد (عنایت‌غلامپور و همکاران، ۱۳۹۰; Cook et al., 2011).

ورود کلسیم به درون بدن ماهی با سازوکار شبیه سازوکار منیزیم و از طریق آب آشامیده شده انجام می‌گیرد. از این مقدار ۷۰-۳۰ درصد توسط دستگاه گوارش جذب می‌شود. میزان پایداری غلظت کلسیم در پلاسمای خون ماهیان استخوانی با وجود غلظت بالای این یون در دریا مبین حضور سیستم پیچیده تنظیم غلظت این یون است. مطالعات اولیه براساس مقایسه غلظت این یون در پلاسما و ادرار مبین ترشح خالص این یون در ماهیان استخوانی دریایی و انواع ماهیان با تحمل شوری بالای سازگار شده با آب دریا می‌باشد. ماهیان استخوانی برای ترشح یون کلسیم از سازوکارهای کلیوی و غیرکلیوی (آبشش‌ها) استفاده می‌کنند، به‌نحوی که با وجود اینکه آبشش‌ها مسئول

ترشح مقادیر بسیار بالایی از کلسیم هستند کلیه‌ها نیز نقش مهمی را در تنظیم نهایی کلسیم پلاسما بازی می‌کنند. Koshnood و همکاران به نقل از Krayushkina بیان کردند که تغییرات اسمولاریته و ترکیب یونی سرم خون ماهیان در معرض شوری-های دریایی طی دو مرحله رخ می‌دهد؛ در مرحله نخست، غلظت یون‌های سرم خون در روزهای ابتدایی (پس از انتقال به آب دریا) افزایش می‌یابد و به غلظت‌های محیطی نزدیک می‌شود. در مرحله دوم در صورت حصول تکامل و قابلیت کافی در سیستم تنظیم یونی ماهی، غلظت یون‌ها کاهش می‌یابد (Khoshnood et al., 2009). در تحقیق حاضر غلظت کلسیم پلاسمای خون بچه‌ماهیان تیمار شاهد، قبل و بعد از تنش شوری تفاوت معنی‌داری نداشت که با مطالعات عنایت‌غلامپور و همکاران و Frank و Joan همخوانی دارد (عنایت‌غلامپور و همکاران، ۱۳۹۰; Frank & Joan, 1983; Fakharzadeh et al., 2011). در اکثر ماهیان استخوانی، کورتیزول نقش فیزیولوژیکی در بالابردن جذب یونی دارد. این وظیفه کورتیزول نمی‌تواند چیزی از نقش مهم آن در ترشح نمک‌ها بکاهد (Maynard et al., 1995). Krayushkina و همکاران به نقل از Olla و همکاران بیان کردند که تعداد و ریخت‌شناسی سلول‌های کلراید همراه با تغییر مقادیر یونی محیط از قبیل سدیم، کلر و کلسیم تغییر می‌کند (Krayushkina et al., 1999) و کاهش بازجذب کلسیم و نه افزایش ترشح این یون در زمان سازگاری ماهی با آب شور می‌تواند دلیل اصلی افزایش کلسیم باشد. طبق مطالعات پیش‌گفته، افزایش معنی‌دار در غلظت کلسیم در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی کورتیزول می‌تواند مبین توسعه اندام‌های دخیل در تنظیم یونی باشد.

پروتئین به‌عنوان منبع مهم انرژی در ماهیان محسوب می‌شود، از-این‌رو غلظت پروتئین کل پلاسما می‌تواند فاکتور مهمی جهت تعیین سلامتی و استرس باشد (Olla et al., 1998). پروتئین کل ثابت‌ترین ترکیب در پلاسمای خون محسوب می‌شود و عوامل محدودی قادرند میزان آن را تغییر دهند. غفوری‌صالح و همکاران بیان کردند که کورتیزول با کاهش ذخایر پروتئین در کلیه سلول‌های بدن و کاهش سنتز پروتئین و افزایش کاتابولیسم پروتئین‌های خارج سلولی و کاهش سنتز پروتئین ناشی از

ماهیان تحت تیمار کورتیزول طی تنش شوری برخلاف تیمار شاهد باشد، که میزان پروتئین کل در آن طی تنش شوری روند کاهشی داشت ($p < 0.05$) (Gollock *et al.*, 2005). طبق برخی مطالعات، یکی دیگر از دلایل کاهش آن ممکن است رقیق شدن خون باشد (فرهنگی و شکوه سلجوقی، ۱۳۹۱).

نتیجه گیری

درمجموع نتایج این تحقیق، حاکی از آن است که استفاده از کورتیزول با منشأ خارجی توانسته است بدون گذاشتن اثر منفی بر روی شاخص‌های رشد، با بالا بردن گلوکز خون هنگام تنش شوری، جهت تأمین انرژی برای مقابله با استرس ایجاد شده و افزایش معنی‌دار در میزان کلسیم در بدن ماهیان تحت تیمار کورتیزول، که دلیل اصلی ترشح این یون می‌تواند به علت کاهش بازجذب کلسیم و نه افزایش ترشح این یون در زمان سازگاری با آب شور باشد، توانایی این ماهی را جهت مقابله با استرس شوری افزایش دهد.

