

## بررسی اثرات ناشی از استرس کلرید سدیم روی

### هماتوکریت و هموگلوبین خون در

### ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

پریوش حافظ امینی<sup>(۱)</sup> و شهربانو عریان<sup>(۲)</sup>

۱- تهران صندوق پستی: ۵۷۵-۱۹۶۱۵

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

P\_hafezamini@yahoo.com

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۱

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۸۰

### چکیده

در این تحقیق، دو فاکتور خونی هماتوکریت و هموگلوبین و تغییرات آنها نسبت به مقادیر مختلف شوری در ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در ۷ آکواریوم (با حجم ۱۰۰ لیتر) غلظت‌های ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ گرم در لیتر نمک طعام به آب معمولی اضافه شده و در هر کدام ۱۶ ماهی کپور معمولی با اوزان مختلف ۵۰ تا ۹۰ گرم ریخته شد. در زمانهای بین ۱۲ 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 می‌شدند. در شرایط استرس، حداقل شاخص هماتوکریت ۱۳ درصد و حداکثر آن ۴۵ درصد بوده است و فاکتور هموگلوبین بین ۵ تا ۱۲/۲ گرم در دسی‌لیتر تغییر نموده است.

**کلمات کلیدی:** هماتوکریت، هموگلوبین، کپور معمولی، *Cyprinus carpio*

در بین ماهیان پرورشی، کپور معمولی از سهولت زیادی جهت پرورش مصنوعی برخوردار است و در مقابل تنگناهای محیطی، مقاومت بیشتری نسبت به سایر ماهیان دارد. مقدار صید جهانی این ماهی به ۲۲۰ هزار تن در سال می‌رسد و با وجودی که یک ماهی آب شیرین است، ولی می‌تواند در آبهای لب شور نیز زندگی نماید (وثوقی و مستجیر، ۱۳۶۵). پرورش ماهی کپور ابتدا در آسیای شرقی شروع شده و سپس در سراسر دنیا انتشار یافته است و در آبهای داخلی کشور ما نیز پرورش داده می‌شود (احمدی، ۱۳۶۲). تحمل حرارتی ماهی کپور بسیار خوب بوده است و حرارت‌های بین ۳ تا ۳۵ درجه سانتیگراد را تحمل می‌کند (وحدتی و فتح‌پور، ۱۳۶۵). تحمل به کمبود اکسیژن در کپور معمولی نیز بسیار خوب بوده و محدوده ۲ تا ۴ میلی‌گرم، مناسب‌ترین غلظت اکسیژن آب برای این ماهی توسط Kim و Kim در سال ۱۹۸۶ گزارش شده است. تغییرات فاکتورهای خونی در غلظت‌های مختلف نمک و درجه حرارت‌های متفاوت توسط محققین زیادی و در مورد ماهیان مختلفی گزارش شده است. (Weber et al., 1990)

Dheer و همکاران در سال ۱۹۸۶ تغییرات فاکتورهای خونی را در استرس شوری در مورد ماهی *Channa punctatus* نیز گزارش کردند. Kasim در سال ۱۹۸۳ در خصوص تنگناهای شوری روی ماهی کپور معمولی عقیده دارد که حرارت بین ۲۶ تا ۳۰ درجه سانتیگراد تنگنای شوری را تقویت می‌کند و در ضمن ماهی کپور تا حد ۱۲/۲۵ گرم در لیتر نمک را تحمل کرده و مرگ و میری ندارد. Yagi در سال ۱۹۹۰ عقیده داشت که با افزایش شوری، ماهی نیاز بیشتری به اکسیژن پیدا می‌کند و تغییراتی در فیزیولوژی ماهی رخ می‌دهد تا انرژی لازم برای تنظیم فشار اسمزی فراهم شود. هماتوکریت خون بعنوان یک شاخص مهم و رایج در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Houston & Rupert, 1997).

