تأثير الإجهاد الملحي على التنظيم الازموزي واستهلاك الطاقة في أسماك الكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella* (Val.,1844.)

رغد شبر جعفر و*سمية محمد احمد

جامعة البصرة / مركز علوم البحار/ قسم الكيمياء البيئية البحرية

* قسم الأسماك والثروة البحرية/ كلية الزراعة

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لبيان تأثيرا لإجهاد الملحي الناتج عن ارتفاع مستويات الملوحة على أسماك الكارب العشبي. تضمنت الدراسة الحالية جانبين، تناول الجانب الأول تحديد التركيز الملحي نصف القاتل للأسماك (LC_{50}) بعد 96 ساعة من تعرض الأسماك إلى ارتفاع مفاجئ في الملوحة إلى 5 و10 و15 غم/لتر. بينما تناول الجانب الأخر دراسة تأثير الارتفاع التدريجي في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر في التنظيم الازموزي، من خلال قياس تركيز ايونات Na^+ وK^+ للدم والعضلات والمحتوى المائي للعضلات ودراسة تجمعات خلايا الكلوريد في الغلاصم، إلى جانب دراسة الطاقة المستهلكة للتنظيم الازموزي، من خلال قياس كل من الأوكسجين المستهلك ومستويات الكلوكوز والبروتين الكلي في البلازما. بينت النتائج أن لأسماك الكارب العشبي مدى تحمل ملحي ضيق ، حيث كان التركيز الملحي نصف القاتل (LC_{50}) لها 7.5 غم/ لتر. أما نتائج القياسات الفسلجية المتعلقة بالتنظيم الازموزي، فبينت وجود زيادة في ايونات الدم والعضلات وفي المحتوى المائي للعضلات بزيادة الملوحة. ترافقت هذه التغيرات مع زيادة نسب وأعداد خلايا الكلوريد في الغلاصم. ازداد استهلاك الأوكسجين مع زيادة الملوحة والذي عكس بدوره بزيادة في كمية الطاقة، بينما انخفضت مستويات البروتينات الكلية وازداد مستوى الكلوكوز في بلازما الدم بزيادة الملوحة وهذا ما يعكس زيادة استهلاك الطاقة للتنظيم الازموزي. الاستنتاج من هذه الدراسة يوضح أن أسماك الكارب العشبي لا تمتلك مقاومة للتراكيز الملحية العالية (أعلى من 10 غم/ لتر) لكن حصلت الأقلمة التدريجية عند ملوحة تراوحت ما بين 5 و 10غم / لتر مع حالة استقرار داخلي جديدة تزامنت مع استهلاك عالي للطاقة لغرض التنظيم الازموزي.

المقـــدمـــة

يعرف الإجهاد على انه خروج السمكة من حالة التوازن المثالية في وظائف الأعضاء استجابة للعوامل المجهدة(Smith, 1982). ويعتبر التغير في مستويات الملوحة الطبيعية في بيئة الأسماك من ابرز عوامل الإجهاد بالنسبة للأسماك. وتتطلب استجابة الأسماك لهذا العامل المجهد كل المستويات التنظيمية من الخلية إلى أعضاء الكائن الحي ككل (Hightower, 1991; Barton and Iwama,1991; Adams, 1990). وبصورة عامة تستطيع الأسماك المحافظة على استقرارها الداخلي من خلال عملية التنظيم الازموزي والتي تعمل من خلالها على السيطرة على الماء والأملاح في الجسم حفاظاً على الاستقرار الداخلي. وتلعب خلايا الكلوريد دوراً مهماً في عملية التنظيم الازموزي ذلك إن لهذا النوع من الخلايا قابلية التكيف على كل من التغيرات الحادة والمزمنة في مستويات الملوحة(Claiborne *et al*., 2002) باعتبارها الموقع الرئيسي لنقل الايونات في غلاصم الأسماك (Laurent, 1984)، فهي مسؤولة عن التبادل الأيوني في الغلاصم و تزداد أعدادها عند التعرض لظروف بيئية غير ملائمة. فقد بينت نتائج العديد من الدراسات حدوث تغير في أعداد خلايا الكلوريد وحجمها وشكلها بتعرض الأسماك للإجهاد الملحي ومن هذه الدراسات، دراسة Azizi *et al*. (2010) على أسماك الكارب الشائع والتي بينوا من خلالها حدوث زيادة في حجم خلايا الكلوريد في الأسماك المعرضة لزيادة تدريجية في الملوحة إلى 12 غم/لتر، وفي دراسة Martinez-Alvarez *et al*. (2002) لأسماك الحفش حدثت زيادة في أعداد خلايا الكلوريد وفعالية إنزيم Na^+/K^+ TPase الملوحة، بزيادة ودراسة Güner *et al*. (2005) على اسماك التلابيا (*Oreochormis niloticus*) التي تشير إلى زيادة في حجم خلايا الكلوريد بزيادة الملوحة فوق 25 غم/ لتر.

كما تساهم العمليات الفسلجية في تنظيم التركيز الازموزي لسوائل الجسم في اسماك المياه العذبة من خلال الميكانيكيات التي تقوم بها

الأعضاء المسؤولة عن التنظيم الازموزي كالغلاصم والكلى والأمعاء (Eddy, 2009). ويعتقد أن الاستقرار الداخلي لتوازن الماء والأملاح يعتمد على المستلمات الحسية الازموزية osmosensors (2009) Eddy والتي تعمل على كشف الانحراف عن نقطة الثبات في الضغط الازموزي وبعده يبدأ فعل الميكانيكيات التعويضية الملائمة، وتسترد نقطة الثبات. وبين(2009) Eddy أن التنظيم الازموزي في الأسماك يسيطر عليه على الأقل بواسطة نوعين من المستقبلات الازموزية osmoreceptors، النوع الأول يستجيب إلى التغير في الضغط الازموزي الداخلي ويقع في منطقة تحت المهاد. كما إن العديد من أنواع الأسماك تستجيب لأي تغير في البيئة المائية حيث يستجيب النوع الآخر من المستقبلات الازموزية إلى التغير في الضغط الازموزي الخارجي، كما في حالة التغير في الملوحة.