کاهش انتقال اسید آمینه به داخل بافت‌های خارج کبدی به تجزیه پروتئین می‌پردازد و از این طریق انرژی کافی را جهت فعالیت‌های فیزیولوژیکی بدن فراهم می‌کند (غفوری صالح و همکاران، ۱۳۸۷). برخی مطالعات کاهش سطح پروتئین کل سرم را طی استرس‌های مختلف، به منظور تأمین انرژی برای مقابله با وضعیت استرس‌زا نشان دادند که این موضوع می‌تواند کمتر بودن پروتئین کل سرم خون را در ماهیان تحت تیمار کورتیزول قبل از تنش شوری در تحقیق حاضر توجیه کند، زیرا در مطالعه حاضر نوعی شبیه‌سازی شرایط استرس‌زا در بدن ماهی و سازگاری آن با افزایش کورتیزول هنگام استرس اسمزی در زمان رهاسازی صورت گرفت (غفوری صالح و همکاران، ۱۳۸۷؛ Mancera *et al.*, 2002).

Gollock و همکاران نظریه سازگاری را مطرح کردند. طبق این نظریه ماهیان به استرس‌های دوره‌ای پس از گذشت مدت زمانی عادت می‌کنند و کورتیزول به میزان عادی خود برمی‌گردد. این موضوع می‌تواند دلیل فقدان اختلاف معنی‌دار در

منابع/References

- آذری تاکامی، ق. ۱۳۶۳. اصول تکثیر و پرورش ماهی. جلد اول. - انتشارات روابط عمومی وزارت کشاورزی. صفحه ۱۵۲.
- ایمان پور، م. ر. ۱۳۷۸. بررسی عادات غذایی و میزان مرگ و میر بچه ماهیان قره برون رهاسازی شده به گرگان رود. - پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده شیلات و محیط زیست. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. صفحه ۷۲.
- حافظ امینی، پ.، عربیان، ش. و پرویز، ک. ۱۳۸۲. بررسی اثرات ناشی از استرس کلرورسدیم روی قند خون و هورمون کورتیزول در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). - مجله علمی شیلات ایران ۳: ۳۵-۴۲.
- عبدالملکی، ش. و غنی نژاد، د. ارزیابی ذخایر ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزر در سال بهره برداری ۱۳۸۳-۱۳۸۲. - مجله علمی شیلات ایران ۱۶: ۱۰۳-۱۱۴.
- عبدلی، ا. و نادری، م. ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. - انتشارات علمی آذربایجان. صفحه ۲۴۴.
- عطایی مهر، ب.، امیری مجازی، ب.، عبداحی، ح. و میرواقفی، ع. ۱۳۸۵. بررسی تغییرات تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبششی و میزان تلفات
- بچه آزاد ماهیان دریای خزر با اوزان گوناگون در شوری‌های مختلف آب. - مجله علمی شیلات ایران ۴: ۱۲۷-۱۱۹.
- عنایت غلام پور، ط.، ایمان پور، م. ر.، حسینی، س. ع. و شعبان پور، ب. ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های رشد، میزان بازماندگی، غذاگیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) (Kamensky, 1901). - مجله زیست‌شناسی ایران ۲۴: ۵۴۹-۵۳۹.
- غفوری صالح، س.، جمیلی، ش. و عباسی، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثرات فیزیولوژیکی استرس بر ترکیبات عضله و تغییرات هورمون کورتیزول در ماهی - سوف دریای خزر (*Stizostedion lucioperca*). - پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان ۷۹: ۸۸-۹۴.
- فرهنگی، م.، شکوه سلجوقی، ظ. ۱۳۹۱. نقش استفاده از افزودنی‌های غذایی در سلامت و کیفیت آبزیان پرورشی. - انتشارات دانشگاه تهران. صفحه ۲۶۹.
- مکوندی، ه.، خدادادی، م.، کیوان شکوه، س. و محمدی مکوندی، ز. ۱۳۹۰. تأثیر استرس شوری بر مقادیر هورمون کورتیزول و گلوکز ماهی کپور - علفخوار انگشت قد (*Ctenopharyngodon idella*). - مجله آبزیان و شیلات ۸: ۸۴-۷۷.

