تأثير الارتفاع التدريجي للملوحة في بعض معايير الاجهاد (الكلوكوز والبروتين الكلي واللاكتيت) في بلازما الدم لاسماك الكارب الشائع

محمد شاكر الخشالي حسن علي الهلالي

أستاذ مساعد مدرس مساعد

جامعة بغداد /كلية الزراعة – قسم الإنتاج الحيواني

alshaker64@yahoo.com hassanalhilaly89@gmail.comm

المستخلص

أجريت الدراسة الحالية لتسليط الضوء على تأثير ارتفاع الملوحة في بعض معايير الاجهاد لاسماك الكارب الشائع (*Cyprinus carpio*)، إذ تم تعريض الأسماك بصورة تدريجية الى التراكيز الملحية 5 و10 و15 غم /لتر فضلاً عن معاملة السيطرة (0.1 غم/ لتر) لمدة 90 يوماً ، بواقع معاملة لكل تركيز ملحي ولمكررين. وزعت 80 سمكة عشوائياً على ثمانية احواض احواض زجاجية بواقع 10 سمكة / حوض بمعدل وزن 15 ±3 غم لدراسة تأثير الملوحة في مستويات كلوكوز الدم والبروتين الكلي و اللاكتيت . غذيت الأسماك اثناء التجربة على عليقة غذائية تجارية ذات مستوى بروتين 31.9 % ، أظهرت النتائج حصول ارتفاع طفيف في مستوى البروتينات الكلية في البلازما بارتفاع الملوحة إلى 5 غم/لتر وبلغت 4.98 غم/100سم^3 ، مقارنةً بعينة السيطرة (4.94 غم/100سم^3) ، بينما بدأ مستوى البروتينات الكلية في البلازما بالانخفاض الى 4.60 و 3.90 غم/100سم^3 عند ارتفاع الملوحة إلى 10 و 15 غم/لتر على التوالي ، اما الكلوكوز فقد أخذ مستواه بالارتفاع في الدم الى 75.11 و 91.20 و 95.17 ملغم / 100 مل بارتفاع الملوحة إلى 5 و 10 و15 غم/لتر على التوالي مقارنةً بمستواه في عينة السيطرة (66.64 ملغم/100 مل) . بينما ارتفع اللاكتيت الى التراكيز 43.12 و45.38 و48.53 ملغم/100 مل في التراكيز 5 و10 و15 غم /لتر على التوالي مقارنةً بعينة السيطرة (40.65) ملغم /100 مل .

كلمات مفتاحية: *Cyprinus carpio L.* ، ملوحة ، اجهاد ، كلوكوز ، اللاكتيت ، البروتين الكلي.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –573-581: 48(2)/ 2017 Al- Khshali & Al- Hilalli

EFFECT OF GRADUAL HIGH SALINITY ON SOME STRESS PARAMETERS (GLUCOSE,TOTAL PROTEIN AND LACTATE) IN BLOOD PLASMA OF COMMON CARP

M. S. Al-Khshali H. A. Al - Hilalli

Assist. Prof. Researcher

Dept.Animal production - Coll. Of Agric - Univ of Baghdad

alshaker64@yahoo.com hassanalhilaly89@gmail.comm

ABSTRACTS

The present study was conducted to investigate the effect of high salinity on the some stress parameters of common carp (*Cyprinus carpio)* which gradually exposed to salt concentrations of 5, 10 and 15g/liter, as well as tap water (control 0.1g/liter) for 90 days .80 fish were randomly distributed on eight glass tanks with 2 replicates as 10 fish / replicate at average weight of 15 ± 3 g to study the effect of salinity on the Total protein , *Glucose* ,and Lactate in blood plasma , Fish were fed during the trial on commercial diet with 31.9 % protein content.. Results showed that an increase in the total protein to 4.98 **and then decrease to** 4.60 **and** 3.90 **g/100 cm^3 when the salinity increased to 5, 10 and 15 g/l respectively, compared with the control treatment (**4.94 **g/100 cm^3). *Glucose* reached 75.11, 91.20 and 95.17 mg/100 ml at the concentrations of 5, 10 and 15 g/l respectively, compared with the control treatment (66.64 mg/100ml). Lactate also increased to** 43.12**, 45.38 and 48.53 mg/100 ml , when the salinity increased to 5 , 10 and 15 g/l respectively, in comparison with control treatment (40.65 mg/100 ml) .**

Key words: *Cyprinus carpio* , salinity , stress, Glucose, lactate , total protein.

