تغییرات رشد، میزان مصرف غذا و کورتیزول پلاسما در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق کورتیزول

ساره قیاسی و بهرام فلاحتکار*

*falahatkar@guilan.ac.ir

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۳

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تزریقی کورتیزول بر شاخص های رشد، میزان مصرف غذا و محتوی کورتیزول پلاسما در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) صورت گرفت. پس از ۲ هفته سازگاری، تعداد ۲۴۰ بچه ماهی با میانگین وزنی ۰/۲± ۱۹/۵ گرم در چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک به طور تصادفی توزیع شدند (۲۰ ماهی در هر تانک) و متناسب با وزن بدن با دوزهای صفر (C_0)، ۱ (C_1) و ۱۰ (C_{10}) µg/g کورتیزول (مخلوط با روغن) تزریق شد. در انتهای دوره ۲۱ روزه ماهیان بیومتری شده و شاخص های رشد کاهش معنی داری در تیمار C_{10} نشان دادند. تغییرات معنی داری در شاخص کبدی بین تیمارها مشاهده نشد. میزان غذای مصرفی به طور روزانه در طی آزمایش ثبت شد که در روزهای ۱ تا ۸، ۱۶ و ۱۹ در تیمار C_{10} کاهش معنی داری در مقایسه با تیمار کنترل نشان داد. به منظور تعیین کورتیزول پلاسما در شروع آزمایش، روزهای ۳، ۷ و ۲۱ از ماهیان خونگیری به عمل آمد. محتوی کورتیزول کاهش معنی داری در روز ۳ پس از آزمایش در تیمار C_{10} نسبت به تیمار C_0 داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش کورتیزول در دوره کوتاهی پس از تزریق، سبب تغییر در محتوای کورتیزول شده و می تواند با کاهش مصرف غذا اثرات منفی بر رشد داشته باشد.

لغات کلیدی : کورتیزول، استرس، اشتها، کبد، کپور معمولی

*نویسنده مسئول

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

افزایش وزن و رشد بهینه در پرورش اقتصادی آبزیان، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این راستا و در سیستم های پرورشی متراکم و نیمه متراکم، مدیریت غذا نقش اساسی خواهد داشت و آگاهی از عوامل مانع یا کاهنده مصرف غذا و یا عوامل محدود کننده رشد بسیار حائز اهمیت می باشند

استرس ها می توانند تحت تاثیر شرایط محیطی، زیستی و مدیریتی کارگاه به وجود آمده و تاثیرات منفی بر فعالیت و سلامت ماهی بگذارند. در این میان کورتیزول مهمترین کورتیکواستروئیدی است که در پاسخ به استرس، از بخش قشری بافت کلیه به خون ترشح شده و غلظت آن از جمله شاخص های مناسب در ارزیابی پاسخ ماهیان به استرس محسوب می شود (Webb *et al*., 2007; Falahatkar *et al*., 2009). در زمان مواجهه با استرس، ترشح کورتیزول جزء اولین مکانیسم های پایداری هموستازی بدن است که باعث افزایش میزان سوخت و ساز و مصرف انرژی در نتیجه افزایش متابولیک بدن برای مصرف غذا می شود (Mommsen *et al*., 1999). اگرچه بیان شده استرس حاد و مزمن در همه موارد با افزایش میزان کورتیزول به طور ثابت همراه نیست (McCormick *et al*., 1998; Van Weerd & Komen, 1998)، اما شواهدی در دست است که بیان می کند کورتیزول یک عامل واسطه مهم در کاهش رشد (Van Der Kraak, & Pankhurst 1997) با مکانیسم ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی که مسئول ممانعت رشد می باشد محسوب می شود (Mommsen *et al*., 1999). همچنین کورتیزول با کاهش جذب مواد غذایی از روده می تواند باعث کاهش رشد شود (Barton & Schreck, 1987; Mommsen *et al*., 1999). مطالعه بر روی ماهیان نشان داده است که در زمان بروز استرس و افزایش کورتیزول، رشد کاهش می یابد (Barton & Iwama, 1991; Pickering, 1993; Wendelaar Bonga, 1997).

پایداری وزن و ترکیبات بدن در یک دوره طولانی وابسته به انرژی دریافتی و مصرفی در بدن است (Jequier & Tappy, 1999). با وجود اینکه کاهش اشتها یک عکس العمل در پاسخ به استرس است (Bernier & Peter, 2001) اما هنوز شواهد زیادی در ارتباط با اثرات استرس بر مصرف غذا وجود ندارد. به طور مثال، در ماهیان قزل آلا *Oncorhynchus mykiss* در زمان مواجهه با استرس مشاهده شد که با وجود مصرف غذا، رشد کاهش می یابد (De Boeck *et al*., 2001). در اکثر مطالعات انجام شده مشخص گردید که افزایش کورتیزول بر مصرف غذا تاثیر منفی داشته (*et al*., 1998; Buentello *et al*., 2000; Pichavant *et al*., 2001 Schreck *et al*., 1997; McCormick) و کاهش آن بر مصرف بیشتر غذا تاثیر گذار می باشد (*et al*., 2008 Pankhurst).

استرس ها را می توان به دو دسته استرس حاد و مزمن تقسیم بندی نمود که هر یک اثرات متفاوتی بر فعالیت ها و سلامت ماهی خواهند داشت (Pickering & Pottinger, 1989). با توجه به اینکه اغلب ماهیان در شرایط کارگاهی با استرس های متنوعی مواجه هستند، بررسی انواع مختلفی از استرس و اثرات آنها بر روی ماهیان اهمیت خاصی دارد. مطالعه حاضر به اثرات افزایش محتوای کورتیزول بدن با استفاده از تزریق به عنوان استرس کوتاه مدت بر رشد، میزان مصرف غذا و روند تغییرات محتوای کورتیزول پلاسما بچه ماهیان کپور پرداخته، تا با آگاهی بیشتر از عکس العمل های متفاوت ماهی، بتوان مدیریت بهتری بر شرایط استرس زا و بازده غذای مصرفی در محیط های پرورشی داشته و در نهایت بهبود و افزایش رشد ماهیان در طی دوره پرورش بدست آید.

