بررسی فاکتورهای متابولیک و یونی سرم خون در ماهی گاریز *Liza kalunzingeri* در سواحل بندر عباس

رضا خشنود[۱]؛ آیدا خزاعلی[۲]* ؛ مریم احسان پور[۳]؛ مجید افخمی[۲] ؛ ماریا محمدی زاده[۳]

Aida.Khazaali@yahoo.com

۱- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران

۲-باشگاه پژوهشگران جوان،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس. صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

تاریخ دریافت : بهمن ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش : فروردین ۱۳۹۰

چکیده

در این مطالعه پارامترهای یونی (Na^+، K^+، Mg^{+2} و Ca^{+2}) و فاکتورهای متابولیک (کلسترول، پروتئین کل و گلوکز) در سرم خون و ارتباط بین آنها در ۲۸ عدد ماهی گاریز(*Liza klunzingeri*) صید شده در سواحل استان هرمزگان(خلیج فارس) بررسی گردید. نتایج نشان می دهد که میزان های Na^+، K^+، Mg^{+2}و Ca^{+2} دارای بیشترین تا کمترین مقدار در سرم خون ماهی گاریز بوده اند. میزان غلظت کلسترول بیشتر از گلوکز و کمی بیشتر از پروتئین کل بوده است. Na^+ دارای ارتباط معنی دار مثبتی با منیزیم بوده ($P<۰/۰۱$) اگر چه دارای ارتباط معکوس با گلوکز ($P<۰/۰۱$) و pH ($P<۰/۰۱$) می باشد. Mg^{+2} دارای ارتباط معنی دار مثبت با میزان نسبت Na^+ به K^+ و نسبت Ca^{+2} به K^+ ($P<۰/۰۵$) است، اگرچه دارای ارتباط معکوس با pH ($P<۰/۰۱$) و گلوکز ($P<۰/۰۵$) می باشد. ارتباط بین Na^+ به K^+ و Ca^{+2} به K^+ مثبت بوده ($P<۰/۰۱$) و غلظت Ca^{+2} دارای ارتباط معنی دار مثبت با کل پروتئین بود($P<۰/۰۵$). توجه به ارتباطات بین یون ها و فاکتورهای متابولیک در چرخه تولید مثلی، تنظیم اسید آلکالینی، رشد و تنظیم اسمزی در ماهی گاریز و نتایج حاصل از این مطالعه می تواند در بررسی وضعیت سلامت، تشخیص عوامل بیماری زا و مدیریت صید این گونه در سواحل خلیج فارس مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی :*Liza kalunzingeri* ، سرم خون، فاکتورهای متابولیک و یونی، خلیج فارس.

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

۱.مقدمه

بررسی سلول های خونی و فاکتورهای هورمونی و بیوشیمیایی خون میتواند در تشخیص بیماری های ماهی و بررسی وضعیت فیزیولوژی ماهیان استفاده گردد(۱۳). فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک به عنوان شاخص های استرس در ماهیان مورد استفاده قرار می گیرد که از میان این فاکتورها هورمون های کورتیکو استروئید خصوصا کورتیزول به عنوان شاخص استرس هم در دوره های طولانی مدت و هم کوتاه مدت استفاده میگردد(۹،۱۰). شاخص های ثانویه تاثیرات استرس بسیار زیاد بوده ولی مهمترین شاخص استفاده از میزان گلوکز پلاسما و یا سرم می باشد(۳). پاسخ های اولیه منجر به بروز پاسخ های ثانویه از جمله افزایش میزان گلوکز پلاسما و لاکتات و هماتوکریت و کاهش میزان کلراید، سدیم و پتاسیم در ماهیان استخوانی می گردد (۸،۲). همچنین اندازه گیری این پارامترها ممکن است در ارزیابی هر گونه تغییر در شرایط کیفی آب، کیفیت خاک و یا عکس العمل ماهی مفید باشد(۴).