المقدمة

يؤدي تعرض الأسماك لمستويات مختلفة من الملوحة الى استنزاف الطاقة المستخدمة في تفعيل عمل القنوات الناقلة للصوديوم والبوتاسيوم والتي تتواجد في الغلاصم (خلايا الكلوريد)،اذ ان هذه العملية تحتاج لمستويات عالية من الطاقة لاتمامها (31). إن أي اضطراب في بيئة الأسماك مثل التغير في تراكيز الملوحة يُعد عاملاً رئيسياً في اختلال الاستقرار الداخلي Homeostasis في الأسماك ، لذا فهي تحتاج الى العديد من الردود الفسلجية من أجل العودة الى حالة الاستقرار التي كانت عليها قبل التعرض للعامل المجهد (7) ، عرَف Smith (26) الاجهاد بانه حالة من اللاتوازن تصيب جسم الكائن الحي وتؤثر سلباً في وظائف اعضاءه ،اشارت الدراسات الى حدوث بعض مؤشرات استهلاك الطاقة في الأسماك مثل مستويات البروتينات في البلازما وتركيز الكلوكوز في الدم . كدراسة Arjona وآخرون (3) على أسماك *Solea senegalesis* و Luz وآخرون (15) على صغار أسماك *Carassius auratus* و Martinez– Alvarez وآخرون (16) على أسماك *Acipenser naccarii* و سلطان (27) على يافعات أسماك الشعم الفضي *Acanthopagrus latus*، إذ أظهرت جميع هذه الدراسات حدوث اختلاف في مستوى بروتينات بلازما دم الأسماك المعرضة للإجهاد الملحي لسد الحاجة المتزايدة من الطاقة . تتغير مستويات بروتينات بلازما الدم في الأسماك وهي الالبومين والبيتا كلوبيولين والالفا–1 كلوبيولين والالفا–2 كلوبيولين والكاما كلوبيولين التي تفرز في الكلية والكبد (21) عند التعرض لتغير بيئي او مرض او اجهاد مما يستوجب احداث تغيرات فسيولوجية للتأقلم على الوضع الجديد وان أنواع البروتينات المتواجدة في بلازما الدم هي. يُعد مستوى الكلوكوز في الدم مؤشراً حساساً للبيئة ومصادر الاجهاد وهو يزداد عادةً اثناء الاجهاد على المدى القصير (4). تشير الدراسات إلى أن ارتفاع سكر الدم في الاسماك عادةً ما يترافق مع ارتفاع مستويات الملوحة لسد الحاجة المتزايدة من الطاقة اللازمة لأغراض التنظيم الأيوني والازموزي الناتج عن اختلاف الوضع الازموزي باختلاف مستويات الملوحة، أو نتيجةً للتعرض لعوامل الإجهاد الأخرى كالملوثات (17). اما اللاكتيت فيعد من ضمن مؤشرات الاجهاد العامة وخصوصاً في عملية التأقلم الازموزي ، اذ لوحظ حصول ارتفاع في تركيز اللاكتيت بين العضلات عند تعرض الأسماك الى مستويات مرتفعة من الملوحة ، ويُنتج اللاكتيت في الحيوانات بشكل مستمر من البايروفيت بواسطة انزيم Lcatate dehydrogenase (LDH) في عملية التخمر اثناء الايض الاعتيادي ، اذ يعتبر ناتج عرضي لعملية تحلل السكر (5). أن انزيم LDH يمتلك خمسة من نظائر الانزيمات والتي يستخدمها في عملية تحويل البايروفيت الى اللاكتيت وقد اكتشف ان للاكتيت دور مهم في توفير الطاقة لدماغ الاسماك و في عملية التنفس وتوفير متطلبات ATP (32). لذا هدفت الدراسة الحالية الى تقصي تأثير ارتفاع الملوحة تدريجياً في بعض الصفات التي تعد مؤشراً لحصول الاجهاد ودلائل لاستهلاك الطاقة في الجسم وتضمنت مستويات الكلوكوز والبروتين الكلي واللاكتيت .

المواد وطرائق العمل

اقلمة اسماك التجربة وتحضير التراكيز الملحية: تم الحصول على 300 سمكة من أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* بتاريخ 2015/12/20 ، تراوحت اوزانها بين 12–25 غم من إحدى المزارع السمكية جنوبي بغداد .استخدمت احواض زجاجية ذات ابعاد 60×40×30سم ملئت حوالي 40 لتر ماء ومجهزة بالأوكسجين عن طريق مضخة هواء. غذيت الأسماك اثناء مدة الاقلمة والتي استمرت لأسبوعين على عليقة تجارية ذات محتوى بروتيني 31.9 % بواقع وجبتين يومياً وبنسبة 3% من وزن الجسم لتعويد الأسماك على العليقة اما اثناء التجربة والتي استغرقت 90 يوماً فقد غذيت الأسماك على العليقة نفسها و بواقع 3 وجبات يومياً وبنسبة 4% من وزن الجسم حضرت التراكيز الملحية المطلوبة 5 و10 و15 غم /لتر بإذابة وزن معلوم من ملح خشن جُلب من الأسواق المحلية علامة الشارقة في لتر ماء إسالة ، وقد أُخذت بنظر الاعتبار ملوحة ماء الإسالة وتم التأكد من ملوحة التراكيز الملحية المُحضرة عن طريق قياسها

بوساطة جهاز قياس الملوحة salinometer نوع EXTECH وبعد أقلمه الأسماك على الظروف المختبرية والتركيز الملحي 0.1 غم/ لتر (ماء اسالة) تم تعريضها إلى التراكيز الملحية المذكورة بشكل تدريجي ، اذ يتم نقل نفس الاسماك الى التركيز الاعلى كل اربعة أيام حتى الوصول الى التركيز الأخير ، أذ مثّل كل تركيز ملحي معاملة بذاتها وكانت الأسماك تُعرَّض إلى التركيز الجديد في نهاية اليوم الرابع من تعريضها للتركيز الاوطأ ولم تحسب هذه الفترة ضمن فترة التجربة ، عُدَّت الأسماك عند تركيز 0.1 غم/ لتر أسماك سيطرة .