مواد و روش ها

ماهی و شرایط پرورش

کلیه مراحل آزمایش در کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی (صومعه سرا، استان گیلان) انجام شد. به این منظور تعداد ۲۴۰ بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۰/۲ ± ۱۹/۵ گرم، توسط مخزن ۱۰۰۰ لیتری و تحت شرایط استاندارد به کارگاه منتقل گردیدند. به منظور سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به مدت ۲ هفته در کارگاه نگهداری و بر اساس میزان اشتها ۴ وعده در روز غذادهی شدند. پس از سازگار شدن ماهیان به منظور تیمار بندی، ۲۴ ساعت قبل غذادهی قطع شده،

www.SID.ir
Archive of SID

سپس با دوز ۳۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره پودر گل میخک بیهوش شدند (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۹۱). ماهیان با دقت ۰/۱ گرم به صورت انفرادی وزن و به طور تصادفی درون ۱۲ تانک فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری گرد، با حجم آب گیری ۴۵۰ لیتر توزیع شدند (۲۰ ماهی در هر تانک). آب مورد نیاز با دبی ۰/۹ ± ۶ لیتر در دقیقه از چاه تامین می گردید. طی دوره آزمایش، میانگین اکسیژن محلول ۰/۵ ± ۶/۷ میلی گرم در لیتر و pH ۰/۳ ± ۷/۵ بود. میانگین دمای آب در طی دوره پرورش ۰/۰۱ ± ۱۷/۱ درجه سانتیگراد اندازه گیری گردید. ماهیان در یک سالن سرپوشیده و با شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی قرار داشتند.

طراحی آزمایش و تزریق کورتیزول

مطالعه حاضر در یک دوره ۲۱ روزه صورت گرفت. در طراحی این آزمایش چهار تیمار با سه تکرار در نظر گرفته شد. تیمار اول به عنوان گروه کنترل بدون هیچگونه دستکاری و تزریق در نظر گرفته شد و به سه تیمار دیگر با دوزهای صفر (C_0)، ۱ (C_1) و ۱۰ (C_{10}) µg/g وزن بدن کورتیزول تزریق شد. کورتیزول مورد نظر از شرکت سیگما (hydrocortisone; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA,) تهیه و پس از وزن کردن درون یک بشر ریخته و با روغن گیاهی (کانولا) به عنوان حامل (Janzen *et al*., 2012) به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط و کاملا حل شد. پس از آماده شدن محلول، ماهیان با عصاره گل میخک بیهوش و به تیمار صفر میلی گرم فقط روغن و دو تیمار دیگر با دوزهای مشخص کورتیزول تزریق شد. میزان تزریق برای هر ماهی ۰/۵ میلی لیتر به ازای هر ۲۰ گرم وزن بدن در نظر گرفته شد. تزریق توسط سرنگ انسولین در بین باله های شکمی به صورت داخل صفاقی (Bernier *et al*., 2004) انجام و ماهیان سریعا به تانک های پرورشی مربوطه با آب تازه منتقل شدند.

غذادهی و محاسبه غذای مصرفی

پس از تزریق کورتیزول، غذادهی به ماهیان آغاز شد. ماهیان ۴ وعده در روز (در ساعت های ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰) بر اساس اشتها با جیره ای محتوی ۳۲ درصد پروتئین و ۸/۵ درصد چربی تغذیه شدند (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۹۱). جیره مورد نظر به صورت دستی تهیه و سپس به صورت پلت هایی متناسب با اندازه دهان بچه ماهیان درآمد. به منظور تعیین مقدار غذای مصرفی هر تانک، مقدار مشخصی از غذا درون ظرف های جداگانه ریخته و در پایان هر روز میزان غذای مصرفی برای هر تانک با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن و ثبت شد. با توجه به مدت زمان ماندگاری غذا در آب (حدود ۲۰ ساعت)، ۲ ساعت پس از آخرین وعده غذادهی، کف تانک ها به آرامی توسط یک شلنگ سیفون شده و میزان غذای خورده نشده در پایان هر روز برای هر تانک به صورت جداگانه جمع آوری شد. غذاهای خورده نشده به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد خشک و وزن شد (Bernier *et al*., 2004). سپس وزن آنها از میزان غذای داده شده به ماهیان کاسته شد تا غذای مصرفی هر تانک به صورت روزانه تعیین شود.

نمونه برداری و اندازه گیری کورتیزول

میزان کورتیزول در روز صفر آزمایش و در روزهای ۳، ۷ و ۲۱ پس از تزریق اندازه گیری شد. از هر تانک سه ماهی به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی، توسط سرنگ هپارینه، ۰/۵ میلی لیتر خون از ساقه دمی ماهیان گرفته شد. خون هر سه ماهی درون یک اپندورف ریخته و با هم مخلوط شد و ماهیان جهت اجتناب از نمونه گیری های روزهای آتی و اثر بر سایر ماهیان از تانک خارج شدند. نمونه خون هپارینه به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ (Hettich, Tuttlingen, Germany) با دور ۳۰۰۰ g قرار داده شد و پلاسمای جدا شده جهت اندازه گیری میزان کورتیزول در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. کورتیزول با واحد ng/ml و با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی Radim (Pomezia, Roma, Italy) و روش ایمنی سنجی آنزیمی در دو تکرار سنجش شد (Barry *et al*., 1993).