تغییرات ناشی از استرس بر فاکتور های بیوشیمیایی خون در ماهی تاثیر می گذارد(۱). این تغییرات شامل تغییر در هورمون های پلاسما، متابولیسم انرژی و توازن الکترولیت می باشد. پرورش دهندگان و زیست شناسان ماهی از شاخص های بیوشیمیایی خون ماهی برای ارزیابی میزان پاسخ در برابر شرایط استرس، شرایط تغذیه ای، وضعیت تولید مثل، آسیب های بافتی به دلیل دستکاری و حمل و نقل و وضعیت سلامت ماهیان استفاده می کنند(۱۶).

اطلاعات کمی در خصوص ویژگی های خون از ماهی گاریز وجود دارد این اطلاعات می توانند در درک بهتر چرخه زندگی و مکانیزم های فیزیولوژیک این گونه خصوصا با توجه به بروز مرگ و میر غیر طبیعی در دو سال اخیر در سواحل شهر بندرعباس کمک نماید.

۲.مواد و روش ها

نمونه های ماهی گاریز از(*L. klunzingeri*) از سواحل خلیج فارس(خور شور در شرق شهر بندرعباس) و با استفاده از روش صید مشتا در سال ۱۳۸۹جمع آوری گردید.

نمونه گیری خون

عملیات خونگیری از هر نمونه بلافاصله پس از صید مستقیما از طریق قلب و با استفاده از سرنگ های پلاستیکی آغشته به هپارین سدیم انجام گردید. مقدار۱ cc خون از هر نمونه را درون دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه(rpm)به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و با استفاده از میکروسمپلر شماره ۱۰۰ سرم خون را که در بخش بالایی لوله آزمایش قرار گرفته جدا شد و درون ویال های مخصوص درب دار در دمای ۴ċ تا رسیدن به آزمایشگاه قرار گرفت. بلافاصله پس از ارسال نمونه ها به آزمایشگاه نمونه های سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا انجام آزمایشات بیوشیمیایی نگهداری گردیدند(۱۴).

فاکتورهای خونی و ترکیبات بیوشیمیایی شامل Mg^{+2}،Ca^{+2} ، پروتئین کل، کلسترول، گلوکز با استفاده از اسپکتروفوتومتری و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل WPA-S2000 و کیت های استاندارد(شرکت پارس) اندازه گیری گردید. K^{+} و Na^{+} با استفاده از دستگاه آنالیز الکترولیت مدل JEWWAY-PF P7 اندازه گیری گردید. PH پلاسمای خون نیز با استفاده از pH سنج آزمایشگاهی(Orion Model 410A pH meter) اندازه گیری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل هر فاکتور با سه تکرار انجام گردید. میانگین های فاکتورهای بیوشیمیایی خون از طریق آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA)و با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 13) اندازه گیری گردید. از ظریب همبستگی پیرسون نیز برای همبسنگی خطی(r) بین متغیر ها با درصد احتمال $P<۰/۰۵$ استفاده گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

۳.نتایج

میانگین وزن و طول نمونه ها به ترتیب ۵/۳۰g±۲۵/۳۵ و ۹/۷۶mm±۱۲۹/۲۴بود. بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ مقادیر اندازه گیری شده برای Na^{+}، Ca^{+2}، K^{+} و Mg^{+2} به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار در پلاسمای خون ماهی گاریز نشان می دهد. میزان کلسترول از گلوکز بالاتر بوده و کمی بیشتر از میزان کل پروتئین می باشد. همان گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، ارتباط بین فاکتورهای مورد بررسی در سرم خون شامل : Na^{+}دارای ارتباط معنی دار مثبت با Mg^{+2} بوده (P<۰/۰۵)، اما ارتباط معنی دار منفی بین میزان Na^{+} وگلوکز (P<۰/۰۱) و pH (P<۰/۰۵) وجود داشت. ارتباط معنی دار مثبت (P<۰/۰۵) بین غلظت Ca^{+2} و پروتئین کل دیده شد. Mg^{+2}دارای ارتباط معنی دار مثبت با میزان Na^{+} به K^{+} و Ca^{+2} به K^{+} بود (P<۰/۰۵). اگر چه ارتباط معنی دارمعکوس با pH (P<۰/۰۱) و گلوکز(P< ۰/۰۵) دارد. غلظت Ca^{+2} دارای ارتباط معنی دار مثبت با پروتئین بوده(P<۰/۰۵)وارتباط بین میزان Na^{+} به K^{+} وCa^{+2} به K^{+} مثبت بود(P<۰/۰۱).