كلوكوز الدم تم أخذ عينات الاسماك في نهاية التجربة من كل تركيز من التراكيز الملحية المستخدمة في التجربة (0.1 و 5 و 10 و 15 غم / لتر) لقياس نسبة الكلوكوز في بلازما الدم ، وذلك باتباع خطوات العمل المدرجة ضمن دليل الشركة المصنعة لل Kit، اذ اتبعت تعليمات شركة Biomaghreb المنتجة للعدة ، باستعمال جهاز مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer وحسب الطريقة التي ذكرها Asatoor و King (1) .

البروتينات الكلية في بلازما الدم

أُخذت عينات الاسماك في نهاية التجربة من كل تركيز من التراكيز الملحية المستعملة في التجربة (0.1 و 5 و 10 و 15 غم/ لتر) لتقدير البروتينات الكلية في بلازما الدم. اتبعت طريقة بيوريت (11) باستعمال Biomaghreb ، إذ تتفاعل أيونات النحاس copper ions في الوسط القاعدي مع ببتيد البروتين protein peptide مكونة مركباً ملوناً ، بعدها تُقرأ الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 550 نانوميتر وتقدر بروتينات بلازما الدم بوحدة غم/100 مل وفق المعادلة الآتية :

$$\text{تركيز البروتينات الكلية} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز الملحلول القياسي}$$

تقدير نشاط حامض اللاكتيت في البلازما

تم تقدير نشاط حامض اللاكتيت عن طريق اخذ 10 مايكرو لتر من بلازما الدم ووضعها في جهاز Dt Pipette a Vitros DT60II chemical analyzer للتحليل الكيميائي وحساب النتيجة بصورة مباشرة حسب دليل الشركة المصنعة .

التحليل الاحصائي :

تم استخدام البرنامج الإحصائي الجاهز Statistical Analysis Systemفي تحليل البيانات (SAS، 2004) وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Randomized Design وقورنت الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan test multiple range (Duncan، 1955) على مستوى احتمالية (0.05) .

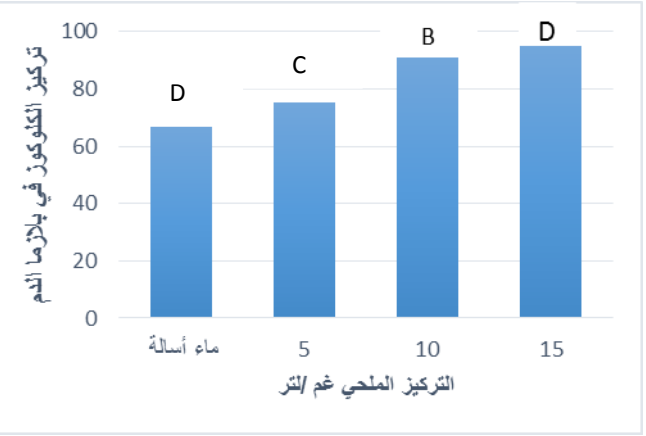
النتائج والمناقشة

يتضح من الشكل 1 مستوى البروتينات الكلية في بلازما الدم لأسماك الكارب الشائع عند زيادة الملوحة الى 5 و10 و15 فقد أخذ مستوى البروتينات الكلية في البلازما بالارتفاع الى 4.98 غم/100 مل بارتفاع الملوحة إلى 5 غم/لتر ، مقارنة" بعينة السيطرة(4.94 غم/100 مل) ، بينما انخفض الى 4.60 و 3.90 غم/100 مل عند ارتفاع الملوحة إلى 10 و 15 غم/لتر على التوالي .

الشكل 1. مستوى البروتينات الكلية (غم/100 مل) في بلازما الدم لأسماك الكارب الشائع في التراكيز الملحية المختلفة

ان انخفاض تراكيز البروتين الكلي في الدم يُعد دليل على حدوث إجهاد للأسماك بارتفاع التراكيز الملحية تدريجياً وقد يكون هذا الانخفاض بسبب انخفاض شهية الأسماك والذي يؤثر فيما بعد على عمليات تكوين وتركيب البروتين بشكل