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه گیری شاخص های رشد

در انتهای دوره آزمایش پس از خونگیری مرحله نهایی (روز ۲۱)، وزن انفرادی ماهیان با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری گردید. سپس پارامترهای مربوط به رشد شامل افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن (BWI) و افزایش وزن روزانه (ADG) از فرمول های زیر اندازه گیری شد (Falahatkar *et al.*, 2012):

افزایش وزن (WG) (گرم) = وزن نهایی – وزن اولیه

درصد افزایش وزن (BWI) (٪)= (وزن نهایی – وزن اولیه / وزن اولیه) ×۱۰۰

درصد افزایش روزانه وزن (ADG) (٪) = (وزن بدست آمده/ (وزن اولیه× تعداد روز های پرورش)) ×۱۰۰

نرخ رشد ویژه (SGR) (٪ / روز) = [(لگاریتم وزن نهایی لگاریتم وزن اولیه) / مدت زمان آزمایش)] ×۱۰۰

به منظور اندازه گیری شاخص کبدی در انتهای دوره پس از بیومتری از هر تانک ۳ ماهی انتخاب شد و طبق اصول رفتار با ماهیان (Granstrom, 2003) پس از کشتن سریع ماهی با ضربه به سر، توسط اسکالپل تشریح و کبد خارج و توزین شد. شاخص کبدی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Ronyai & Peteri, 1990):

شاخص کبدی (HSI): وزن کبد (گرم) / وزن بدن (گرم) × ۱۰۰

آنالیز آماری داده ها

ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov – Smirnov و همگنی واریانس ها با آزمون Levene بررسی شد. پس از اطمینان از شروط ذکر شده، به منظور مقایسه میانگین ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست Tukey به عنوان post hoc استفاده شد. اختلاف میانگین ها در کلیه موارد با سطح اطمینان $P<۰/۰۵$ تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SPSS 16 انجام شد. داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده اند.

نتایج

مطالعه حاضر نشان داد تزریق کورتیزول در بچه ماهیان کپور پس از گذشت ۲۱ روز در وزن نهایی ($F=۹/۶۳۵$; $df=۳$; $p=۰/۰۰۵$)، وزن کسب شده ($F=۳۹/۵۵۰$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، نرخ رشد ویژه ($F=۵۶/۱۳۴$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، درصد افزایش وزن بدن ($F=۵۷/۳۶۵$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$) و درصد افزایش وزن روزانه ($F=۴۹/۷۲۵$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$) تفاوت معنی داری را ایجاد نمود به طوری که بیشترین میزان پارامترهای ذکر شده در تیمار کنترل و کمترین میزان در تیمار C_{10} مشاهده شد. داده های مربوط به شاخص های رشد در جدول ۱ آورده شده است.

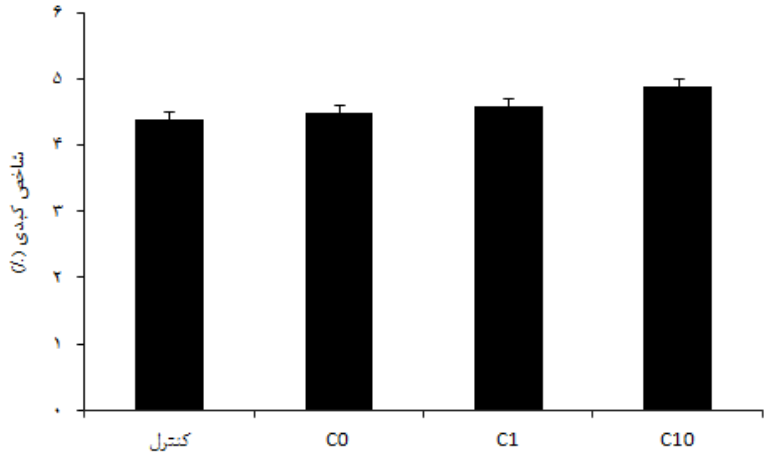
جدول ۱: تغییرات شاخص های رشد در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق سطوح مختلف کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه. داده ها به صورت میانگین ± SE بیان شده اند.

تیمارها	وزن ابتدایی (گرم)	وزن نهایی (گرم)	وزن کسب شده (گرم)	نرخ رشد ویژه (درصد/ روز)	درصد افزایش وزن (درصد)	درصد افزایش روزانه وزن (درصد/ روز)
شاهد	۱۹/۸۳ ± ۰/۳۷	۲۱/۵۱ ± ۰/۶۰ ^{a}	۱/۶۷ ± ۰/۲۳ ^{a}	۰/۴۲ ± ۰/۰۴ ^{a}	۸/۳۸ ± ۱/۰۳ ^{a}	۰/۲۴ ± ۰/۰۵ ^{a}
C_0	۱۹/۴۶ ± ۰/۱۹	۱۹/۷۷ ± ۰/۱۹ ^{b}	۰/۳۰ ± ۰/۰۰ ^{b}	۰/۰۷ ± ۰/۰۰ ^{b}	۱/۵۳ ± ۰/۰۶ ^{b}	۰/۰۸ ± ۰/۰۰ ^{a}
C_1	۱۹/۵۲ ± ۰/۰۱	۱۹/۹ ± ۰/۰۳ ^{b}	۰/۲۹ ± ۰/۰۶ ^{bc}	۰/۰۸ ± ۰/ ۰۱ ^{b}	۱/۶۳ ± ۰/۳۳ ^{b}	۰/۰۸ ± ۰/۰۱ ^{a}
C_{10}	۱۹/۳۷ ± ۰/۰۴	۱۹/۱۵ ± ۰/۱۰ ^{b}	-۰/۲۲ ± ۰/۰۶ ^{c}	-۰/۰۶ ± ۰/۰۱ ^{c}	-۱/۵۱ ± ۰/۱۰ ^{c}	-۰/۰۵ ± ۰/۰۱ ^{b}

حروف a، b و c در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارها هستند ($p<۰/۰۵$).