جدول ۱ : ترکیبات بیوشیمیایی (میانگین±انحراف معیار)و دامنه اندازه گیری شده پلاسمای خون درماهی گاریز(n=۲۸)

مقدار	میانگین±انحراف معیار	فاکتورها
۱۵۱-۲۱۰/۲	۱۸۰/۰۷ ±۲۱/۴۶	Na^{+}(mmol/l)
۱/۱۴-۷/۷۹	۳/۲ ± ۲/۴	K^{+}(mmol/l)
۳-۴/۱	۳/۶ ± ۰/۳	Ca^{+2}(mmol/l)
۰/۹-۳	۱/۷۵±۰/۶	Mg^{+2}(mmol/l)
۱۴/۷۳-۱۰۵/۴	۱۸۸۲/۱۸±۶۴۳/۱۶	کلسترول(Mg/l)
۱۹-۱۰۵/۴	۴۴/۱۳±۱۸/۷۲	پروتئین کل(mg/l)
۴۱۴/۴-۲۵۷/۸	۱۲۶۶/۶۷±۶۴۷/۰۹	گلوکز(mg/l)
۶/۸۹-۸/۴۵	۷/۶۱±۰/۴	Ph

جدول ۲:بررسی ارتباط بین فاکتورهای متابولیک و یونی سرم خون در ماهی گاریز *L.klunzingeri*

پارامترها	Na^{+}	K^{+}	Ca^{+2}	Mg^{+2}	Na^{+}/K^{+}	K^{+}/Ca^{+2}	پروتئین کل	کلسترول	گلوکز
K^{+}	-۰/۰۸۱								
Ca^{+2}	-۰/۱۷۶	-۰/۰۱							
Mg^{+2}	^{b}۰/۷۷۶	-۰/۲۷۲	۰/۱۵						
Na^{+}/K^{+}	۰/۴۲۴	۰/۹۳۵^{b}	۰/۰۸۵	۰/۵۴۴^{a}					
K^{+}/Ca^{+2}	۰/۲۲۶	-۰/۸۷^{b}	۰/۰۴۲	۰/۵۵۴^{a}	۰/۸۱۸^{b}				
پروتئین کل	۰/۱۳۸	۰/۱۳۷	۰/۵۱۵^{a}	-۰/۱۰۹	-۰/۲۳	-۰/۰۸۱			
کلسترول	۰/۰۵	۰/۰۶۶	۰/۰۷۸	۰/۰۸۵	۰/۰۳۵	۰/۰۹۲	۰/۳۶۶		
گلوکز	-۰/۶۹۸^{a}	-۰/۰۴۵	۰/۲۵۸	-۰/۵۹۱^{a}	-۰/۲۸۵	-۰/۰۸۲	۰/۴۱۲	۰/۰۵۵	
pH	-۰/۶۲۹^{a}	-۰/۱۵۸	-۰/۲۶	-۰/۷۵۳^{b}	-۰/۳۲۷	-۰/۳۸۴	-۰/۱۴۹	-۰/۲۵۸	۰/۲۲۶

a نشان دهنده اختلاف معنی دار(P<0.05)

bنشان دهنده اختلاف معنی دار(P<0.01)

www.SID.ir

٤.بحث

اولین اندام مرتبط بین ماهی و محیط اطراف که در انتقال گازها تبادل اسید آلکالین، تنظیم یونی و دفع آمونیاک نقش دارد آبشش ها می باشد. استرس هاس محیطی به عنوان فاکتورهای موثر بر وضعیت سلامت ماهی ها در هر شرایط پرورشی می باشد. تغییر شرایط محیطی و آلودگی آب ها تغییرات زیادی را در تنظیم فاکتورهای یونی و آلکالین اسید که خود برفیزیولوژی و رشد موجود تاثیر گذار می باشد، به همراه دارد(۱). بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده گردید که میزان های یون های Na^{+}، Ca^{+2}، K^{+} و Mg^{+2} دارای بیشترین تا کمترین مقدار در پلاسمای خون ماهی گاریز بودکه در این داده ها با مطالعات ستاری در سال ۲۰۰۲ مطابقت دارد(جدول ۱).