يعتبر الإجهاد الملحي من العمليات التي تتطلب طاقة وعلى الأسماك توفير مكونات الطاقة الأساسية لتتمكن من تجاوز الإجهاد (Barton and Schreck, 1987). تقاس الطاقة المستهلكة في الأسماك بصورة غير مباشرة عن طريق قياس الأوكسجين المستهلك الذي عادةً يستخدم كمؤشر للايض في الأسماك (Lovell, 1989). تؤثر الملوحة على معدل استهلاك الأوكسجين بطرق مختلفة ويمثل الاستهلاك بشكل منحني على شكل حرف U حيث يكون معدل الايض عالياً في البيئات المرتفعة الازموزية أو المنخفضة بينما يلاحظ انخفاض معدل الايض في البيئة المتوسطة الازموزية أو المتساوية (Imsland *et al*., 2003; Kelly *et al*., 1999; Jesen *et al*., 1998; Laiz Carrion *et al*., 2005). وقد تناولت العديد من الدراسات اختلاف معدل استهلاك الأوكسجين في أنواع مختلفة من الأسماك باختلاف الملوحة باعتباره مؤشراً جيداً على اختلاف الايض خلال الإجهاد الملحي، (Maceina *et al*., 1979; يسر، 1996؛ Hussein *et al*., 2001; Ahmed, 2005). وكانت نتائج تأثير الملوحة في معدل استهلاك الأوكسجين متباينة وتعتمد على النوع وفترة التعرض وتصميم التجارب وتفاصيل القياسات المستخدمة (Sardella *et al*., 2004; Plaut, 2000;

(Gracia-Lopez *et al.*, 2006). وقد اقترح Morgan and Iwama (1991) خمسة نماذج لبيان التغيرات الايضية التي تحدث نتيجة التغير في ملوحة البيئة وكما يلي:

1. لا يحدث تغير في معدل الايض.
2. انخفاض معدل الايض في البيئات الملحية المتساوية التوتر وزيادته في الملوحات الواطئة والعالية.
3. زيادة معدل الايض زيادة خطية مع الملوحة.
4. ارتفاع معدل الايض في المياه العذبة وانخفاضه في الوسط المتساوي التوتر.
5. زيادة معدل الايض بشكل كبير جدا" في ماء البحر وتناقصه في الملوحات الأخرى.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على أسماك الكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella* من محطة استزراع الأسماك التابعة لمركز علوم البحار في جامعة البصرة وتراوحت أوزانها بين 7- 18 غم . نقلت الأسماك إلى المختبر بواسطة أكياس بلاستيكية سعة ثلاث التار مملوءة بماء من نفس بيئة الأسماك لتقليل الإجهاد. وزعت الأسماك في المختبر على أحواض بلاستيكية سعة الحوض الواحد 30 لتر، ملئ كل حوض منها 20 لتر ماء حنفية خال من الكلور وبواقع خمسة أسماك في كل حوض مع استخدام التهوية الصناعية. أقلمت الأسماك على ظروف المختبر لمدة أسبوع قبل البدء بالتجارب وغذيت الأسماك خلال هذه الفترة بعليقه مصنعة ذات نسبة بروتين 50 % مرةً واحدة في اليوم مع مراعاة تبديل ربع ماء الحوض يومياً للحفاظ على نوعية الماء في الأحواض. حضرت المحاليل الملحية 5 و10 و15 غم/ لتر المستخدمة في التجارب بإذابة وزن معلوم من الملح البحري في لتر من ماء الحنفية.

تجربة التعريض المباشر

عرضت الأسماك التي تراوحت أوزانها مابين 7-15 غم لزيادة مفاجئة في الملوحة إلى (5 و10 و15 غم/ لتر)، تم استخدام مكررين لكل تركيز وبواقع عشرة أسماك لكل مكرر لغرض تحديد التركيز الملحي نصف القاتل LC_{50} للأسماك في خلال 96 ساعة

من ارتفاع الملوحة المفاجيء إلى التراكيز في أعلاه، ثم قورنت النتائج مع عينة السيطرة.

تجربة التعريض التدريجي

لبيان تأثير الإجهاد الملحي على التنظيم الازموزي من خلال استخدام بعض القياسات الفسلجية، عرضت أسماك الكارب العشبي التي تراوحت أوزانها مابين 10- 18 غم إلى زيادة تدريجية في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر ولمدة أربعة أيام مع استخدام التهوية الصناعية، وتغذية الأسماك خلال فترة التجربة، تم استخدام مكررين لكل تركيز وبواقع خمسة أسماك لكل مكرر. كانت العينات تجمع من الأسماك في نهاية اليوم الرابع من التعريض لكل تركيز من التراكيز أي قبل تعريضها للتركيز الأعلى وهكذا. تم إيقاف التغذية قبل 24 ساعة من اخذ عينات الأسماك لإجراء القياسات الفسلجية. استخدمت خمسة أسماك لكل تركيز لغرض جمع العينات واجراء القياسات اللازمة.

عينة الدم والأنسجة

جمعت عينة الدم من خلال قطع السويقة الذنبة وسحب الدم بواسطة أنابيب شعرية حاوية على مادة مانعة للتخثر(Na^+ heparinizd). فصلت العينات بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 3 دقائق، وقيس حجم خلايا الدم المضغوطة مباشرةً أما عينة البلازما فخففت بالماء المقطر الخالي من الايونات وحفظت تحت التجميد بدرجة حرارة 12 ºم لحين استخدامها لقياس تركيز كل من ايون الصوديوم والبوتاسيوم بجهاز مطياف اللهب. أما عينة العضلات فأخذت من المنطقة خلف الزعنفة الظهرية وغسلت للتخلص من الأملاح المترسبة عليها وقيس وزنها الرطب ثم جففت تحت درجة حرارة 105 ºم وبعد التجفيف حسبت النسبة المئوية لماء العضلات من المعادلة التالية :

$$\text{المحتوى المائي} = \frac{\text{الوزن الرطب} - \text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الجاف}} \times 100$$

ولقياس تركيز أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في العضلات استخدمت الطريقة الجافة حسب Bath and Eddy (1979)، تم اخذ 0.1 غم من نسيج العضلات الجاف المطحون ثم وضع في أنبوبة اختبار وأضيف له 5 مل حامض النتريك المخفف (0.2N)

وترك لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة مع الرج المستمر بعدها وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3500 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة. اخذ 1 مل من الراشح وأكمل الحجم إلى 10 مل بماء مقطر خال من الايونات وحفظت العينات تحت التجميد بدرجة -12 ºم إلى حين قياسها بجهاز مطياف اللهب.

تجمعات خلايا الكلوريد

أتبعت طريقة Sargent *et al.* (1978) في فصل خلايا الكلوريد وخلايا الطبقة الطلائية الأخرى من الغلاصم، باستخدام محلول فسلجي من كلوريد الصوديوم (0.9 %). استخدمت صبغة الأحمر المتعادل (0.04 %) لصبغ خلايا الكلوريد وصبغة المثيل الأزرق (0.5) كصبغة معاكسة لصبغ خلايا الطبقة الطلائية الأخرى Bancroft, (1975). استخدمت شريحة عد الخلايا (Heamocytometer) لعد الخلايا، وقدر العدد الكلي لخلايا الكلوريد والخلايا الأخرى في 1 غم من المادة المقشوطة بالإضافة إلى تقدير النسبة المئوية لخلايا الكلوريد نسبة للخلايا الطلائية.