در ارتباط با شاخص کبدی در بچه ماهیان کپور پس از گذشت ۲۱ روز از تزریق کورتیزول تفاوت معنی داری وجود نداشت ($F=۰/۱۹۵$; $df=۳$; $p=۰/۸۹۹$) (نمودار ۱).

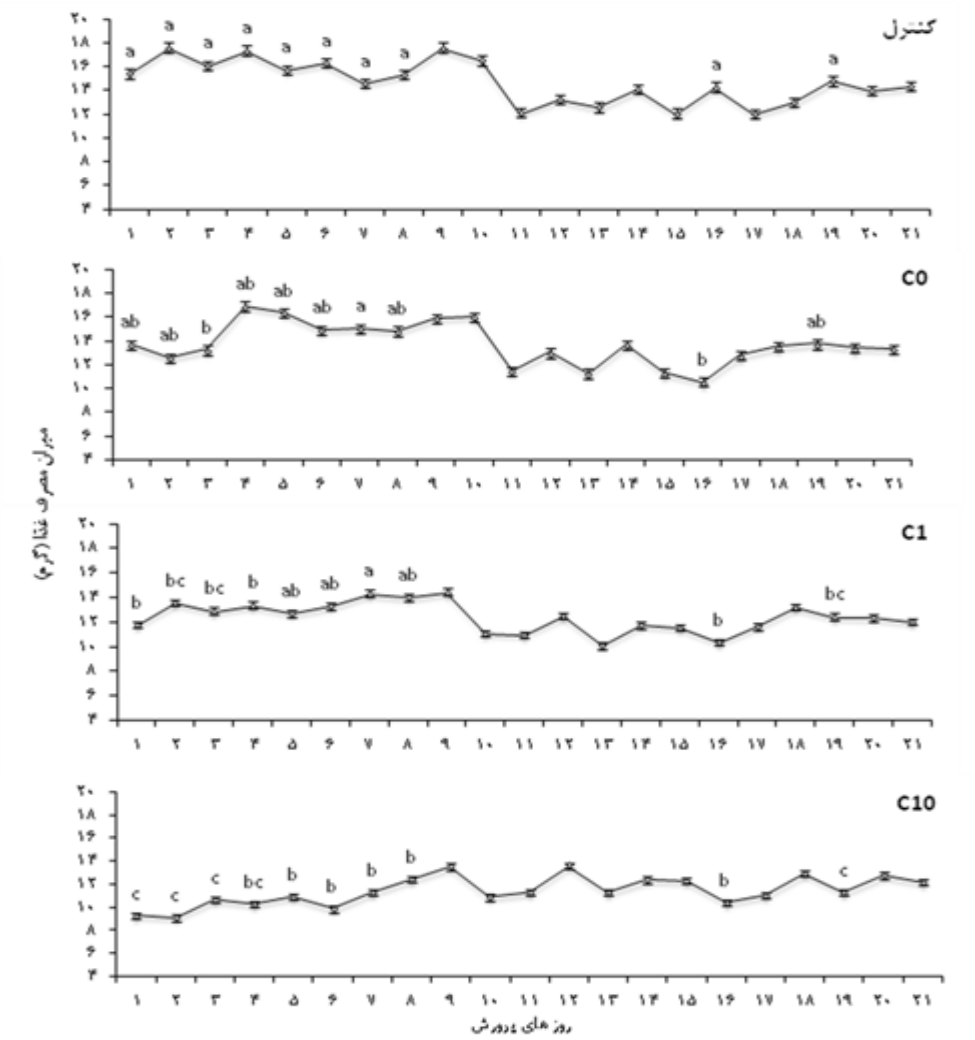
Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱: شاخص کبدی در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق سطوح مختلف کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه. داده ها به صورت میانگین ± SE بیان شده اند (n= ۹ برای هر تیمار).

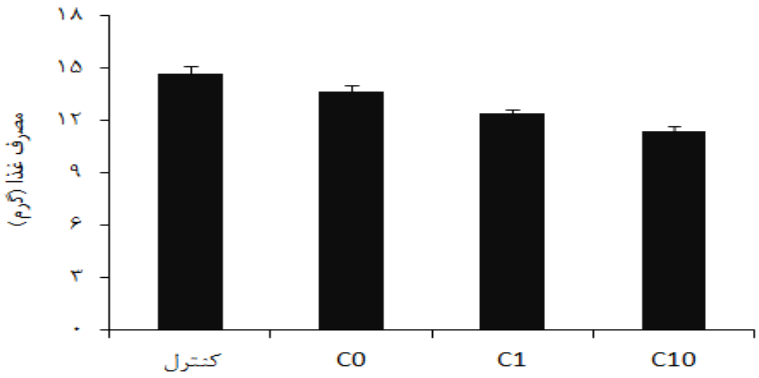
نتایج حاصل از بررسی میزان مصرف غذا نشان داد در بین تیمارها در روز ۱ ($F=۳۰/۹۶$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، روز ۲ ($F=۱۷/۵۳$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، روز ۳ ($F=۱۵/۸۰$;$df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، روز ۴ ($F=۲۵/۷۱$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$)، روز ۵ ($F=۷/۶۶$; $df=۳$; $p=۰/۰۱۰$)، روز ۶ (۰/۰۴۴ ;$F=۴/۳۱$; $df=۳$ $p=$)، روز ۷ ($F=۱۱/۳۶$;$df=۳$; $p=۰/۰۰۳$)، روز ۸ ($F=۱۲/۱۷$; $df=۳$; $p=۰/۰۰۲$)، روز ۱۶ ($F=۶/۱۶$; $df=۳$; $p=۰/۰۱۸$) و روز ۱۹ ($F=۱۹/۷۹$; $df=۳$; $p<۰/۰۰۱$) کاهش معنی داری در تیمار C_{10} نسبت به تیمار کنترل مشاهده می شود (نمودار ۲). در روزهای دیگر تفاوت معنی داری بین تیمارها در ارتباط با مصرف غذا مشاهده نشد. به طور کلی در طی دوره تفاوت معنی داری در ارتباط با مصرف غذا در بین تیمارها مشاهده نشد ($F=۱/۳۴۷$;$df=۳$; $p=۰/۲۶۰$) (نمودار ۳).