- Abdolah Mashaie, M.** 2000. Physiology of fish in intensive culture systems. – Deputy Reproduction and Aquaculture Publication. (translated in Persian). 302 pp.
- Abo Hegab, S. and Hanke, W.** 1984. The significance of cortisol for osmoregulation in Carp (*Cyprinus carpio*) and Tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). – General and Comparative Endocrinology 54: 409-417.
- Cataldi, E., Dimacro, P., Mandich, A. and Cataudella, S.** 1998. Serum parameters of Adriatic Sturgeon, *Acipenser naccarii* effect of temperature and stress. – Comparative Biochemistry and Physiology A 121: 351-354.
- Cooke, S.J., Crossin, G.T. and Hinch, S.G.** 2011. Pacific salmon migration: Completing the cycle. In: Farrell AP, editors. - Fish Physiology. San Diego: Academic Press. 3: 1945-1952.
- Dang, Z., Balm, P., Flik, G. and Wendelaar Bonga, S.** 2000. Cortisol increases Na (+)/K (+)-ATPase density in plasma membranes of gill chloride cells in the freshwater tilapia (*Oreochromis mossambicus*). – Journal of Experimental Biology 203: 2349-2355.
- Evans, D.H., Piermarini, P.M. and Choe, K.P.** 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation and excretion of nitrogenous waste. – Physiological Reviews 85: 97-177.
- Fakharzadeh, S.M.E., Farhangi, M., Mojazi Amiri, B., Ahmadi, M. and Mazloumi, N.** 2011. The effect of hydrocortisone treatment by bathing and daphnia enrichment on the salinity stress in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) juvenile. – International Aquatic Research 3: 125-133.
- Frank, G.N. and Joan, W.** 1983. Influence of ambient salinity on plasma, Ca^{2+} and Mg^{2+} levels in juvenile (*Mugil cephalus*). – Comparative Biochemistry and Physiology A 76: 335-338.
- Gollock, J., Kennedy, C.R. and Brown, J.A.** 2005. Physiological responses to acute temperature increase in European eels (*Anguilla anguilla*) infected with *Anguillicolacrossus*. – Diseases of Aquatic Organisms 64: 223-228.
- Henderson, I.W. and Garland H.O.** 1980. The interregal gland in pisces. Part2. – General, Comparative and Clinical Endocrinology of the Adrenal Cortex. New York: Academic Press 3: 473-523.
- Khoshnood, Z., Khodabandeh, S., Khoshnood, R. and Mosafer, S.** 2009. Effect of cortisol on gill chloride cells in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fry. – Yakhteh Medical Journal 11: 425-431.
- Lee, T.H., Hwang, P.P. and Feng, S.H.** 1996. Morphological studies of gill and mitochondria rich cells in the stenohaline cyprinid teleosts, *cyprinus carpio* and *Carassius auratus*, adapted to various hypotonic environments. – Zoological Studies 35: 272-278.
- Mancera, J.M., Carrion, R.L. and Martin del Rio, M.P.** 2002. Osmoregulatory action of PRL, GH and cortisol in the Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). – General and Comparative Endocrinology 129: 95-103.
- Maynard, D., Flagg, T. and Mahnken, C.** 1995. A review of semi-culture strategies for enhancing the post-release survival of anadromous salmonids. – American Fisheries Society Symposium 15: 307-314.
- McCormick, S.D.** 2011. The hormonal control of osmoregulation in teleosts fish. – Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment 2: 1466-1473.
- McCormick, S.D.** 1995. Hormonal control of gill Na^{+} , K^{+} -ATPase and chloride cell function. In: wood CM, Shuttleworth TJ, editors. – Fish Physiology. San Diego: Academic Press 14: 285-315.
- Mommsen, T.P., Vijayan M.M. and Moon T.W.** 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. – Reviews in Fish Biology and Fisheries 9: 211-268.
- Nakano, K., Tagawa, M., Takemura, A. and T. Hirano.** 1998. Temporal changes in liver carbohydrate metabolism associated with seawater transfer in *Oreochromis mossambicus*. – Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry and Molecular Biology 119: 721-728.
- Olla, B.L., Davis, M.W. and Ryer, C.H.** 1998. Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. – Bulletin of Marine Science 62: 531-550.
- Sanchez de Lamadrid, A., Garcia-Gallego, M., Sanz, A., Munos, J.L., Domezain, J., Soriguer, M. C., Domezian, A. and Hernando, J.A.** 2000. Acclimation of the sturgeon (*Acipenser naccarii*) to saltwater: effect of age and weight. – Cahiers Options Mediterraneennes 47: 337-342.
- Varsamos, S.** 2002. Tolerance range and osmoregulation in hypersaline conditions in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). – Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 82: 1047-1048.
- Varsamos, S., Nebel, C. and Charmantier, G.** 2005. Ontogeny of osmoregulation in post-embryonic fish. – Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular and Integrative Physiology 141: 401-429.
- Wendelaar Bonga, S.E.** 1997. The stress response in fish. – Physiological Reviews 7: 591-625.

Zabelinskii, S.A., Chebotareva, M.A., Shukolyukova, E.N., Emelyanova, L.V., Savina, M.V. and Belostotskaya, G.B. 2006. Comparative study of lipid and fatty acids in blood plasma of River Lamprey

(*Lampetra fluviatilis*) and Brown (*Rana temporaria*) at the periods of elimination of xogenous feeding. – Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology 42: 376-382.

Beikzade Takori, A., Imanpoor M.R. and Taghizadeh, V. 2015. Long time effect of oral cortisol on resistant to salinity changes in Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) fingerling. – Nova Biologica Reperta 2: 103-112.

بیگزاده تاکری، آ.، ایمانپور، م.ر. و تقی‌زاده، و. ۱۳۹۴. اثر بلندمدت کورتیزول خوراکی بر مقاومت به تنش شوری در بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۱۱۲-۱۰۳.