قياس استهلاك الأوكسجين

استخدمت طريقة الأواني المغلقة لحساب كمية الأوكسجين المستهلك اعتماداً على Nordile and Leffer (1975) . إذ وضعت سمكة واحدة ذات وزن معلوم في وعاء زجاجي معتم سعة 1 لتر مملوءة بماء مشبع بالأوكسجين. نقلت الأسماك الموجودة في التراكيز الملحية المستخدمة في التجربة إلى هذا الوعاء وتترك لمدة 24 ساعة لغرض أقلمتها على الاحتجاز. وعند البدء بالتجربة توقف التهوية ويغلق الوعاء بإحكام. يتم قياس الأوكسجين المستهلك كل ربع ساعة إلى أن ينخفض مستواه إلى 60 % من مستوى الإشباع. تقاس كمية الأوكسجين المستهلك بواسطة جهاز قياس الأوكسجين (Oxygen meter). اعتماداً على Brett (1972) يتم تحويل الأوكسجين المستهلك (ملغم O_2 / كغم / ساعة) إلى طاقة وكما يلي:-

1ملغم O_2 / كغم / ساعة يكافئ 0.00337 كيلو سعره / كغم / ساعة

مستوى كلوكوز الدم

استخدم جهاز (GNO 2278729) ايرلندي الصنع لحساب مستوى الكلوكوز في الدم. بعد قطع السويقة الذنبية توضع قطرة من الدم على الشريط الخاص بالجهاز ثم تقرأ النتيجة مباشرةً من على شاشة الجهاز، اذ يُقدر الكلوكوز بوحدة (ملغم/100 مل).

مستوى بروتينات البلازما

قدرت بروتينا ت البلازما الكلية بطريقة بيوريت (1974) .Henry *et al* باستخدام Biuret kit من إنتاج شركة RANDOX الفرنسية، ففي هذه الطريقة يتفاعل ايون النحاس في الوسط القاعدي مع ببتيد البروتين مكوناً مركب لوني. تقرأ الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي 546 نانوميتر وتقدر بروتينات البلازما بوحدة غم/ 100سم^3.

حسب المعادلة التالية

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

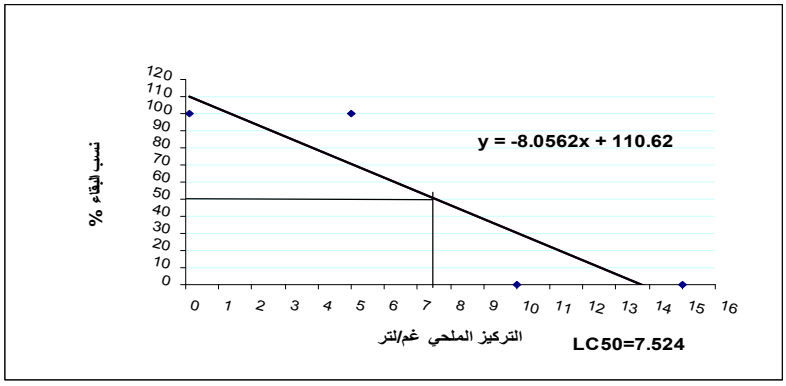
التحليل الإحصائي

تم استخدام البرنامج الإحصائي SPSS في تحليل البيانات وفي التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) وباستخدام اختبار (LSD) Least Significant Differences Test لاختبار معنوية الفروق بين المعاملات وبمستوى معنوية (0.05).

النتائـــــــج

التركيز الملحي نصف القاتل

يبن الشكل (1) التركيز الملحي نصف القاتل (LC_{50}) لأسماك الكارب العشبي في خلال 96 ساعة من تعريضها لارتفاع مفاجئ في الملوحة إلى 5 و10 و15 غم/لتر. اذ يلاحظ من الشكل إن التركيز الملحي نصف القاتل للأسماك كان 7.5 غم/ لتر.



شكل(1) التركيز الملحي الذي يقتل 50 % من أسماك الكارب العشبي (LC_{50}) خلال 96 من التعريض المباشر إلى التراكيز الملحية المختلفة،(عدد الأسماك 10).

القياسات الدموية

تبين النتائج في جدول (1) إن تعرض أسماك الكارب العشبي إلى زيادة تدريجية في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر نتج عنه زيادة معنوية($P<0.05$) في قيمة PCV % اذ بلغت قيمتها في التركيزين الملحين في أعلاه 34.00 و39.00 % على التوالي، مقارنة بعينة السيطرة(30.33 %). كما إن زيادة الملوحة التدريجية إلى التراكيز المشار إليها آنفا" ترافق معه حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز أيون الصوديوم في البلازما (105.26 و 118.42 ملي مول/ لتر) مقارنة" بعينة السيطرة (86.83 ملي مول/ لتر)، بينما لم تكن الفروق معنوية ($P>0.05$) في تركيز ايون الصوديوم بين التركيزين الملحيين 5 و10 غم/ لتر. كما ارتفع تركيز أيون البوتاسيوم في البلازما معنوياً ($P<0.05$) إلى 12.05 و16.95 ملي مول/ لتر على التوالي مقارنةً بعينة السيطرة(7.08 ملي مول/ لتر). كما إن الفروق كانت معنوية($P<0.05$) في تركيز أيون البوتاسيوم بين التركيزين الملحين 5 و10 غم/ لتر.

ايونات الأنسجة ومائها

تبين النتائج في جدول (1) أن تعرض أسماك الكارب العشبي إلى زيادة تدريجية في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر ترافق معه حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) للمحتوى

المائي في العضلات اذ بلغت عند التركيزين الملحيين أعلاه 80.54 و82.2 % على التوالي، مقارنةً بعينة" السيطرة (79.45%). كما كانت الفروق معنوية ($p<0.05$) في المحتوى المائي للعضلات بين عينة السيطرة والتركيز 10 غم/ لتر بينما لم تكن هناك فروق معنوية($P>0.05$) بين عينة السيطرة والتركيز الملحي 5 غم/ لتر، وكانت الفروق معنوية($P<0.05$) بين التركيزين الملحيين 5 و10 غم/لتر. كما يلاحظ من الجدول(1) حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز ايون الصوديوم في أنسجة أسماك الكارب العشبي المعرضة لملوحة 5 و10 غم / لتر (52.19 و90.29 ملي مول/ كغم ماء نسيج) مقارنة بتركيزه في عينة السيطرة (50.42 ملي مول/ كغم ماء نسيج) وتوضح النتائج في جدول (1) ان زيادة الملوحة أدت إلى حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز ايون البوتاسيوم في العضلات حيث بلغ تركيزه عند التركيزين الملحيين أعلاه (103.18 و115.10 ملي مول/ كغم ماء نسيج)، مقارنةً بعينة السيطرة (89.00 ملي مول/ كغم ماء نسيج).