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲: میزان مصرف غذای روزانه در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق سطوح مختلف کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه. داده ها به صورت میانگین ± SE بیان شده اند.

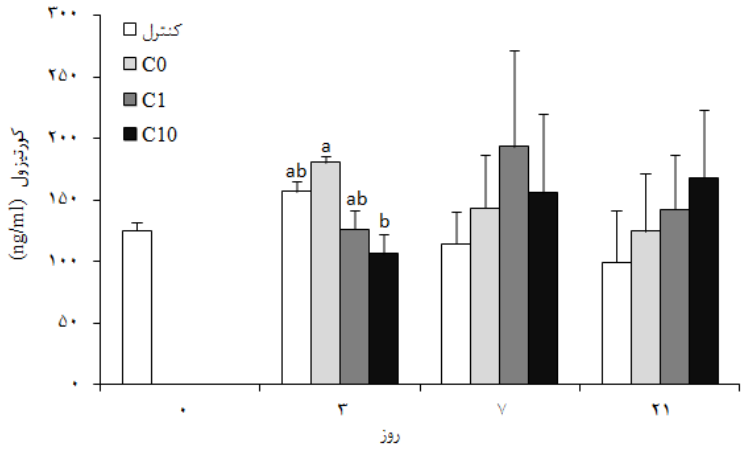
حروف a، b و c بیانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارها در هر روز هستند ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۳: میزان مصرف غذای کل دوره در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق سطوح مختلف کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه. داده ها به صورت میانگین ± SE بیان شده اند.

www.SID.ir

محتوای کورتیزول پلاسما در بچه ماهیان کپور پس از تزریق کورتیزول نشان داد در روز ۳ کاهش معنی داری در میزان کورتیزول در تیمار C_{10} نسبت به تیمار C_0 مشاهده می شود ($F=۶/۱۳۳$; $df=۳$; $p=۰/۰۲۹$)، اما در روز ۷ تفاوت معنی داری بین تیمارها نبود ($F=۱/۴۰۷$; $df=۳$; $p=۰/۳۲۹$). با این حال کمترین میزان در تیمار کنترل مشاهده شد. همچنین تغییر معنی داری در بین تیمارها در روز ۲۱ مشاهده نشد ($F=۲/۸۰۱$; $df=۳$; $p=۰/۱۰۹$)، اما بیشترین میزان در تیمار C_{10} و کمترین میزان کورتیزول در تیمار کنترل مشاهده شد (نمودار ۴).



نمودار ۴: تغییرات کورتیزول پلاسما در بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) پس از تزریق سطوح مختلف کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه. داده ها به صورت میانگین ± SE شده اند (n= ۹ برای هر تیمار). حروف a و b بیانگر تفاوت معنی دار در بین تیمارها هستند (p<۰/۰۵).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تزریق کورتیزول پس از ۲۱ روز اثر معنی داری بر شاخص کبدی ندارد اما پارامترهای رشد کاهش معنی داری در تیمارهای تحت تزریق کورتیزول نسبت به تیمار کنترل نشان دادند. مطالعات متعددی در ارتباط با اثر کورتیزول بر رشد صورت گرفته که در اغلب آنها به اثر منفی کورتیزول بر رشد ماهیان تاکید شده است (Davis *et al.*, 1985; Barton & Schreck, 1987; Gregory & Wood, 1999; De Boeck *et al.*, 2001). مطالعه بر روی گربه ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* نشان داد تغذیه با جیره حاوی ۱۵۰ میلی گرم کورتیزول به ازای هر کیلو وزن بدن، منجر به کاهش معنی دار پارامترهای رشد نسبت به گروه کنترل گردید (Small, 2004). مطالعه Jentoft و همکاران (۲۰۰۵) بر روی دو گونه قزل آلای رنگین کمان و ماهی سوف *Perca fluviatilis* نشان داد که استرس ناشی از دستکاری با افزایش کورتیزول منجر به کاهش رشد می شود. مطالعه Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد با ایمپلنت ۵۰ میلی گرم هورمون کورتیزول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن فیل ماهی *Huso huso* طی یک دوره شش ماهه، کاهش معنی داری در رشد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. بررسی انجام شده بر ماهی تیلاپیا نشان داد کاشت ۱/۵ و ۳ میلی گرم کورتیزول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در طولانی مدت منجر به کاهش رشد می شود (Foo & Lam, 1993). در مقابل، مطالعه Vijayan و همکاران (۱۹۹۱) روی ماهی آزاد چار *Salvelinus fontinalis* بیان می کند که ایمپلنت کورتیزول در یک دوره ۶۰ روزه تاثیری روی رشد

Archive
www.SID.ir

ندارد. همچنین مطالعه Barton و Schreck (۱۹۸۷) بر روی قزل آلاهای جوان نشان داد که سازگاری با شرایط استرس زا در طی زمان باعث کاهش کورتیزول شده و اثر منفی بر روی رشد ندارد. در مطالعه حاضر، تیمار C_{10} کمترین میزان رشد و تیمار کنترل بیشترین میزان رشد را داشتند. کاهش رشد در ماهیان می تواند به دلیل اثرات منفی کورتیزول روی عملکرد جذب غذا از روده، اشتها، مصرف غذا و تاثیر ترکیبات متابولیک بدن بوجود آمده باشد به طوری که در زمان افزایش کورتیزول با بالا رفتن میزان تقاضا و افزایش متابولیسم بدن به منظور حفظ تعادل و هموستازی، ذخایر انرژی بدن مورد مصرف قرار گرفته و در نهایت کاهش رشد را در پی خواهد داشت (Barton & Schreck., 1987; Mommsen *et al*., 1999; De Boeck *et al*., 2001; Bernier *et al*., 2004).