Chen و همکارانش در سال ۱۹۹۵ مقدار هماتوکریت را در ماهی کپور معمولی که استرس سرما را از ۲۴ درجه تا ۴ درجه سانتیگراد در مدت ۳۳ روز تحمل نموده است مطالعه نموده و گزارش می‌نماید که در این تحقیق، ماهیان ۳۳ روز زنده مانده‌اند و هماتوکریت آنها تنزل

*Archive of SID*

نموده است. تعیین غلظت دقیق هموگلوبین نیز برای تعیین شرایط خاص فیزیولوژیک و پاتولوژیک ماهیان اهمیت داشته و ثابت شده است که در صورت تنزل pH، ظرفیت حمل اکسیژن توسط هموگلوبین خون ماهی کاهش می‌یابد. Houston و Cry در سال ۱۹۷۴ و ۱۹۷۶ نشان داده‌اند که میزان فعالیت ماهی، تغییرات فصلی، دمای آب، درجه شوری، آلودگی آب و سن ماهی بر غلظت هموگلوبین خون مؤثرند. لوکیانکو در سال ۱۹۸۴ بیان می‌دارد که هموگلوبین ماهیان نیاز بافتها را هم در شرایط مختلف فیزیولوژیک و هم در شرایط همیشه متغیر اکولوژیک تأمین می‌کند.

بنابراین با توجه به مطالعات دیگر محققان روی پرورش ماهی کپور معمولی، در این تحقیق سعی شده است که استرس شوری با سنجش فاکتورهای خونی ارزیابی گردد تا شرایط مناسب رشد ماهی و حد تحمل ماهی کپور معمولی به غلظت‌های شوری به هنگام سازش پذیری آن در انتقال از آب شیرین به آبها و دریاچه‌های لب شور کشور معین گردد.

**مواد و روشها**

۲۲۴ عدد ماهی کپور معمولی سالم در فاصله‌های وزنی ۵۰ تا ۹۰ گرم و سن ۱ تا ۱/۵ سال از حوضچه پرورش ماهی ورامین تهیه شد و به ۷ آکواریوم به ابعاد ۹۰×۳۰×۴۰ سانتیمتر و به حجم ۱۰۰ لیتر آب منتقل گردید. هوادهی توسط پمپ هوا تأمین شد و روزی ۲ بار با غذای مخصوص ماهی غذادهی صورت پذیرفت. هر ۲۴ ساعت یکبار و به مدت ۴ روز خونگیری به روش حذفی انجام پذیرفت. دمای آزمایش به طور متوسط  $22 \pm 1$  درجه و pH آب چاه مصرفی ۶/۵ تا ۶/۸ اندازه‌گیری گردید.

آکواریوم اول بعنوان شاهد و آکواریوم ۲ تا ۷ به ترتیب با غلظت‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ گرم در لیتر 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. فاکتورهای خونی بلافاصله پس از خونگیری سنجش شدند و در طول آزمایش ماهیان تلف شده بلافاصله خارج می‌شدند تا باعث آلودگی نگردند. سنجش هماتوکریت با استفاده از لوله

*Archive of SID*

موئین هپارینه و استفاده از خط کش مخصوص هماتوکریت به انجام رسید. برای سنجش غلظت هموگلوبین از روش سیان متهموگلوبین استفاده گردید (مافی، ۱۳۶۲).