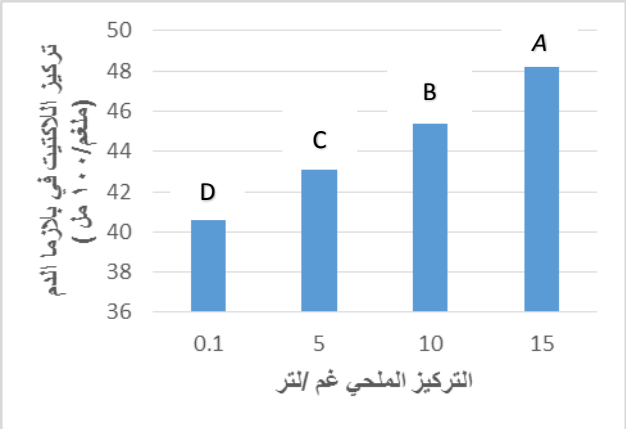
عام والبروتين الكلي في بلازما الدم بشكل خاص ، كذلك ان لهذه البروتينات دور في عملية التنظيم الازموزي ونقل الايونات ولذلك فأن استمرار وضع الأسماك في تركيز غير متساوي ازموزياً يؤدي الى استمرار استنزاف البروتين حتى يصل الى حالة من الثبات نتيجة تأقلم الأسماك على الوضع الجديد والارتفاع المستمر في الملوحة . تستجيب الأسماك للإجهاد عند المستويات الخلوية وترافق هذه الاستجابة بعض التغيرات في مستويات البروتينات. أن انخفاض مستويات البروتينات الكلية في بلازما الدم مع ارتفاع الملوحة الذي افرزته نتائج الدراسة الحالية قد يعود الى انخفاض شهية الاسماك وقلة الغذاء المتناول مما ينعكس سلباً على معدل تمثيل البروتينات في الجسم، اذ يؤدي ارتفاع التراكيز الملحية إلى زيادة معدل الايض لسد الطلب المتزايد على الطاقة للحفاظ على التوازن الأيوني والازموزي في البيئة الجديدة، وهذا يعني الحصول على الطاقة من مصادر الطاقة المخزونة في الجسم مثل البروتين وليس من الغذاء المتناول وهذا يؤدي بدوره إلى انخفاض مستويات البروتين في البلازما (12). وتدعم نتائج الدراسة الحالية العديد من الدراسات السابقة من إن بروتينات البلازما تنخفض بتعرض الأسماك لارتفاع في مستويات الملوحة أو نتيجة لاختلاف الوضع الازموزي باختلاف مستويات الملوحة في بيئة الأسماك عن مستوياتها الطبيعية ، إذ أشار al-khshali (2) الى حدوث انخفاض في مستوى البروتينات الكلية في بلازما الدم لأسماك الكارب العشبي الى 2.14 و 1.87 و 1.42 غم/100 مل بزيادة الملوحة إلى 4 و 8 و 12 غم/لتر على التوالي بالمقارنة مع عينة السيطرة (3.02 غم/100 مل) وعزى السبب الى اختلال عملية التنظيم الازموزي، وبين Martienez-Alvarez وآخرون (16) إن بروتينات البلازما في أسماك *Acipenser naccarii* تنخفض بزيادة الملوحة من 15 غم/لتر إلى 29 غم/لتر موضحاً أن السبب في ذلك هو زيادة متطلبات الطاقة في الأسماك . ولاحظ De Boeck وآخرون (6) حدوث انخفاض في مستويات بروتينات البلازما و قلة الشهية لأسماك الكارب الشائع المعرضة لملوحة 10 غم/لتر. وسجل Luz وآخرون (15) انخفاض مستوى البروتينات في البلازما معنوياً عند ملوحة 8 غم/لتر في أسماك *Carassius auratus*. وذكر Arjona وآخرون (3) حدوث انخفاض في بروتينات البلازما في أسماك *Sole senegalensis* في ملوحة 15 و25 غم/لتر عما كانت عليه عند ملوحة 39 غم/لتر وفسر ذلك على أساس زيادة متطلبات الطاقة باختلاف ازموزية البيئة. ولاحظت سلطان (27) انخفاضاً في بروتينات البلازما في يافعات أسماك الشعم الفضي عند ارتفاع الملوحة إلى 7 و 15 و23 و 30 غم/لتر. كما لاحظ Laiz-Carrión وآخرون (14) حدوث انخفاض في بروتينات البلازما في أسماك *Sparus aurata* المنقولة إلى ماء بحر عالي الملوحة . بينما لم تظهر أية تغيرات لنفس النوع من الأسماك عند نقلها من مياه متوسطة الملوحة إلى ماء بحر منخفض الملوحة ، وفي تجربة أخرى قام بها Peyghan وآخرون (21) لم تُسجل فروقات معنوية في تركيز البروتين الكلي عند تعريض اسماك الكارب العشبي grass carp لأربع تراكيز ملحية ماء اسالة و4 و8 و12 غم /لتر ، اذ كان تركيز البروتين الكلي 2.75 و 3.28 و 2.90 و3.13 غم /100 مل على التوالي ، وان هذه النتائج تتفق مع نتائج هذه الدراسة من حصول ارتفاع طفيف وانخفاض في مستويات البروتين الكلي بين المعاملات. ويتضح من الشكل 2 مستوى الكلوكوز في بلازما دم أسماك الكارب الشائع عند زيادة الملوحة تدريجياً الى 5 و10 و 15 غم/لتر ، إذ أخذ مستوى كلوكوز الدم بالزيادة الى 75.11و 91.20 و 95.17 ملغم / 100 مل بارتفاع الملوحة إلى 5 و 10 و15 غم/لتر على التوالي مقارنةً بمستواه في عينة السيطرة (66.64 ملغم/100 مل) . ويلاحظ أن مستوى الكلوكوز ازداد بشكل طفيف عند التركيز الملحي 15 غم/لتر مقارنة" بمستواه في التركيز الملحي 5 و10 غم/لتر. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية($P<0.05$) في مستوى كلوكوز الدم بين عينة السيطرة وباقي التراكيز الملحية المستعملة وكانت الفروقات معنوية($P<0.05$) بين التراكيز الملحية المستعملة كافة.