مطالعه حاضر نشان داد در ارتباط با میزان مصرف غذای روزانه در ابتدای دوره تفاوت معنی داری در تیمارهای تحت تزریق کورتیزول نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد. اگرچه مطالعات متعددی در این باره صورت گرفته است اما اطلاعات موجود معمولاً بیان کننده روند مشخص و ارتباط دقیقی از اثر کورتیزول بر مصرف غذا نیستند. به طور مثال مطالعه Janzen و همکاران (۲۰۱۲) روی ماهی تیلاپیا نشان داد که میزان مصرف غذا در ماهیان تحت تزریق کورتیزول در مقایسه با تیمار کنترل، با کاهش معنی دار همراه خواهد بود. در این مطالعه اثر کورتیزول بر میزان مصرف غذا می تواند با عوامل محیطی و عوامل درونی ماهی در ارتباط بوده و وابستگی به دوز هورمون داشته باشد. مطالعات بر روی گربه ماهی کانالی (Davis *et al*., 1985)، قزل آلای رنگین کمان (Barton & Schreck, 1987)، ماهی توربوت *Scophthalmus maximus* و باس دریایی *Dicentrarchus labrax* (Pichavant *et al*., 2001)، کاهش مصرف غذا را در زمان افزایش کورتیزول نشان دادند. همچنین مطالعه Peterson و Small (۲۰۰۵) بر گربه ماهی کانالی نشان داد که کورتیزول به میزان ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن، مصرف غذا را کاهش می دهد. در مقابل، مطالعه Bernier و همکاران (۲۰۰۴) در ماهی طلایی *Carassius auratus* نشان داد ایمپلنت ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن کورتیزول در یک دوره ۲۱ روزه اثری بر میزان مصرف غذا ندارد و این شرایط محیطی است که بر میزان مصرف غذا تاثیرگذار است. سایر مطالعات صورت گرفته نشان می دهند که در مواجهه با افزایش کورتیزول، میزان مصرف غذا در ماهی قزل آلا (Gregory & Wood, 1999) و ماهی آزاد *Salmo salar* (McCormick *et al*., 1998) کاهش می یابد اما در زمان بروز استرس های محیطی مانند تراکم، اسارت و دستکاری در این ماهیان، این کاهش مشاهده نمی شود. به طور کلی بیان می شود دوزهای پایین ممکن است به تحریک مصرف غذا منجر شوند در حالی که دوزهای بالاتر مهار مصرف غذا را در پی خواهد داشت (Janzen *et al*., 2012).

در مطالعه حاضر، کاهش میزان مصرف غذا در تیمارهای C_1 و C_{10} در ابتدای دوره بیان کننده اثرات منفی کورتیزول بر اشتها و در نهایت کاهش مصرف غذا می باشد چرا که کمترین میزان مصرف غذا در تیمار C_{10} مشاهده شد. به نظر می رسد این کاهش مصرف غذا وابسته به دوز هورمون بوده زیرا تفاوت مصرف غذا به طور متناوب در روزهای ۱۶ و ۱۹ پس از آزمایش نیز در تیمارهای C_{10} و کنترل مشاهده شد.

مطالعات بیان می کنند در مهره داران عادات غذایی و مصرف غذا تحت تاثیر محرک هایی است که از هیپوتالاموس به مغز فرستاده می شود (Canosa, 2005 & Volkoff) که در این بین نوروپپتید Y و گرلین از مهمترین محرک های مصرف غذا در مهره داران هستند (Kaiya *et al*., 2008). کورتیزول با تحریک نورون های نوروپپتید Y در تلن سفالن (قسمت جلویی مغز) باعث کاهش مصرف غذا در کپور ماهیان می شود (Bernier *et al*., 2004).

مطالعه حاضر نشان داد تزریق کورتیزول در بچه ماهیان کپور در ابتدای دوره کاهش معنی داری در میزان این هورمون در تیمار تحت تزریق µg/g ۱۰ داشت اما در روزهای ۷ و ۲۱ این کاهش مشاهده نشد و تنها تا حدودی افزایش نسبی کورتیزول در انتهای دوره وابسته به دوز مشاهده گردید. مطالعه Ding و همکاران (۱۹۹۴) در ماهی تیلاپیا نشان داد که ایمپلنت ۰/۸ میکروگرم کورتیزول به ازای هر گرم وزن بدن از ۱ تا ۴ ساعت بعد از کاشت هورمون، منجر به افزایش میزان کورتیزول سرم

www.SID.ir
Archive of SID

گردید اما از ۶ ساعت تا ۷ روز بعد از ایمپلنت کاهش محتوی کورتیزول مشاهده شد. همچنین مطالعه Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) نشان دهنده کاهش محتوای کورتیزول پلاسما در فیل ماهیان ایمپلنت شده با کورتیزول سه هفته بعد از ایمپلنت هورمون بود. مطالعه Janzen و همکاران (۲۰۱۲) در تیلاپیا نیز کاهش محتوای هورمون را در ماهیان تحت تیمار کورتیزول نسبت به گروه شاهد نشان داد.