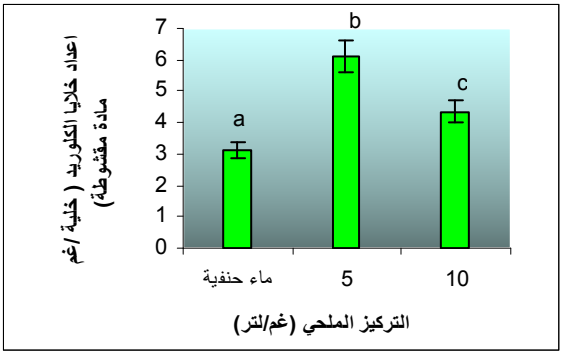
جدول (1) يبين النسبة المئوي لحجم خلايا الدم المضغوطة (PCV %)، وتركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في بلازما الدم (ملي مول / لتر) وتركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في العضلات (ملي مول / كغم ماء نسيج) بالإضافة إلى النسبة المئوية للمحتوى المائي في عضلات أسماك الكارب العشبي. القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري.

الملوحة (غم/لتر)	عدد الأسماك	PCV %	تركيز ايونات البلازما (ملي مول /لتر)		تركيز ايونات العضلات (ملي مول/كغم ماءنسيج)		المحتوى المائي في العضلات (%)
			Na^+	K^+	Na^+	K^+	
ماء حنفية (0.1)	5	30.33 1.63±	86.83 11.8±	7.08 1.75±	50.42 13.26±	89.00 0.01±	79.45 0.12±
5	5	34.0 2.00±	105.3 14.4±	12.05 1.57±	52.19 4.32±	103.18 1.89±	80.54 0.50±
10	5	39.00 2.64±	118.4 0.10±	16.96 1.48±	90.29 0.43±	115.10 1.55±	82.2 0.39±

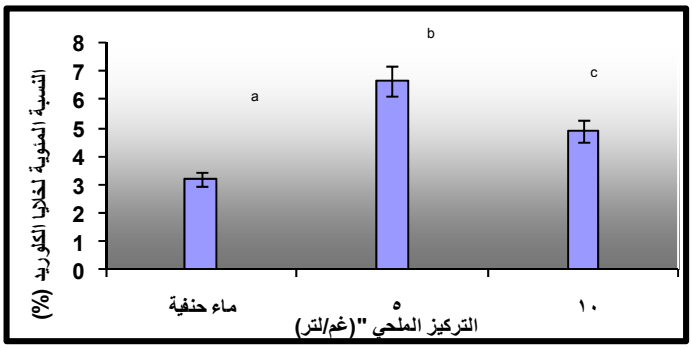
عدد خلايا الكلوريد ونسبها في الغلاصم

تبين النتائج حدوث زيادة في أعداد خلايا الكلوريد ونسبها في أسماك الكارب العشبي المعرضة لزيادة تدريجية في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر، مقارنةً بأعدادها ونسبها في عينة السيطرة. اذ يلاحظ من الشكل (2) حدوث زيادة في أعداد الخلايا للتركيزين أعلاه (6.12×10^5 و4.35×10^5خلية/غم مادة مقشوطة) على التوالي، مقارنة" بأعدادها في عينة السيطرة (3.14×10^5). بينما يلاحظ أن أعداد خلايا الكلوريد أخذت بالانخفاض عند التركيز الملحي 10 غم/ لتر مقارنةً بالتركيز الملحي 5 غم/ لتر. ويبين التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية($p<0.05$) في أعداد خلايا الكلوريد بين كل من عينة السيطرة والتركيزيين الملحيين 5 و 10 غم/ لتر، كما كانت هناك فروق معنوية ($p<0.05$) بين كل من التركيزين الملحين 5 و10 غم/ لتر.

كما بين الشكل (3)أن نسب خلايا الكلوريد عند التركيزين في أعلاه قد ازدادت حيث وصلت نسبها إلى 6.65 % و4.93 % على التوالي ،مقارنةً بعينة السيطرة (3.22 %). وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) في النسبة المئوية لخلايا الكلوريد بين عينة السيطرة وكل من التركيزين الملحين 5 و 10 غم/ لتر، كما وكانت الفروق معنوية ($p<0.05$) بين التركيزيين الملحيين 5 و10 غم/ لـــــــتر.



شكل (2) أعداد خلايا الكلوريد (خلية/غم مادة مقشوطة) في أسماك الكارب العشبي عند ارتفاع الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر.(الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك 5)



شكل(3) النسبة المئوية لخلايا الكلوريد (%) في أسماك الكارب العشبي عند ارتفاع الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر (الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك5).

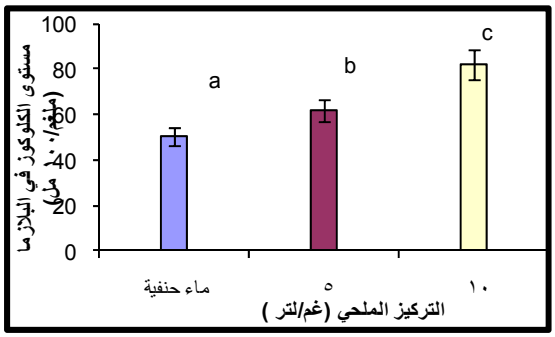
مستويات كلوكوز البلازما وبروتيناتها

يبن الشكل (4) إن الزيادة التدريجية بالملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر التي عرضت لها اسماك الكارب العشبي أدت إلى حدوث ارتفاع في مستوى كلوكوز البلازما . فقد بلغ مستواه عند التركيزين الملحين أعلاه 62.00 و82.00 ملغم/100 مل على التوالي مقارنةً بمستواه في عينة السيطرة (50.33 ملغم/100 مل). وبين التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى كلوكوز البلازما بين عينة السيطرة والتركيزين أعلاه كما كانت الفروق معنوية ($P<0.05$) كذلك بين التركيزين الملحيين 5 و10 غم/ لتر.