اگرچه میزان کلسترول بیشتر از گلوکز و کمی بیشتر از میزان کل پروتئین بود که در این موضوع نیز با مطالعات مشابهه گذشته مطابقت داشت(۶). ترکیب طبیعی میزان Ca^{+2} را برای گونه های ماهی ۲۰ mg/dl تخمین زده شد(۱۵). دو متغییر تاثیر گذار شامل گونه ماهی و شرایط محیطی را بر غلظت Na^{+} بیان شده و این میزان را به طور تقریبی ۱۵۰ mmol/l در اکثر ماهی ها گزارش گردیده است(۷). آنها همچنین دریافتند که کمبود Na^{+} و Cl^{-} به دلیل عفونت ها و اختلالات کارکردی در آبشش ها می باشد. گزارش شده که غلظت Na^{+} و K^{+} به ترتیب ۱۵۰ mmol/l و ۳ در ماهیان می باشد که با نتایج این مطالعه برابر ی دارد(۱۵).

یون های Ca^{+2} و Mg^{+2} در فعالیت های بیولوژیک خون ماهی لازم وضروری می باشند(۱۷). ماهی ها میتوانند به طور مستقیم یون های Ca^{+2} و Mg^{+2} را از طریق آب و غذا دریافت نمایند. بنابراین Ca^{+2} به عنوان یکی از مهمترین یون های مورد نیاز در آب مزارع پرورش ماهی می باشد. همچنین آنها میزان پیشنهادی برای غلظت یون Ca^{+2} را ۱۰۰-۲۵ mg/l گزارش دادند و بیان داشتند که میزان بالایی از یون Ca^{+2} در ماهی پرورشی باس(Striped Bass) مورد نیاز است این در حالی است که ماهی قزل آلا می تواند غلظت یون Ca^{+2} را تا ۱۰۰mg/l در هنگامیکه pH بالاتر از ۶/۵ باشد تحمل نماید. میزان Ca^{+2} در پلاسمای خون مولدین، به عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی رسیدگی جنسی در مولدین می باشد به طوری که غلظت این یون ها در طول چند ماه قبل از فصل تخم ریزی تا زمان یک تا دو ماه قبل از شروع فصل تخم ریزی به طور نسبی افزایش می یابد. پس از آن در طول فصل تخم ریزی این میزان نسبتا کاهش می یابد. این موضوع اهمیت یون Ca^{+2} را در چرخه تولید مثل و در مراحل زرده زایی تائید می نماید برای مثال میزان اندازه گیری شده قبل و پس از فصل تولید مثل در پلاسمای ماهی کفشک آتلانتیک(Flat fish) ۴/۵ mmol/l و ۲/۸ اندازه گیری شده است(۱۷). توجه به این نکات و یافته های حاصل از این مطالعه این موضوع را تائید می نماید که میزان Ca^{+2} در این آزمایش(۳/۶ mmol/l) پس از دوره افزایش آن در پلاسمای خون و به دنبال آن در دوره کاهش مقدار این یون اندازه گیری شده باشد در این حالت ارتباط معنی دار مثبتی بین میزان Ca^{+2} و پروتئین کل مشاهده گردید که این موضوع نیز ممکن است به دو علت باشد : اولا با افزایش میزان Ca^{+2} در پلاسمای خون گاها با رشد ماهی و افزایش اندازه آن و در موارد نادری با افزایش پروتئین کل همراه است. ارتباط مستقیمی بین این فاکتورها زمانی قابل قبول خواهد بود که مطالعات حاضر در طول دوره تخم ریزی ماهی گاریز نیز ادامه یابد(افزایش غلظت Ca^{+2} و پلاسما).