کاهش میزان کورتیزول در خون پس از افزایش آن از طریق تغذیه، ایمپلنت و یا تزریق کورتیزول می تواند به علت سرعت پاک شدن (Clearance) متابولیک این هورمون از خون باشد (Vijayan & Leatherland, 1990; Mommsen *et al*., 1999). افزایش سرعت پاک شدن متابولیک کورتیزول، غالباً باعث کاهش بیش از حد غلظت هورمون در مایعات در حال گردش بدن می شود (Gampbell *et al*., 1994). به نظر می رسد در تحقیق حاضر، کاهش کورتیزول در ابتدای دوره در ارتباط با افزایش سرعت کلیرانس کورتیزول از خون باشد. از سوی دیگر بنا به گزارشات، این کاهش می تواند به علت بروز نوعی مکانیسم فیدبک منفی در ماهیان این تیمار باشد (Rotllant *et al*., 2000; Ruane *et al*., 2002) که در طی این مکانیسم، افزایش کورتیزول منجر به نوعی خود تنظیمی منفی در بافت های درگیر در سنتز کورتیزول مانند هیپوتالاموس، هیپوفیز و بافت اینتررنال کلیه و در نهایت کاهش آن در خون می شود. همچنین کاهش کورتیزول در تیمار C_{10} در ابتدای دوره می تواند به علت ذخیره کورتیزول در بافت های چرب با قابلیت ذخیره سازی این هورمون باشد، به طوری که در روز ۷ و ۲۱ آزمایش، اندازه گیری کورتیزول پلاسما نشان داد محتوی کورتیزول در ماهیان C_1 و C_{10} برخلاف ابتدای دوره نسبت به تیمار شاهد افزایش نسبی داشت که این افزایش می تواند در ارتباط با ترشح آهسته و مداوم هورمون به درون خون از بافت هایی باشد که در پی تزریق، کورتیزول در آنها ذخیره شده است.

در مطالعه حاضر، شبیه سازی افزایش کورتیزول در خون با تزریق این هورمون به بچه ماهیان کپور نشان داد روند کاهشی میزان مصرف غذا در ابتدای دوره در تیمارهای تحت تزریق با اثر بر اشتها باعث کاهش مصرف غذا و در نتیجه کاهش پارامترهای رشد می شود. از طرفی، کاهش میزان کورتیزول در سه روز بعد از تزریق نشان داد که ماهیان به طور فیزیولوژیک توانایی ایجاد نوعی خود تنظیمی منفی را در زمان بروز استرس دارند اما ممکن است ذخیره کورتیزول در بافت و ترشح آن منجر به افزایش محتوای این هورمون در روزهای بعد شود که به تبع این افزایش، اثرات منفی ناشی از کورتیزول در طولانی مدت بر مصرف غذا و رشد ماهی نمایان شده و کاهش بازده رشد و یا افزایش بیماری ها را در پی ضعیف شدن بدن در سیستم های پرورشی به دنبال خواهد داشت. با توجه به سرعت اثرگذاری کورتیزول بر پارامترهای ذکر شده، کاهش عوامل استرس زا و جلوگیری از بروز استرس حتی در دوره های زمانی کوتاه می تواند منجر به افزایش، بهبود رشد و در نهایت بازدهی بیشتر پرورش ماهیان در مزارع شود.

تشکر و قدر دانی

این تحقیق با حمایت های صورت گرفته از طرف دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان با در اختیار قرار دادن امکانات لازم پرورشی انجام پذیرفت. بدینوسیله از کلیه کارکنان و مدیریت دانشکده قدردانی می گردد.

منابع

فلاحتکار، ب.، عبدی، ح. و محمودی، ن.، ۱۳۹۱. نقش تغذیه ای نوکلئوتید بر منابع انرژی بدن و عملکرد رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، (۱)۲۱، ۱۴۶-۱۳۳.

Barry, T.P., Lapp, A.F., Kayes, T.B. and Malison, J.A., 1993. Validation of an ELISA for measuring cortisol in fish and comparison of stress responses of rainbow trout and lake trout. Aquaculture, 117, 351-363.

Archive of SID

www.SID.ir

Barton, B.A. and Schreck, C.B., 1987. Metabolic cost of acute physical stress in juvenile steelhead. Transactions of the American Fisheries Society, 116, 257-263.

Barton, B.A. and Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1, 3-2.

Bernier, N.J. and Peter, R.E., 2001. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 129B, 639-644.

Bernier, N.J., Bedard, N. and Peter, R.E., 2004. Effects of cortisol on food intake, growth, and forebrain neuropeptide Y and corticotropin-releasing factor gene expression in goldfish. General and Comparative Endocrinology, 135, 230-240.

Buentello, J.A., Gatlin, D.M. and Niell, W.H., 2000. Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 182, 339-52.

Campbell, P.M., Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P., 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture, 120, 151-169.

Davis, K.B., Torrance, P., Parker, N.C. and Suttle, M.A., 1985. Growth, body composition and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. Journal of Fish Biology, 27, 177-184.

De Boeck, G., Alsop, D. and Wood, C., 2001. Cortisol effects onaerobic and anaerobic metabolism, nitrogen excretion, and whole-body composition in juvenile rainbow trout. Physiological and Biochemical Zoology, 74, 858-868.

Ding, J.L., Lim, E.H. and Lam, T.J., 1994. Cortisol-induced hepatic vitellogenin mRNA *Oreochromis aureus* (Steindachner). General and Comparative Endocrinology, 96, 276-287.

Falahatkar, B., Poursaeid, S., Shakoorian, M. and Barton, B., 2009. Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon *Huso huso*. Journal of Fish Biology, 75, 784-796.

Falahatkar, B., Mohammadi, H. and Noveirian, H., 2012. Effects of different starter diets on growth indices of Caspian Kutum *Rutilus frisii kutum* larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 11, 28-36.

Foo, J.T.W. and Lam, T.J., 1993. Retardation of ovarian growth and depression of serum steroid levels in tilapia, *Oreochromis mossambicus* by cortisol implantation. Aquaculture, 115, 133-143.

Granstrom, D.E., 2003. Agricultural (non biomedical) animal research outside the laboratory: A review of guidelines for institutional animal care and use committees. Institute for Laboratory Animal Research, 44, 206-210.