الشكل 2. مستوى الكلوكوز (ملغم/100 مل) في بلازما الدم لأسماك الكارب الشائع في التراكيز الملحية المختلفة

يرتبط مستوى الكلوكوز في الدم بعوامل الاجهاد ، ويعد اول مؤشر على تعرض أي كائن حي للاجهاد بشكل عام والاسماك بشكل خاص إذ ان انخفاض شهية الأسماك وقلة تناولها للغذاء يؤدي الى أنخفاض تركيز الكلوكوز عادةً ، ولكن عند تعرض الأسماك للإجهاد نتيجة ارتفاع التراكيز الملحية يؤدي الى زيادة طلب هذه الأسماك للطاقة وبالتالي افراز هرمونات الاجهاد وهي الادرينالين والنور ادرينالين والتي لها دور في رفع نسبة الكلوكوز في الدم كذلك فان الطلب المستمر للطاقة من اجل الوصول الى حالة التوازن خلال عملية التنظيم الازموزي يحفز الجسم بحرق الكلايكوجين الموجود في الكبد وتحويله الى كلوكوز والذي يستخدم كطاقة . ان وجود مستويات عالية من الكلوكوز تعد دليلاً على حصول الاجهاد في الأسماك وكذلك تعكس زيادة الاستجابة للطلب على الطاقة اذ ان الاجهاد هو ناتج للعمليات الفسلجية التي تقوم بها الأسماك من اجل الوصول الى حالة الاستقرار الداخلي وذلك من خلال التحكم في الوظائف ، إن تعرض الأسماك للإجهاد الملحي يؤدي إلى تحرر هرمونات الكاتيكول أمين catecholamine و الأدرينالين adrenaline و النورأدرينالين noradrenaline إلى مجرى الدم (33) مما يسبب زيادة الهرمونات الستيرويدية وكذلك الكاتيكول أمين عن طريق التغذية العكسية فهرمونات الإجهاد هذه تؤدي إلى زيادة انتاج الكلوكوز في السمكة من خلال مسالك بناء الكلايكوجين من مواد سكرية (glycogenesis) ومسلك تحلل الكلايكوجين (glycogenolysis) وتقع هاتين العمليتان ضمن ما يسمى بعملية انتقال الكلوكوز glucosemobilizing وذلك لمواجهة متطلبات الطاقة المتزايدة تحت تأثير العامل المجهد. و إن إنتاج الكلوكوز غالبا" ما يكون بفعل الكورتيزول المتحرر نتيجة" للتعرض للإجهاد الملحي والذي يحفز عملية بناء الكلوكوز من مواد غير سكرية (glyconeogenesis) في الكبد وكذلك اخذ الكلوكوز من الجسم (35). إذ ان ارتفاع هرمون الكورتيزول يعد مؤشر على الاستجابة الأولية للإجهاد بصورة عامة وان زيادة الكلوكوز تدل على حصول الاجهاد كذلك يتحرر الكلوكوز من الكبد والعضلات باتجاه مجرى الدم ويدخل إلى الخلايا من خلال فعل الأنسولين (20). وقد إشارت دراسات عديدة الى الارتباط بين الكورتيزول والكلوكوز والتعرض للإجهاد إذ لوحظ حصول زيادة طردية في كل من الكورتيزول والكلوكوز في أسماك الكارب الشائع بعد 20 دقيقة من التعرض لصدمة برودة Cold shock (30) وكذلك حصول زيادة طردية في الكورتيزول والكلوكوز لاسماك القط *Ictalurus punctatus* عند التعرض لتراكيز عالية من الامونيا (25). ويذكر أن هناك بعض العوامل التي تؤثر بصورة غير مباشرة في مستوى استجابة الكلوكوز في الدم، فقد أوضح Vijayan وآخرون (34) أن التغيرات في الحالة التغذوية ربما يؤثر في الاستجابة للإجهاد ومستوى الكلوكوز، إذ وجد عدد من الباحثين أن مستوى كلوكوز الدم يتداخل مع بعض العوامل الأخرى مثل التغذية والمرحلة العمرية وفصول السنة لأنها يمكن أن تؤثر في الكلايكوجين المخزون في الكبد (19). اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج العديد من الدراسات التي أكدت حصول ارتفاع في مستوى كلوكوز الدم في الأسماك نتيجةً لارتفاع مستويات الملوحة عن مستوياتها الطبيعية في البيئة التي تعيش فيها الأسماك وهذا ما توصل اليه al-khshali (2) بحدوث ارتفاع في مستوى كلوكوز الدم لأسماك الكارب العشبي الى 58.06 و 76.14 و 89.33 ملغم/100 مل عند ارتفاع الملوحة إلى 4 8 و 12 غم/ لتر على التوالي مقارنةً بمستواه في عينة السيطرة (47.18 ملغم/100 مل) . ذكر Tsui وآخرون (33) حصول زيادة في تركيز الكلوكوز عند نقل أسماك *Grouper*