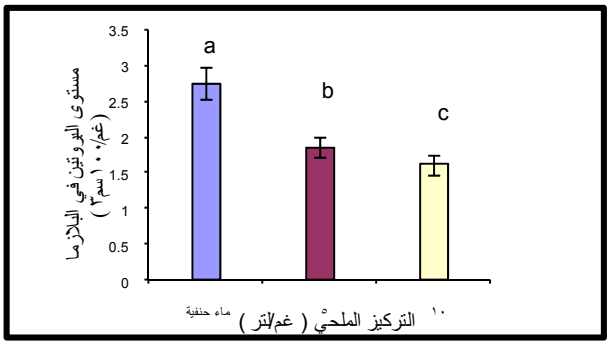
وبينت النتائج الموضحة في الشكل (5) إن زيادة الملوحة إلى التراكيز المشار إليها أدت إلى حدوث انخفاض في مستوى بروتينات البلازما. حيث بلغت مستوياته في هذين التركيزين 1.86 و1.61 غم/100 سم^3 ، مقارنةً بمستواه في عينة السيطرة (2.75 غم/ 100 سم^3). وكانت الفروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى بروتينا ت البلازما بين عينة السيطرة وكل من التركيزيين 5 و10 غم/ لتر وبينهما.

استهلاك الأوكسجين

لوحظ من خلال النتائج المبينة في الشكل (6) حدوث زيادة في معدل استهلاك الأوكسجين في أسماك الكارب العشبي عند الزيادة التدريجية في الملوحة إلى 5 و10 غم/ لتر.



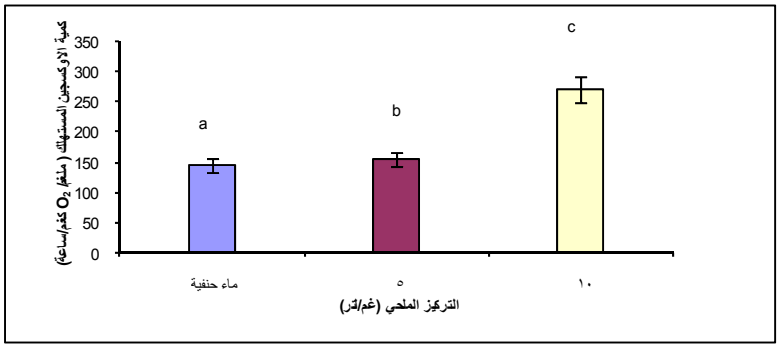
شكل (4) مستوى الكلوكوز في البلازما (ملغم/100مل) لأسماك الكارب العشبي في الملوحات المختلفة (ماء حنفية و5 و10 غم/ لتر). (الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك 5).



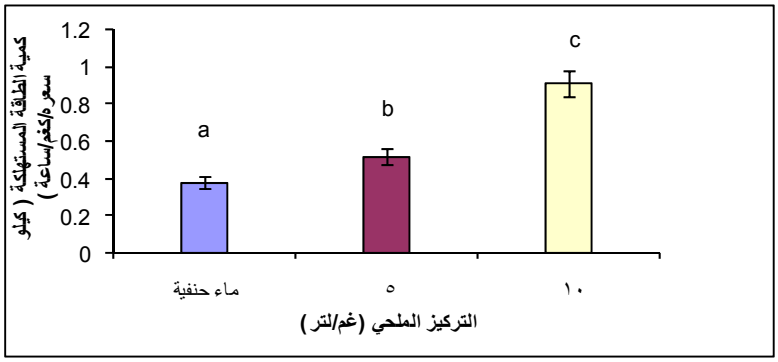
شكل (5) مستوى بروتينات البلازما الدم (غم/100سم^3) لأسماك الكارب العشبي في الملوحات المختلفة (ماء حنفية و5 و10 غم/ لتر). (الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك 5).

حيث بلغ معدل الاستهلاك في التركيزين أعلاه 155.0 و270.81 ملغم O_2 / كغم/ ساعة على التوالي مقارنةً بمعدل الاستهلاك في عينة السيطرة (144.60 ملغم O_2 / كغم/ ساعة). وبين التحليل الإحصائي إن الفروق كانت معنوية ($P<0.05$) في معدل الاستهلاك بين التراكيز أعلاه وعينة السيطرة كما وكانت الفروق معنوية($P<0.05$) بين التركيزين الملحيين (5 و10 غم/ لتر). ورافق الارتفاع في معدل استهلاك الأوكسجين هذا زيادة طردية في كمية الطاقة المستهلكة حيث بلغت كمية الطاقة المستهلكة في التراكيز أعلاه 0.52 و0.91 كيلو سعره / كغم/ساعة مقارنة بكمية الطاقة

المستهلكة عند عينة السيطرة (0.38 ±0.02 كيلو سعره/كغم/ساعة)، وبين التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) في كمية الطاقة المستهلكة بين عينة السيطرة والتركيزين الملحيين 5 و10 غم/ لتر، كما كانت الفروق معنوية بين التركيزين الملحيين 5 و10 غم/ لتر(شكل 7) .



شكل (6) كمية الأوكسجين المستهلك (ملغمO_2 /كغم/ساعة) في أسماك الكارب العشبي في الملوحات المختلفة ماء حنفية و 5 و10 غم/ لتر. (الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك 5).



شكل (7) كمية الطاقة المستهلكة (كيلو سعرة/كغم/ساعة) في أسماك الكارب العشبي في الملوحات المختلفة ماء حنفية و 5 و10 غم/ لتر. (الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية، عدد الأسماك 5).