دوما Ca^{+2} در متابولیسم پروتئین موثر بوده و به عنوان یک Cofactor در ارتباط با بسیاری از پاسخ های متابولیک و آنزیمی موثر می باشد. بر اساس عملکرد آنزیمی محور Na^{+}-K^{+} ATPas و نتایج ارائه شده در جدول شماره ۲ ارتباط معنی دار معکوسی بین K^{+} و نیزان Na^{+} به K^{+} قابل توجه است. این ارتباط ممکن است درابتدا سریع نمایان شود ولی عملکرد آنزیمی محور Na^{+}-K^{+} ATPas اگربطور مداوم مورد توجه قرار گیرد می تواند بهتر درک شود.

www.SID.ir
Archive of SID

حضور Mg^{+2} در آب محیط پرورشی باعث از بین رفتن سایر نمک ها (مثل Na^{+} و K^{+}) از مایع بدن ماهی(برای تعادل یونی خون) می گردد(۴)، که این موضوع نیز با نتایج ارائه شده در این مطالعه مطابقت دارد. در پایان ارتباط معنی دار و مستقیم بین میزان Mg^{+2} و Na^{+} به K^{+} اشاره بر ارتباط معنی دار بین Na^{+} و Mg^{+2} دارد.

منابع

1-Barton, B.A., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu. Rev. Fish Dis.10, 3–26.

2-Barton BA. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucoseresponses to handling and transport stress. N Am J Aquacult;62: 12-8.

3-Conte, F.S., 2004. Stress and Welfare of cultured fish. Appl Anim BehavSci; 86: 205-3.

4-Darvish Bastami K, Rezaei M, Haghparast S, Eghtesadi Araghi P, Najafi Hajivar E, Khansari A, Jam A, Ghasemi AF., 2010. A comparative study on the biochemical parameters of seminal and blood plasma and their correlation in the wild common carp (Cyprinus carpio). Comp Clin Pathol. doi:10.1007/ s00580-010-1174-3.

5-Davis DA, Saoud IP, Boyd CE, Rouse DB .2005.Effects of potassium, magnesium, and age on growth and survival of Litopenaeus vannamei post-larvae reared in inland low salinity well waters in west Alabama. J World Aquac 36:403–406.

6-Luz RK, Mart?nez-? lvarez RM, De Pedro N, Delgado MJ .2008.Growth, food intake regulation and metabolic adaptations in goldfish (Carassius auratus) exposed to different salinities. Aquaculture 276:171–178.

7-Majabi A, Nazifi S, Safi SH .2001. Veterinary biochemistry. Norbakhsh, Tehran, p 390 (in Persian).

8-Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Rev Fish Biol Fisher 9: 211–268.

9-Pickering AD, Pottinger TG, Christie P,1982. Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time course of study. J Fish Biol; 20: 229-44.

10-Pickering AD, Pottinger TG,1985. Acclimation of the brown trout (*Salmo trutta*) to the stress of daily exposure to malachite green. Aquaculture; 44: 145-52.

11-Sattari M .2002. Ichtiology (1): anatomy and physiology. Naghsh-e Mehr, Tehran, p 659 (in Persian).

12-Sharyati A .1993. Fishes of the Caspian Sea region. Iranian Fisheries Company, Iran, pp 77–79 (in Persian).

13-Stoskopf MK.1993. In: Fish Medicine. pp. 113-131. Edited by M. K. Stoskopf. Saunders, Philadelphia.

14-Svobodova, Z., Pravda, D., Palackova, J., 1991. 31 pp. Unified methods of hematological examination of fish. : RIFCH Vodnany, Methods, 22. 31 pp.

15-Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, LassenED, Rebar A, Weiser G .2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wikins, Baltimore, p 501.

16-Wagner, T., Congleton, J.L., 2004. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus ntshawytscha*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 61, 1066–1107.

17-Wurts WA, Durborow RM.1992.Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. SRAC Publication No. 464.

Archive of SID

www.SID.ir