**نتایج**

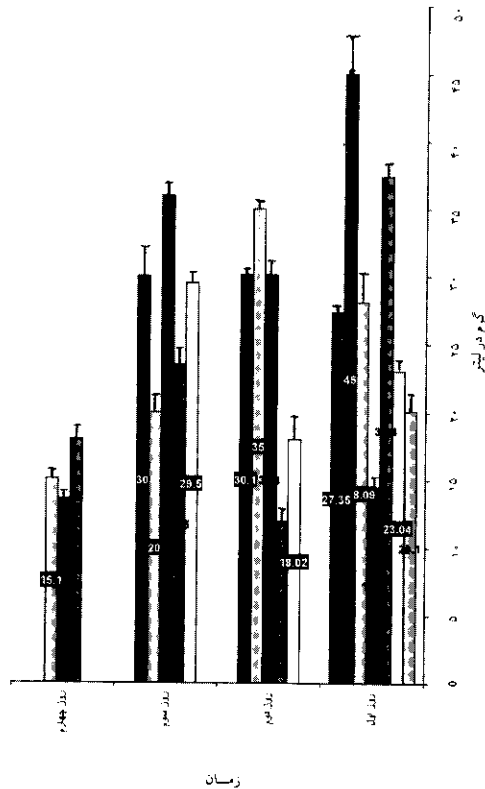
مقدار متوسط هماتوکریت ۱۶ ماهی شاهد (صفر گرم نمک) برابر  $1/05 \pm 1/20$  درصد و در شوری ۳ گرم در لیتر  $0/08 \pm 0/23$  درصد پس از ۲۴ ساعت و  $1/03 \pm 0/18$  و  $0/73 \pm 0/29$  بترتیب پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت بدست آمد. متوسط درصد هماتوکریت در ۱۶ ماهی که در آب ۶ گرم در لیتر نمک قرار گرفتند بترتیب پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بترتیب  $0/91 \pm 0/37$  و  $0/62 \pm 0/12$  و  $0/01 \pm 0/23$  و  $0/85 \pm 0/18$  درصد بدست آمد.

در تیمار غلظت ۹ گرم در لیتر پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، مقدار متوسط هماتوکریت بترتیب:  $0/04 \pm 0/14$ ،  $0/07 \pm 0/03$ ،  $0/93 \pm 0/36$  و  $0/04 \pm 0/13$  درصد بدست آمد.

در غلظت ۱۲ گرم در لیتر شوری از روز اول تا چهارم درصد هماتوکریت بترتیب به شرح ذیل سنجش شد:  $0/03 \pm 0/28$  و  $0/42 \pm 0/35$  و  $0/27 \pm 0/20$  و  $0/65 \pm 0/15$ . در شوری ۱۵ گرم در لیتر ماهیان تعادل خود را از دست دادند و حرکات غیرطبیعی از آنها مشاهده گردید و لکه‌های قرمزی در آنها دیده شد. پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، مقدار درصد هماتوکریت بطور متوسط برای ۱۶ ماهی عبارت بود از:  $0/09 \pm 0/45$  و  $0/06 \pm 0/03$  و  $0/03 \pm 0/03$ .

در شوری ۱۸ گرم در لیتر هر ۱۶ ماهی در مدت یکساعت تلف شدند و متوسط هماتوکریت این ماهیان  $0/1 \pm 0/27$  درصد بود. نتایج سنجش درصد هماتوکریت در نمودار ۱ خلاصه شده است.

Archive of SID



نمودار ۱: جمع بندی مقدار درصد هماتوکریت در شوری های مختلف بر حسب زمان

هموگلوبین تیمار شاهد بطور متوسط قبل از ۱۲ ساعت اولیه و پیش از مرگ  $10/1 \pm 0/01$  گرم در دسی لیتر سنجش شد. در شوری ۳ گرم در لیتر، بترتیب پس از ۴۸، ۷۲ و ۱۰/۶  $\pm 1/52$  و  $5/04 \pm 1/65$  و  $9/2 \pm 1/73$  ساعت مقدار هموگلوبین بترتیب ۳، ۲ و ۱ گرم در دسی لیتر تعیین گردید.

در شوری ۶ گرم در لیتر، از روز اول تا چهارم بترتیب مقادیر  $10 \pm 1/25$  و  $8/1 \pm 1/9$  و  $8/04 \pm 1/8$  و  $9/22 \pm 1/6$  گرم در دسی لیتر بدست آمد و به نظر می رسد که در این غلظت هموگلوبین شاخص خوبی برای استرس شوری نبوده است.

در شوری ۹ گرم در لیتر، از روز اول تا چهارم بترتیب مقادیر  $5/5 \pm 1/9$  و  $5/1 \pm 1/23$  و  $5/3 \pm 1/87$  و  $6/2 \pm 1/64$  گرم در دسی لیتر بدست آمد.