Epinephelus من 29 –34 غم /لتر ملح وتركها 10–30 دقيقة أشاره الى أول عوامل الأجهاد. أشار De Boeck وآخرون (6) الى حدوث ارتفاع في مستويات الكلوكوز في أسماك الكارب الشائع (*Cyprinus carpio*) المعرضة لملوحة 10 غم/لتر ولمدة 28 يوم. لاحظت Sultan (27) حدوث ارتفاع في مستوى كلوكوز الدم في يافعات أسماك الشعم الفضي المعرضة لملوحة 7 غم/لتر و 15 غم/لتر. و بّين Yavuzcan–Yildisz و Karkavgac–uzbilek (36) حدوث ارتفاع في كلوكوز الدم لأسماك الكارب العشبي المعرضة لملوحة 10 غم/لتر خلال 24 و48 ساعة، مقارنة" مع مستواه في الماء العذب. ومع ذلك فأن نتائج Farghaly وآخرون (8) لا تتفق مع هذه الدراسة اذ لم يحصل أي تأثير معنوي في مستوى الكلوكوز عند تعرض أسماك البلطي لأربع تراكيز ملحية : مياه عذبة و9 و19 و39 غم /لتر ولم تُسجل أي فروقات معنوية. و أوضح Sangiao–Alvarellos وآخرون (24) حدوث ارتفاع في كلوكوز الدم لأسماك *Sparus aurata* في اليوم الأول للنقل من ماء البحر إلى ماء بحر عالي الملوحة. وبين Fast وآخرون (9) عدم حدوث ارتفاع في الكلوكوز في السالمون الأطلسي *Salmo salar*عند الارتفاع المفاجئ للملوحة، لكنه سجل حدوث زيادة عندما تعرضت الأسماك نفسها للاجهاد الملحي لمدة طويلة . وبين Karşi وآخرون (13) حدوث زيادة معنوية في كلوكوز الدم (120.37 ملغم/100مل) في أسماك البلطي *Oreochromis niloticus* المعرضة لزيادة في الملوحة إلى 18 غم/لتر مقارنةً بمستواه في دم الأسماك في الماء العذب (94.87 ملغم/100 مل) وقد فسر زيادة الكلوكوز هذه إلى فعل الكاتيكول أمين الذي يسرع من عملية بناء الكلوكوز من مواد سكرية (glycogenesis) بين Sangiao-Avarellos وآخرون (23) زيادة مستوى كلوكوز البلازما في أسماك *Sparus aurata* المؤقلمة على كل من الماء العذب وعلى ماء البحر عالي الملوحة بالمقارنة مع مستوياته في ماء البحر معللاً الزيادة هذه على أساس الحاجة إلى سد متطلبات الطاقة اللازمة للتنظيم الازموزي في البيئة الجديدة . يتضمن الشكل 3 نشاط حامض اللاكتيت Lactate في بلازما الدم لأسماك الكارب الشائع المنقولة تدريجياً الى التراكيز الملحية 5 و10 و15 غم /لتر ويظهر بان مستوى اللاكتيت قد أخذ بالارتفاع بزيادة الملوحة الى التراكيز أعلاه مقارنةً بتركيزه في عينة السيطرة، فقد بلغ تركيز اللاكتيت 43.12 و45.38 و48.53 ملغم /100 مل في التراكيز 5 و10 و15 غم /لتر على التوالي مقارنةً بعينة السيطرة (40.65) ملغم/100 مل، وقد أشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية ($P\leq0.05$) في تركيز اللاكتيت بين عينة السيطرة وبقية التراكيز الملحية المستخدمة في التجربة وكذلك وجود فروق معنوية بين جميع المعاملات.



شكل 3. نشاط اللاكتيت (ملغم /100 مل) في بلازما الكارب الشائع في التراكيز الملحية المختلفة

يُعد اللاكتيت المنتج النهائي للتمثيل الغذائي اللاهوائي في الأسماك (29) وان اللاكتيت مع الكلوكوز والبروتين الكلي تعد أهم المؤشرات التي يمكن استخدامها للتعرف على الاجهاد في الأسماك .تعمل الأسماك في حالات الاجهاد بشكل عام وخاصة في مستويات الاجهاد العالية على اطلاق هرمونات الادرينالين والنور ادرينالين والهرمونات الكورتيكوستيرويدية وزيادة في الكاتيكول امين وان هذه الهرمونات لها دور في زيادة افراز اللاكتيت بين العضلات وارتفاع تركيزه في بلازما الدم (28) ، اذ ان تعرض الأسماك للاجهاد يؤدي الى تأكسد معظم اللاكتيت الموجود في الدم وان نسبة اللاكتيت المؤكسدة تزداد مع زيادة استهلاك الاوكسجين وبذلك يكون اللاكتيت المطلق من قبل العضلات مسؤول عن تجهيز الطاقة لعمليات الايض التأكسدي . معظم لاكتيت الدم المتبقي يظهر ثانية في لاكتيت العضلات