المنـــاقشـــة

تستطيع معظم الأسماك تحمل الصدمة الازموزية عند تعرضها المفاجئ لماء ذا ضغط إزموزي مختلف من خلال ميكانيكية التنظيم الازموزي والأيوني التي ينتج عنها حالـــة مـــن التـــوازن بـــين ســـوائل الجـــسم والبيئـــة الخارجيـــة (Holmes and Donalson , 1969)، وعليه فان ارتفاع نسب الوفيات بين الأسماك بارتفاع مستويات الملوحة المفاجئ مقارنةً بمستوياتها الطبيعية يمكن أن يعزى إلى فشل ميكانيكية التنظيم الأيوني والازموزي (Salman *et al*., 1997). أو قد يكون بسبب ارتفاع التركيز الازموزي لبلازما الدم نتيجة" لزيادة مستويات الايونات وعدم قدرة الأسماك على مواجهة هذا الارتفاع والعودة بتركيز هذه الايونات إلى معدلاتها الطبيعية (Bath and Eddy, 1979). وتختلف قابلية الأسماك على تحمل التغيرات في مستويات الملوحة تبعاً لعدة عوامل ويعتبر نوع السمكة من أبرز العوامل وهذا ما أكدته نتائج الدراسة الحالية، فمن ملاحظة التركيز الملحي نصف القاتل لأسماك الكارب العشبي يمكن القول بان لهذا النوع من الأسماك مدى ضيق لتحمل الارتفاع المفاجئ في الملوحة، فهي لم تستطع العيش إلا في تركيز 5 غم/ لتر والذي كانت نسب البقاء فيه 100 % خلال فتـــرة التجربـــة (96 ساعة) في حين أنها لم تستطع العيش في التركيز الأخر فقد ماتت جميعها فيه. وهذا يتفق مع ما وجده Kilambi and Zdinak (1980) إذ أشارا إلى إن يافعات أسماك الكارب العشبي يمكن أن تموت بتعرضها لملوحة 11 غم/ لتر، وبين Saoud and AL- Shami (2006) إن ارتفاع الملوحة المفاجئ إلى 9 غم/ لتر كان قاتلاً لأسماك الكارب العشبي في خلال 48 ساعة بينما استطاعت الأسماك البقاء في تركيز 8 غم/ لتر خلال فترة التجربة التي استمرت لمدة 168 ساعة. يمكن تفسير الزيادة في حجم خلايا الدم المضغوطة بزيادة الملوحة خلال الدراسة الحالية بحدوث زيادة منتظمة في حجم خلايا الدم الحمراء فضلاً عن زيادة أعداد هذه الخلايا لغرض تجاوز الطلب المتزايد على استهلاك الأوكسجين الناتج عن زيادة الايض والتي تؤدي في النهاية إلى زيادة حجم خلايا الدم المضغوطة (Martinez- Alvarez *et al*., 2002). إن ارتفاع النسبة المئوية لحجم خلايا الدم المضغوطة بارتفاع مستوى الملوحة قد سجل ايضاً في أسماك الخشني(Ahmed, 2005) وفي أسماك الشعم الفضي (سلطان، 2007).

يدل ارتفاع تركيز الايونات في البلازما على فشل ميكانيكية التنظيم الازموزي والأيوني التي تساعد على إخراج الايونات الزائدة من الجسم (Eddy, 1982) فيما يسمى بطور التعديل الازموزي والذي يتم فيه السيطرة على التغيرات في تركيز ايونات البلازما (Maetz, 1971) عن طريق ميكانيكية تنشيط ضخ الايونات بواسطة خلايا متخصصة في الغلاصم تسمى خلايا الكلوريد . لقد بينت نتائج الدراسات زيادة في أعداده خلايا الكلوريد بزيادة ملوحة البيئة (Langdon and Throp, 1984). وهذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسات أخرى على أنواع مختلفة من الأسماك ، مثل دراسة Tsuzuki *et al.*(2001) التي بين فيها حدوث ارتفاع في ايونات البلازما لأسماك*Odontesthes bonariensis* المنقولة إلى ملوحة 5 و20 غم/ لتر مقارنةً بتركيز 0 غم/ لتر، ودراسة Salman *et al.* (1997) الذين لاحظوا إن الارتفاع المفاجئ في الملوحة إلى12.5 غم/ لتر الذي عرضت له اسماك البني (*Barbus sharpey*i) أدى إلى حدوث زيادة كبيرة في مستويات كل من ايون الصوديوم (160.2 ملي مول/ لتر) والبوتاسيوم (16.4 ملي مول/ لتر)، مقارنةً بمستوياتهما في الماء العذب (122.3 ملي مول/ لتر) و (13.6 ملي مول/ لتر)على التوالي.

إن أول ردة فعل لأسماك المياه العذبة ضيقة التحمل الملحي تجاه ارتفاع مستويات الملوحة هو زيادة شرب الماء لتعويض الفقدان الحاصل في ماء الأنسجة ومن ثم تقليل الإجهاد الناتج عن ارتفاع تركيز الدم (Bath and Eddy, 1979)، حيث إن التحمل المحدود في اسماك المياه العذبة ضيقة التحمل الملحي يحدد بواسطة كل من القدرة على انجاز العمليات التي تنظم ماء الجسم بما ينسجم مع فقدان الماء وهذا ما قد يفسر الارتفاع في ماء الأنسجة الذي بينته نتائج الدراسة الحالية. وإن ارتفاع تركيز الايونات في العضلات يعتبر جزء من المرحلة الثانية من عملية التنظيم الازموزي والأيوني والتي

يلاحظ فيها زيادة تركيز ايونات الأنسجة وخاصة العضلات (Bath and Eddy, 1979) ، ذلك إن الحمل الملحي الناتج من زيادة مستويات الملوحة لا يتوزع بصورة متساوية في الجسم وإنما يتركز في المحتويات الخلوية وهي حالة مهمة من ناحية التنظيم الأيوني و الازموزي (Kosteck, 1984). وهذا ما اكدته دراسة سلطان (2007) على أسماك الشعم الفضي واحمد (1996) على أسماك الخشني .

تعتبر خلايا الكلوريد الموقع الفعال للتبادل الأيوني وزيادتها تكون استجابة فسلجية للإجهاد الملحي الذي يسبب فقدان الايونات (Wendelaar Bonga *et al.*, 1999). وهذا ما أوضحته نتائج الدراسة الحالية والتي بينت حدوث زيادة في أعداد خلايا الكلوريد ونسبها بزيادة الملوحة المعرضة لها الأسماك وهذا ما يمكن دعمه من خلال العديد من الدراسات لتي تبين ذلك فقد بين Eddy (1982) إن غلاصم اسماك المياه العذبة تمتلك عدد قليل من خلايا الكلوريد ومستويات منخفضة من إنزيم Na^+ / K^+ ATPase وان أعداد الخلايا يزداد ويتغير شكلها بارتفاع الملوحة . ويتم ذلك تحت سيطرة هرمون الكورتيزول و البرولاكتين وهرمون النمو (McCormick *et al.*, 1991). كما سجلت زيادة في أعداد ونسب خلايا الكلوريد في الأسماك وذكر Azizi *et al.* (2010) حدوث زيادة في أعداد خلايا الكلوريد في اسماك الكارب العادي المعرضة إلى زيادة تدريجية في الملوحة إلى 9 غم/ لتر. واشار Erkmen and Kolankaya (2009) حدوث زيادة في كثافة خلايا الكلوريد في غلاصم اسماك *Lebistes reticulates* المعرضة لإجهاد ملحي نتيجة ارتفاع الملوحة إلى 8 و 11 % ماء بحر ولمدة أسبوعين.