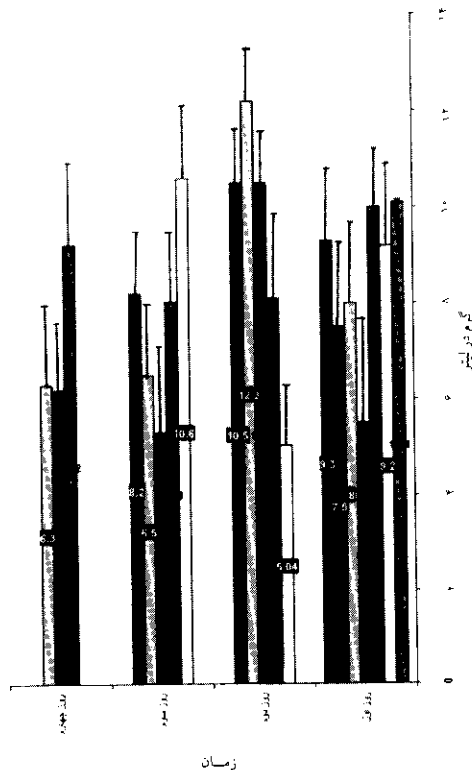
## Archive of SID

در شوری ۱۲ گرم در لیتر از روز اول تا چهارم بترتیب مقادیر  $۱۲/۲ \pm ۱/۱$  و  $۸ \pm ۱/۸۹$  و  $۶/۵ \pm ۱/۷$  و  $۶/۳ \pm ۱/۷۲$  گرم در دسی لیتر بدست آمد.

در شوری ۱۵ گرم در لیتر از روز اول تا سوم بترتیب مقادیر  $۷/۵ \pm ۱/۸۵$  و  $۱۰/۵ \pm ۱/۰۲$  و  $۸/۲ \pm ۱/۴۳$  گرم در دسی لیتر تعیین شد و در روز چهارم تمام ماهیان تلف شدند.

در شوری ۱۸ گرم در لیتر تمام ماهیان پس از ۲ ساعت تلف شدند و هموگلوبین متوسط قبل از مرگ ماهیان  $۹/۳ \pm ۱/۴۷$  گرم در دسی لیتر بوده است.

جمع بندی مقادیر هموگلوبین خون ماهیان در چهار روز در شوری های مختلف در نمودار ۲ آورده شده است.



نمودار ۲: جمع بندی مقادیر هموگلوبین در شوریه های مختلف بر حسب زمان

تعیین مقاومت و سازگاری یک ماهی به تنگناهای فیزیولوژیک و تغذیه‌ای از راه مرگ و میر آنها معین نمی‌شود زیرا مرگ و میر پایان نقطه تحمل جانور است. در حالی که تنگناهای کوچک نیز می‌تواند در رشد و نمو و تولید مثل ماهی تأثیر بسزا داشته باشد. از این جهت سنجش فاکتورهای خونی به هنگام استرس به شوری می‌تواند غلظت بهینه برای زندگی ماهی را تعیین نماید. نتایج در مورد مرگ و میر کپور معمولی نشان می‌دهد که هر چند کپور، ماهی مربوط به آب شیرین است ولی وجود نمک برای ادامه زندگی این ماهی ضروری است و با توجه به نتایج بدست آمده و غلظت حدود ۹ گرم در لیتر برای زندگی آن مناسب بنظر می‌رسد. در مورد فاکتورهای هماتوکریت، با توجه به نمودار ۱ بطور کلی می‌توان ادعا نمود که با بالا رفتن غلظت شوری طی چهار روز، از میزان درصد هماتوکریت خون کاسته می‌گردد و این نتیجه با تحقیقات Chen و همکاران در سال ۱۹۹۵ و Houston & Rupert در سال ۱۹۹۷ هماهنگی دارد. با توجه به تحقیق Chen و همکاران در سال ۱۹۹۵ در مورد استرس حرارتی بنظر می‌رسد استرس شوری و استرس حرارتی بنحویکسانی درصد هماتوکریت را کاهش می‌دهند.