بواسطة الاخذ المباشر للعضلات ، اذ ان هناك دمج للاكتيت الدم في كلايكوجين العضلات وذلك دليل مهم لاتمام عملية تكون الكلايكوجين في الموقع الأصلي كوسيلة لتعويض النقص في كلايكوجين العضلات (18). بين Salati وآخرون (22) ان مستوى اللاكتيت قد ارتفع لأسماك الكارب الشائع بارتفاع التراكيز الملحية من ماء اسالة الى 3 و6 و 9 و 12 غم /لتر ، ويعتبر التغير في تركيز اللاكتيت دليل على زيادة استهلاك الاوكسجين و زيادة استهلاك الطاقة وبهذا فان اللاكتيت يستخدم كمصدر لتوفير الطاقة مع الكلوكوز للغلاصم والكلى والدماغ (4) وقد لوحظ حصول ارتفاع في تراكيز اللاكتيت لاسماك *Epinephelus Malabaricus* عند التعرض المفاجئ لارتفاع في التراكيز الملحية 14 و19 و24 و29 و32 غم /لتر ثم حصول انخفاض في تركيز اللاكتيت مع مرور الوقت (33) . لاحظ Tseng وآخرون (32) حصول ارتفاع في مستويات انزيم LDH في خلايا الكلوريد عند نقل اسماك البلطي *Oreochromis mossambicus* لساعة واحدة من النهر الى المياه البحرية ، وان الزيادة في التجربة الحالية لم تتفق مع نتائج Grutter و Pankhurst (10) عند تعرض اسماك المرجان Coral fish لاجهاد النقل اذ لم يحدث تغيير كبير في تركيز اللاكتيت في البلازما ، ولوحظ ايضاً حصول ارتفاع في تركيز اللاكتيت لأسماك الكارب الشائع بعد 20 دقيقة من التعرض لصدمة البرودة (30)، و ذكر الباحث Small (25) حصول ارتفاع في تركيز اللاكتيت لأسماك Canal fish عند تعرضها لمستويات عالية من الامونيا وانخفاض في مستويات الاوكسجين.

REFERENCES

1.Asatoor, A. M. and E. J. King, 1954. Simplified colorimetric blood sugar method. *Biochem J.*, 16-56.

2. Al-Khshali,M.S.2011,Effect of Different Salt Concentrations on Some Physiological and Nutritional Aspects of Grass Carp *Ctenopharyngodon idella* and Gold fish *Carassius auratus*,University of Baghdad ,Department animal producion, College of Agriculture ,Ph.D Dissertation in arabic p 120.

3.Arjona, F. J. L . Vargas-Chacoff, I. Ruiz-Jarabo, O. GonÇalves, I. Pàscoa, M. P. Rio, and J. Macra, 2009. Tertiary stress responses in Senegales sole (Solea sanegalesis Kaup,1858)to osmotic challenge: implication for osmoregulation,energy metabolismand growth. *Aqua.287*, 419-426.

4.Barton, B. A., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integr. Comp. Biol, 42 (3): 517-525.

5.Begg, K. and N. W. Pankhurst , 2004. Endocrine and metabolic responses to stress in a laboratory population of the tropical damselfish *Acanthochromis polyacanthus*. J. Fish Biol 64, 133–145.

6.DeBoeck, G. A. Vlaeminck , A.Linden, and R. Blust, 2000. The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio)* when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation. *Physiol. Biochem. Zool., 73(1),* 102-111.

7.Enayati, A. R. Peyghan, A. A. Papahn, and G. H. Khadjeh, 2013. Study on effect of salinity level of water on electrocardiogram and some of blood serum minerals in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Vet Res Forum,*4(1)*, 49–53.

8.Farghaly, A. M., A. A. Ezzat, and M. B. Shabana, 1973. Effects of temperature and salinity changes on the blood characteristics of *Tilapia zilli* in Egyptian littoral lakes. Comp. Biochem. Physiol. *46A*, 183–193.

9.Fast, M. D., S. Hosoya, S. Johnson, and L. O. Afonso, 2008. Cortisol response and immune related effect of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short- and long term stress. *Fish and Shellfish Immunology.,24*, 194-204.

10.Grutter, A. S., and N. W. Pankhurst, 2000. The effects of capture, handling confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish *Hemigymnus melapterus. J Fish Biol* , 57:391–401.