يستخدم قياس معدل استهلاك الأوكسجين كمؤشر على معدل الايض في الأسماك باختلاف الوضع الازموزي (يسر، 1996) . فقد بينت العديد من الدراسات حدوث زيادة في معدل استهلاك الأوكسجين بزيادة مستويات الملوحة لسد متطلبات الطاقة الإضافية لأغراض التنظيم الازموزي باختلاف الوضع الازموزي باختلاف مستوى الملوحة ،كما في دراسة (Ahmed, 2005) و (Morgan *et al.*, 1997) .وهذا متفق مع نتائج الدراسة الحالية والتي بينت حدوث زيادة في معدل استهلاك الاوكسجين في أسماك

الكارب العشبي بارتفاع مستوى الملوحة يؤدي تعرض الأسماك إلى الإجهاد إلى زيادة إفراز هرمون الكورتيزول والذي بدوره يزيد من إنتاج الكلوكوز من خلال عملية تكوين السكر من مواد غير سكرية (glyconeogenesis) وكذلك اخذ الكلوكوز من المحيط لسد متطلبات الطاقة الإضافية لأغراض التنظيم الازموزي في الوضع الازموزي الجديد (Arijona *et al*., 2009). فقد أشارت Ahmed (2005) إلى حدوث زيادة في مستوى سكر الدم في أسماك الخشني المعرضة لارتفاع مستويات الملوحة. كما ويرافق تعرض الأسماك للإجهاد الملحي انخفاض في شهية الأسماك وزيادة متطلبات الطاقة لحفظ التوازن ألايوني الازموزي وهذا بدوره يؤدي إلى خفض مستويات البروتين في الدم (Usher *et al*., 1991). وهذا متفق مع دراسة DeBoeck *et al*.(2000) التي تبين حدوث انخفاض في مستويات بروتينات البلازما في اسماك الكارب العادي المعرضة لكل من ايونا Na^+ و Cl^- تبعاً لانخفاض الشهية وزيادة متطلبات الطاقة لحفظ التوازن الداخلي.ويدعم ماذكر انفاً نتائج الدراسة الحالية والتي اشارت الى حدوث زيادة في كلوكوز البلازما بينما انخفض مستوى بروتيناتها بارتفاع مستوى الملوحة.

المصادر

احمد، سمية محمد (1996). التنظيم الازموزي والأيوني لبعض اسماك المسطحات المائية في البصرة. أطروحة دكتوراه ،كلية الزراعة، جامعة البصرة، 145 صفحة.

سلطان، فاطمة عبد الحسين (2007). تأثير الأقلمة الملحية في بعض الجوانب الفسلجية والتغذوية في يافعات اسماك الشعم الفضي *Acanthopagrus latus* (Houttyn,1782). أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة البصرة، 162 صفحة.

يسر، عبد الكريم طاهر (1996). التأثيرات الغذائية والفسلجية للملوحة في أسماك البياح الذهبي *Liza carinata* . أطروحة دكتوراه ،كلية الزراعة، جامعة البصرة ،72 صفحة .

Adams, S.M. (1990) .Status and use of biological indicators for evaluation the effect of stress on fish. Amer. Fish Soc. Symp., 8(1).

Ahmed, S.M. (2005). Bioenergetics of osmoregulation in *Liza abu* Juveniles during salinity acclimation. Bas. J. Vet. Res., 4(1):9- 16.

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

Azizi, S., Kochanian, P., Peyghan, R. (2010). Chloride cell morphometrics of Common carp, *Cyprinus carpio*, in response to different salinities. Comp. Clin. Pathol. DOI 10.1007/s00580-010-1003-8.

Bancroft, J.D. (1975). Histochemical techniques Butterworth and Co. (Publ.) Ltd. 348 pp.

Barton, B.A. and Iwama, G.K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effect of corticosteroids. Ann.Rev. Fish Dis., 1,3.

Barton, B.A. and Schreck, C.B. (1987). Metabolic cost of acute physical stress in Juvenile Steelhead. Trans. Am .Fish. Soc., 116, 257.

Bath, R.N. and Eddy, F.B. (1979). Salt and water balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri)* rapidly transferred from fresh water to sea water. J. Exp. Biol., 83:193-202.

Brett, J.R. (1972). The metabolic demand for oxygen in fish, particularly salmonids in a comparison with other vertebrates. Resp. Physiol. 14: 151- 170.

Claiborne, J.B., Edwards S.L., and Morrison-Shetlar A.I.m. (2002). Acid-base regulation in fishes: cellular and molecular mechanisms. J. Exp. Zool., 293: 302-319.

DeBoeck, G., Vlaeminck, A., Linden, A.V. and Blust, R. (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.

Eddy, F.B. (2009). Regulation of sodium in the body fluid of teleost fish in response to challenges to the osmoregulatory system. In osmoregulation and ion transport integrating physiological, molecular and environmental aspects. (Ed) Handy, R.D., Bury, N.R. and Flik, G., Exp. Biol., Vol.1.300 pp.

Eddy, F.B. (1982). Osmotic and ionic regulation in captive fish with particular reference to salmonids. Comp. Biochem. Physiol.73B (1) : 125-K11.

Erkman, B. and Kolankaya, D. (2009). The relationship between chloride cells and salinity adaptation in the euryhaline Teleost *Lebistes reticulates*. J. Anim. Vet. Adva., 8(5) 888 :892.

Gracia-López, V., Rosas-Vázquez, C. and Brito-Pérez, R. (2006). Effect of salinity on physiological condition in Juvenile Common snook *Centropomus undecimatis* ,Comp. Biochem. Physiol. Part A: Molecular and Integr.Physiol. 145(3):340-345.

Gῡner, Y., Özden, O., Çaĝirgan, H., M.AL Tunok, H., Kizak, V. (2005). Effect of salinity on the osmoregulataroy

function of the gill in Nile Tilapia (*Oreochroms niloticus*). Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29:1259 - 1266.

Henry, R.J., Cannon, D.C. and Winkelman, W.J. (1974). Clinical Chemistry, principles and techniques, 2 nded Harper and Row, Hagerstown.

Hightower, L.E. (1991). Heat shock, stress proteins, chaperones and protoxicity, cell, 66, 191.

Homles, W.N. and Donalson, E.M. (1969). The body compartment and the distribution of electrolytes in Fish Physil. Vol. I, Hoar, W.S. and Randall, D.J. (eds.). Academic Press, New York, pp. 1-7.

Hussein, S.A., AL-Daham, N.K. and AL-Dubaikel, A.Y. (2001).Oxygen consumption and ammonia excretion of fingerling of native Cyprinid (*Barbus sharpeyi* and *B. Xanthopterus*) compared to common carp (*Cyprinus carpio*). Mar. Mesop., 16(1):115-128.

Imsland, A.K., Gunnarsson, S., Foss, A., Stefansson, S.O. (2003). Gill Na^+,K^+-ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different tempreture and salinities, Aqua., 218:671-683.

Jensen, M.K., Madsen, S.S., Kristiansen, K. (1998). Osmoregulation and salinity effects on the expression and activity of Naq, Kq-ATPase in the gills of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). J. Exp. Zool. 282: 290–300.