نکته مهم دیگری که در مورد این شاخص می‌توان گفت، آن است که مقدار هماتوکریت در تمام تیمارها در روز دوم پس از انتقال به محیط شور نقصان یافته ولی در روز سوم افزایش نشان داده است که تصور می‌شود این تغییرات بدلیل سازگار شدن ماهی به محیط جدید حاصل شده است. بطور کلی شاخص تغییرات غلظت هموگلوبین در برابر غلظت‌های مختلف شوری را می‌توان تا حدود مشابه فاکتور هماتوکریت ارزیابی نمود. با توجه به نمودار ۲ غلظت‌های کم شوری تا ۶ گرم در لیتر در روز دوم از مقدار هموگلوبین کاسته‌اند، در حالی که در شوری ۹ گرم به بالا، استرس شوری از روز دوم به بعد اثر خود را با کاهش مقدار هموگلوبین نشان داده است.

نتیجه کلی در مورد کاهش غلظت این عامل در استرس شوری با نتایج محققین دیگر نظیر Chen و همکاران در سال ۱۹۹۵ و Houston & Rupert در سال ۱۹۹۷ هماهنگی دارد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از جناب آقای دکتر کاظم پریور استاد دانشگاه تربیت معلم و دانشگاه آزاد اسلامی و همچنین جناب آقای دکتر علی حائری روحانی استاد گروه زیست‌شناسی دانشگاه تهران که صمیمانه در اجرای هر چه بهتر و پیشبرد این پروژه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

## منابع

- احمدی، ک.، ۱۳۶۲. بررسی بیوتکنیک تکثیر مصنوعی و پرورش کپور ماهی در کارگاه سمسکنده ساری، شماره ۱۴۲۰. دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحه ۱۵.
- لوکیانتکو، و.، ۱۹۸۴. پلی مورفیسم و منومورفیسم هموگلوبین در دو جمعیت تاس‌ماهی ترجمه: یونس عادل. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان. ۸۶ صفحه.
- مافی، م.ح.، ۱۳۶۲. شیمی بیولوژی، انتشارات دانشگاه تهران، فصل چهارم. صفحات: ۱۱۵ تا ۱۴۰.
- وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۶۵. ماهیان آب شیرین. چاپ دوم انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱۷۵ تا ۱۷۸.
- وحدتی، ا. و فتح‌پور، ح.، ۱۳۶۵. ترجمه فیزیولوژی جانوری سازش با محیط. انتشارات دانشگاه اصفهان، صفحات: ۲۳۴ و ۵۳۳ تا ۵۴۳.



*Archive of SID*

- 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.
- Dheer, J.M.S. ; Dheer, T.R. and Mabajan, C.L. , 1986.** Heamatological and heamatopoietic response to sodium chlorid stress in a fresh water *Channa punctatus*. J. Fish. Biol. Vol. 28, No. 1, pp.119-128.
- Houston, A.H. and Cry, D. , 1974.** Thermoacclinary variation in heamoglobin system of gold fish and rainbow trout. J. of experimental biology. Vol. 61, pp.445-461.
- Houston, A.H. and Rupert, R. , 1997.** Immediate response of hemoglobin system of gold fish (*Cyprinus auratus*) to tempera change. Can. J. of Zoology. Vol.54, pp.1731- 1741.
- Houston A.H. and Cry, 1976.** Are the classical hematological variable acceptable indicators of fish health? Transactions of Amer. Fish. Society. Vol. 126, No. 6, pp.879-893.
- Kasim, H.M. , 1983.** Salinity tolerance of fresh water fishes. Indian J. Fish. Vol. 30, No. 1, pp.46-54.
- Kim, I.B. and Kim, B.G. , 1986.** Optimum dissolves oxygen level for the growth to the Israeli strain of Comman carp in the water system. Bull. Kor. Fish. Soc, Vol. 19, No. 6, pp.581-585.
- Yagi, H. and Ceccald, H.J. , 1990.** Combind influence of temperature and

*Archive of SID*

salinity oxygen consumption of the larval of the pink shrimp *Palaemon sersatus*.

Aquaculture. Vol. 86, pp.77-92.

**Weber, R.E. ; Wood, S.C. and Iomholt, J.P. , 1990.** Temperature acclimation and oxygen-binding properties of blood and multiple haemoglobins of rainbow trout. J. of Experimental Biology. Vol. 65, No.2, pp.333-345.