Gregory, T.R. and Wood, C.M., 1999. The effects of chronic plasma cortisol

Archive of SID
www.SID.ir

elevation on the feeding behaviour, growth, competitive ability, and swimming performance of juvenile rainbow trout. Physiological Zoology, 72, 286-295.

Janzen, W.J., Duncan, C.A. and Riley, L.G., 2012. Cortisol treatment reduces ghrelin signaling and food intake in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Domestic Animal Endocrinology, 43, 251-259.

Jentoft, S., Aastveit, A.H., Torjesen, P.A. and Andersen, O., 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology, 141A, 353-358.

Jequier, E. and Tappy, L., 1999. Regulation of body weight in humans. Physiologycal Reviews, 79, 451-480.

Kaiya, H., Miyazato, M., Kangawa, K., Peter, R.E. and Unniappan, S., 2008. Ghrelin: A multifunctional hormone in non-mammalian vertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology, 149A, 109-128.

McCormick, S.D., Shrimpton, J.M., Carey, J.B., Dea, M.F., Sloan, K.E., Moriyama, S. and Björnsson, B.T., 1998. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor-I and cortisol. Aquaculture, 168, 221-235.

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanism of action and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 9, 211-268.

Pankhurst, N.W. and Van Der Kraak, G., 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. *In*: Iwama G.K, Pickering A.D, Sumpter J.P, Schreck C.B (eds), Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge. pp.73-95.

Pankhurst, N.W., King, H.R. and Ludke, S.L., 2008. Relationship between stress, feeding and plasma ghrelin levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 41, 53-64.

Peterson, B.C. and Small, B.C., 2005. Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. Domestic Animal Endocrinology, 28, 391-404.

Pichavant, K., Person-LeRuyet, J., Le Bayon, N., Severe, A., Le Roux, A. and Boeuf, G., 2001. Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European sea bass. Journal of Fish Biology, 59, 875-83.

Pickering, A.D. and Pottinger, T.G., 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish

Archive of SID

www.SID.ir

Physiology and Biochemistry, 7, 253-258.

Pickering, A.D., 1993. Growth and stress in fish production. Aquaculture, 111, 51-63.

Poursaeid, S., Falahatkar, B., Mojazi Amiri, B. and Van Der Kraak, G., 2012. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured great sturgeon *Huso huso*. Comparative Biochemistry and Physiology, 163A, 111-119.

Ronyai, A. and Peteri, A., 1990. Comparison of growth rate of Sterlet *Acipenser ruthenus* L. and hybrid of Sterlet x Lena river's sturgeon (*Acipenser ruthenus L.* x *Acipenser baeri* stenorhynchus Nikolsky). Aquaculture, 5, 185-192.

Rotllant, J., Arends, R.J., Mancera, J.M., Flik, G., Wendelaar Bonga, S.E. and Tort, L., 2000. Inhibition of HPI axis response to stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with physiological plasma levels of cortisol. Fish Physiology and Biochemistry, 23, 13-22.

Ruane, N.M., Carballo, E.C. and Komen, J., 2002. Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio*. Aquaculture Research, 33, 777-784.

Schreck, C.B., Olla, B.L. and Davis, M.W., 1997. Behavioral responses to stress. *In*: Iwama G.K, Pickering A.D, Sumpter J.P, Shreck C.B. (eds), Fish Stress and Health in Aquaculture, Society for Experimental Biology seminar series 62. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 145-170.

Small, B.C., 2004. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. Journal of Fish Biology, 64, 589-596.

Van Weerd, J.H. and Komen, J., 1998. The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. Comparative Biochemistry and Physiology, 120A, 107-112.

Vijayan, M.M. and Leatherland, J.F., 1990. High stocking density affects cortisol secretion and tissue distribution in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. Journal of Endocrinology, 124, 311-318.

Vijayan, M.M., Ballantyne, J.S. and Leatherland, J.F., 1991. Cortisol induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*. General and Comparative Endocrinology, 82, 476-486.

Volkoff, H. and Canosa, L.F., 2005. Neuropeptides and the control of food intake in fish. General and Comparative Endocrinology, 142, 3-19.

Webb, M.A.H., Allert, J.A., Kappenman, K.M., Marcos, J., Feist, G.W., Schreck, C.B. and Shackleton, C.H., 2007. Identification of plasma glucocorticoids in pallid sturgeon in response to stress. General and Comparative Endocrinology, 154, 98-104.

Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews, 77, 591-625.

Archive of SID
www.SID.ir

Changes of growth, food intake and plasma cortisol in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) following cortisol injection

Ghiasi S.; Falahatkar B.*

* falahatkar@guilan.ac.ir

Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, P.O. Box 1144, Guilan, Iran

Keywords: Cortisol, Stress, Appetite, Liver, Common carp

Archive of SID

Abstract

The present study conducted to investigate the effect of cortisol injection on growth indices, food intake and plasma cortisol in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). After 2 weeks adaptation, 240 fish with 19.5 ± 0.2 g average weight were randomly distributed in to 12 fiberglass tanks with four treatments and three replicates (20 fish per tank). Based on body weight, cortisol (mixed with oil) was injected to treatments with different dosages at 0 (C_0), 1 (C_1) and 10 (C_{10}) µg/g. At the end of 21 days, fish were weighed and growth parameters showed significant reduction in C_{10}. No significant change was observed in hepatosomatic index among different treatments. Food intake were recorded daily during the experiment and showed significant reduction in days 1 to 8, 16 and 19 in C_{10} compared to control group . Blood was taken to determine plasma cortisol at the start, day 3, day 7 and day 21 of the experiment. Cortisol concentrations showed significant reduction in C_{10} compared to C_0 group three days after the initiation of the experiment. The results showed that increasing of cortisol in a short time after injection, affected by changes of blood plasma cortisol and reduction of food intake could negatively have an effect on growth.

*Corresponding author

www.SID.ir