Kelly, S.P., Chow, I.N.K. and Woo, N.Y.S. (1999). Haloplasticity of black sea bream (*Mylio macrocephalus*): Hypersalin to fresh water acclimation .J. Exp. Zool., 283: 226-244.

Kostecki, P. (1984). The effect of osmotic and ionic stress on the blood and urine composition and urine flow of Rainbo trout *(Salmo gairdneri)* . Comp.Biochem.Physiol. 79A: 215-221.

Laiz-Carrión, R., Guerreior, P.M., Fuentes, J., Canario, A.V.M., Martin del Rio, M.P. and Mancera, J.M. (2005). Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream,*Sparus auratus*. J. Exp. Zool. 303: 563-576.

Langdon, J.S. and Throp, J.E. (1984). Response of the gill Na^+/K^+ ATPase activity ,SDH activity and chloride cells to salt water adaptation in Atlantic salmon , *Salmo salar L.* parr and smolt J. Fish Biol., 24:323- 331.

Laurent, P. (1984). Gill internal morphology. In W.S. Hoar, D.J. Randall, (eds.): Fish physiology Vol. 10A. Orlando, FL: Academic Press, pp. 73-184.

Lovell, R.T. (1989). Nutritional and feeding of fish .Van Nostra and Reinhoil New York.260 pp.

Maceina, M.J., Nordliet, F.G., Shireman, V. (1979).The influence of salinity on oxgen consumption and plasma electrolytes in grass carp *Ctenopharyngonon idella* (Val.1844). J. Fish Biol., 16(6) P. 613-619.

Martin-Alvarez, R.M., Hidalgo M.C., Domezain, A., Morales, A.E., Garcia – Gallego, M. and Sanz, A. (2002). Physiological changes of sturgeon (*Acipenser naccarii*) caused by increasing environmental salinity. J. Exp. Biol.205: 3699-3706.

Matez, J. (1971). Fish Gills: Mechanisms of salt transfer in fresh water and seawater .Phil. Tran. R. Soc. London., B. 262-249.

McCormick, S.D., Sakamoto, T., Hasegawa, S. and Hirano, T. (1991). Osmoregulatory action of insulin – link growth

factor I in Rainbow trout *Oncorynchus mykiss*. J. Endoor., 130: 87-92.

Morgan, J.D., Sakamoto, T., Grau, E.G. and Iwama, G.K. (1997). Physiological and respiratory responses of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation. Comp. Biochem. Physiol., 117(3) : 91 -398.

Morgan, J.D. and Iwama, G.K. (1991). Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 48(11): 2083 -2094.

Nordile, F.G. and Leffer, C.W. (1975). Ionic regulation and the energetic of osmoregulation in *Mugil cephalus* Lin, Comp. Bioch. Physiol., A. 51 (1):125-131.

Plaut, I. (2000). Resting metabolic rate, critical swimming speed, and routine activity of the euryhaline cyprinodontid, *Aphanius dispar*, acclimated to a wide range of salinities. Physiol. Biochem. Zool., 73: 590–596.

Salman, N.A., Al-Kanaani, S.M., Barak, N.A. (1997). Osmoregulatory functions in Bunni *Barbus sharpeyi* in response to short-term exposure to salt water. Bas. J. Science,15 (1): 7-14.

Sardella, B.A., Cooper, J., Gonzalez, R.J., Brauner, C.J. (2004). The effect of temperature on juvenile Mozambique tilapia hybrids *(Oreochromis mossambicus. O×urolepis hornorum*) exposed to full-strength and hypersaline seawater. Comp. Biochem. Physiol., A 137: 621–629.

Sargent, J.R., Pirire, B.D.S., Thompson, A.J. and George, S.G. (1978). Structure and function of chloride cells in the gills

of *Anguilla anguilla*. Proc. 12th Europ. Mar.Biol., Pregamon Press:123- 132.

Smith, L.S. (1982). Introduction to fish physiology. T.H.F.Pub 1.Hong Kong.352p.

Saoud, H.A. and Al-Shami, I.J. (2006). Sodium chloride tolerance of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val. 1844). fingerling. Mar. Mesop., 21(2): 146-153.

Tsuzuki, M.Y., Ogawa, K., Strüssman, K., Takashima (2001). Physiological responses during stress and subsequent recovery at different salinities in adult Pejerry *Odontesthes bonariensis*, Aqua. 200:349-362.

Usher, M.L., Talbot, C. and Eddy, F.B. (1991). Effect of transfer to seawater on growth and feeding in Atlantic salmon smolt (*Salmo salar*) (L.). Aqua., 94: 309-326.

Wendelaar Bonga, SE. R., Lock, L.J., Minshan, C., Bijuan, C. and Jingyao, D. (1999). Gills and skin as bioindicators of water pollution in fish from freshwater and a marine habitat. In: Large marine ecosystems of the Pacific rim: assessment, sustainability, and management (eds: Kenneth Sherman and Qisheng Tang). Blackwell Science Inc., pp 407-418.

Effect of salt stress on osmoregulation and energy consumption in grass carp *Ctenopharyngodon idella* (Val.,1844)

Raghad S. Jaafar &*Sumaya M. Ahmed

Department of Marine Environmental Chemistry, Marine Science Center, University of Basrah, Basrah, Iraq.

*Department of fisheries and Marine Resources, College of Agriculture, University of Basrah. Iraq.

amialraghad@yahoo.com

ABSTRACT

This study aims to explain the effect of salt stress on Grass carp *Ctenopharyngodon idella*. It includes two parts, the first to determine the LC_{50} during abrupt increase in salinity to 5,10 and 15g/L.While the other part concerned with the physiological effects of the gradual increase in salinity to 5 and 10 g/L on osmoregulation, by measuring ions concentration (Na^+, K^+) in the blood plasma and muscles ,water contents in the muscles , numbers and percentage of chloride cells in the gills epithelia, beside studying the expenditure of osmoregulation by measuring the rate of oxygen consumption, the levels of glucose and total protein in blood plasma. The results showed that the Grass carp has a narrow salt tolerance with LC_{50} 7.5g/L. Osmoregulation study showed an increase in the concentrations of ions(Na^+ and K^+) in the blood plasma and muscles with increasing salinity to 5 and 10 g/L and the water levels in the muscle increase with increasing salinity. These changes are parallel with the increasing percentage and numbers of chloride cells in the gills. The oxygen consumption rate was increased with increasing salinity to 5 and 10 g/L .There was a decrease in the total protein and increase in the glucose levels with increasing salinity to 5 and 10g/L which reflect an increase energy consumption for osmoregulation. It was concluded, that the Grass carp does not have resistance to high salt concentration over 10 g/L, and the acclimation occurred in salt concentrations between 5 and 10 g/L with a new state of homeostasis and high consumption of energy for osmoregulation.