11. Henry, R.J., D.C. Cannon, and W.J. Winkelman, 1974. Clinical Chemistry, principles and techniques, 2 nd . ed. Harper and Row,Hagerstown.
12.Imsland, A. K., A. Gustavsson, S. Gunnarsson, A. Foss, J. Àrnason, I. Arnarson and H. Thorarensen, 2008. Effect of reduce salinities on growth , food conversion efficiency and blood physiology of Juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L*.). Aqua., *274*, 254-259.
13.Karşi, A., H. Y Yildiz and G. Tarihi, 2005. Secondary stress response of Nile Tilapia *Oreeochromis niloticus* after direct transfer to different salinities. *Tar. Bil. Der.,11(2)*, 139-141.
14.Laiz-Carrión, R., S. Sangiao-Alvarellos, J. M. Guzmán, Martín del Río,. J. L. Soengas, and J. M. Mancera, 2005. Growth performance of gilthead sea bream *Sparus aurata* in different osmotic conditions: Implications for osmoregulation and energy metabolism. *Aquaculture 250*, 849–861.
15.Luz, R. K., R. M. Martinez-Alvarez, , N. DePedro, and M. J. Delgado, 2008. Growth , food intake regulation and metabolic adaptation in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinity. *J.* Aqua., *276(1-4)*, 171-178.
16.Martinez-Alvarez, R. M., M. C Hidalgo, A. Domezain, A. E Morales, M. Garcia – Gallego, and A. Sanz, 2002. Physiological changes of sturgeon (*Acipenser naccarii*) caused by increasing environmental salinity. J.Exp.Biol 202, 3699- 3706.
17.Martinez-Porchas , M., L. R. Martinez-Cordova and R.Ramos-Enriguez , 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? PanamJAS, 4(2): 158-178.
18.Milligan , C. L., and S. S. Girard , 1993. Lactate Metabolism in Rainbow Trout . J. exp. Biol. *180*, 175-193.
19.Nakano, K. M. Tagawa, A. Takemura, and T. Hirano, 1998. Temporal changes in liver carbohydrate metabolism associated with seawater transfer in *Oreochromis mossambicus*. Comparative Biochemistry and Physiology *B119*, 721–728.
20.Nelson,, D. L., and M. M. Cox, 2005. Lehninger Principles of Biochemistry. 4th ed. New York: WH Freeman and Co.pp 360.
21.Peyghan, R., G. H. Khadjeh, and A. Enayati , 2014. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *V*et Res Forum, 5(3): 225–229.
22.Salati, A. P., A. Baghbanzadeh,M .Soltsni, R .Pexghan, and G.H .Riazi,.2010. The response of plasma glucise,Lacate,protein and hamatological parameters to osmotic challenge in Common carp. Internationa journal of veterinary research 4(1) , 49-52.
23.S. Sangiao-Alvarellos, R. Laiz-Carrión, J.M. Guzmán,M.P. Martin del Rio, J.M.Miguez, J.M. Mancera, , and J.L. Soengas. 2003. Acclimation of *S. aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and monosmoregulatory organs. Am. J. Physiol. 285, R897–R907.
24.Sangiao-Alvarellos, S., F.J Arjona, M.P.Martín del Río, J.M. Míguez, J.M. Mancera, and J.L. Soengas, 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in *Sparus aurata*. J. Exp. Biol. 208(Pt 22), 4291-304.
25.Small, B. C. 2004. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. Aqua. *238*, 469–481.
26.Smith, S. L. 1991. Introduction to Fish Physiology. Washonton: Argent Lab.,Lab. Redmond.PP: 256 .
27.Sultan,F.A. 2007 Effect of Salinity Acclimation on some Physiological and Nutritional Aspects in *Acanthopagrus latu*s (Houttyn, 1782) Juveniles. University of Basrah , Ph.D. Dissertation . pp:162.
28.Sumpter, J. P. 1997. The endocrinology of stress. In G. K. Iwama, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, & C. B. Schreck, Fish stress and health in aquaculture Cambridge: Cambridge University Press pp:118.
29.Soivio, A.,K. Nyholm, and M. Huhti, 1977. Effects of anaesthesia with MS 222, neutralized MS 222 and benzocaine on the

blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol, 10: 91-101.

30.Tanck, M. W., G.H. Booms,E.H. Eding, ,S.E.Wendelaar Bonga,, and J. Komen, 2000. Cold shocks: a stressor for common carp. J Fish Biol, *57:881–894.*

31.Tseng Y.C., C.J. Huang, J.C. Chang, W.Y. Teng, O. Baba, M.J. Fann, and P.P. Hwang. 2007. Glycogen phosphorylase in glycogen-nrich cells is involved in the energy supply for ion regulation in fish gill epithelia. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 293: R482-R491.

32.Tseng, Y G. J.R. Lee, J.C. Hsi Chang,C. Hsien Kuo,S. Jye Lee, and P. Pung Hwang, 2008. Regulation of lactate dehydrogenase in tilapia *(Oreochromis mossambicus)* Gills during acclimation to salinity challenge. Zoological Studies 47(4), 473-480.

33.Tsui, W. C., J.C Chen, , and S.Y. Cheng, 2012. The effects of a sudden salinity change on cortisol, glucose, lactate, and osmolality levels in grouper Epinephelus malabaricus. Fish Physiol Biochem, 38:1323–1329.

34.Vijayan, M., M.,C. Pereira, and T.W . Moon, 1994. Hormonal stimulation of hepatocyte metabolism in rainbow trout following an acute handling stress. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 108(3), 321–329.

35.Wedemeyer, G. A., B.A Barton, and J.M . Donald , 1990. Stress and acclimation (Methods for fish biology). AM FISH SOC, Bethesda, Maryland, 451-489.

36.Yavuzcan-Yildiz, H., M. Kirkavgaç-Uzbilek, 2001.The evaluation of secondary stress response of grass carp(*Ctenopharyngodon idella),*Val. 1844) after exposing to the saline water. *F*ish Physiol.Biochem. 25(4), 287-290.