magiran.com

بررسی فعالیت بافت کلیه و آبشش بچه ماهی آزاد خزر در شوری آب دریای خزر

محمد صیادبورانی[1]*؛ بهروز ابطحی[2]؛ محمود بهمنی[3] ؛ علی حلاجیان[4]؛ ایوب یوسفی[5] و افشین امیری[6]

١ و ٦ - پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور، بندر انزلی صندوق پستی: ٦٦

٢ - دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی، تهران صندوق پستی: ٣١١٣-١٩٨٣٩٦

٣، ٤ و ٥ - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ٣٤٦٤-٤١٦٣٥

تاریخ دریافت: آبان ١٣٨٦ تاریخ پذیرش: بهمن ١٣٨٨

چکیده

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* Kessler, 1877، به دلیل دارا بودن خصوصیات رودکوچی و ارزش اقتصادی بالا از اهمیت بسزائی برخوردار است. هدف از این تحقیق بررسی غلظت الکترولیت‌ها (کلسیم و منیزیوم) و روند تکاملی بافت کلیه و آبشش بچه ماهی آزاد دریای خزر در گروههای وزنی مختلف، جهت مواجهه با شوری (١١/٥ -١١ قسمت در هزار) دریای خزر می‌باشد. در این تحقیق از ۴ گروه وزنی بچه ماهیان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی و با سه تکرار استفاده شد.

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه نشان داد که این شاخص در همه گروههای وزنی در آب دریای خزر کاهش یافته ($P<0/05$) و این کاهش در گروه ۵ گرمی کمتر بوده و پس از ۳ روز از زمان انتقال به حدود ۱۱۰۰ میکرومترمربع رسیده است. اختلاف سطح شبکه گلومرولی زمان ۷۲ ساعت نسبت به زمان صفر در گروههای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی بترتیب ۵۰۰، ۱۶۰۰، ۹۰۰، ۱۳۰۰ میکرومترمربع محاسبه گردید.

نتایج بررسی نشان داد که متوسط قطر لوله پروکسیمال در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در زمان صفر بترتیب ۴/۹±۳۷/۸، ۳/۹±۳۳/۴، ۷/۳±۳۶/۵ و ۵/۹±۳۴ میکرومتر و در زمان ۱۶۸ ساعت بترتیب به ۹/۱±۴۱/۳، ۳/۱±۳۳، ۲/۱±۳۳/۴ و ۶/۱±۳۶/۲ میکرومتر رسیده که قطر این لوله در گروه ۵ گرمی افزایش یافته که حاکی از عدم تطبیق این واحد نفرون در مواجهه با شوری محیط جهت تولید ادرار کمتر می‌باشد.

پس از انتقال بچه ماهیان ۵ گرمی به آب دریای خزر، غلظت منیزیوم در تمامی فواصل زمانی بالاتر از سطح اولیه بود، بطوریکه پس از ۲۴۰ ساعت ماندگاری در آب دریا سطح یون منیزیوم به ۴/۲ میلی‌اکی والان در لیتر رسید (افزایشی حدود ۳۱/۳ درصد) و نشاندهندهٔ عدم خروج کامل و تعادل این یون در پلاسمای خون می‌باشد. در سایر گروهها سطح متعادلی از این یونها مشاهده شد.

تعداد و اندازه سلولهای کلراید (پس از یک هفته) در تیمار آب دریای خزر برای گروه ۵ گرمی تغییر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). در حالیکه گروههای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در تیمار آب دریای خزر افزایش تعداد و حجم سلولهای کلراید داشتند ($P<0/05$). این تعداد در تیمارهای یاد شده از ۳ تا ۷ عدد (بین دو لاملای آبششی) متغیر بود.

لغات کلیدی: ماهی آزاد ، گلومرول، سلول کلراید، دریای خزر، ایران

*نویسندهٔ مسئول: mohammadborani@yahoo.com

magiran.com

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* Kessler, 1877 از جمله ماهیان مهاجر رودرو (آنادرموس) دریای خزر می‌باشد که از ارزش اقتصادی و مقبولیت ویژه برخوردار است (کازانچف، ۱۳۷۱). امروزه اکثر رودخانه‌های حوزه دریای خزر ارزش اکولوژیک خود را بدلیل ورود آلاینده‌ها و سموم، برداشت شن و ماسه، ایجاد سد و موانع در مسیر مهاجرت ماهیان و صید بی‌رویه از دست داده‌اند. تکثیر طبیعی در تأمین ذخایر این ماهی نقش چندانی ندارد. برای حفظ و ترمیم ذخایر این گونه هر ساله اقدام به تکثیر مصنوعی و رهاسازی آن می‌شود تا از این طریق بتوان ضریب بازگشت شیلاتی را افزایش داد (صیاد بورانی، ۱۳۸۷). براساس گزارش غنی‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱)، ضریب بازگشت شیلاتی ماهی آزاد خزری حدود ۰/۴ درصد محاسبه گردید. بنابراین ضریب بازگشت با توجه به تعداد رهاسازی اندک بوده و چندان در بازسازی ذخایر این گونه موثر نبوده است.

یکی از راههای افزایش بقای بچه ماهیان پس از رهاسازی یافتن مناسب‌ترین اندازه و سن رهاسازی می‌باشد. که این امر با بررسی وضعیت فیزیولوژیک و شرایط محیطی ماهیان امکانپذیر است. در میان عوامل فیزیولوژیک، دستگاه تنظیم اسمزی و چگونگی تشکیل و تکامل اندامهای تنظیم کننده اهمیت بیشتری دارند (Krayushkina *et al.*, 1995).

گونه‌های جنس *Salmo* و *Onchorhynchus* با تغییر شکل از مرحله Parr به اسمولت برای زندگی دریایی مهیا می‌شوند. تغییر شکل Parr به اسمولت (Smoltification) در بچه ماهیان آزاد، با تغییرات رفتاری، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک همراه است (Zaugg & Beckman, 1989 ;Hoar, 1988).

Cleveland و همکاران در سال ۱۹۶۹ ابراز داشتند که یکی از عوامل مؤثر در سازگاری ماهی به افزایش شوری محیط، کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) از طریق غیرفعال کردن گلومرولهای منفرد یا جمعی آنهاست. Holmes و Stainer در سال ۱۹۶۶ در بررسی نحوهٔ دفع الکترولیت‌ها از طریق کلیه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان دریافتند که کاهش تقریباً ۵۰ درصدی در میزان ادرار بچه ماهیان رهسپار شونده به دریا در مقایسه با مراحل قبل و بعد از آن دیده می‌شود. در مطالعه Potts و همکاران در سال ۱۹۷۰ و Colville و همکاران در سال ۱۹۸۳، به بررسی تنظیم املاح در بچه ماهیان اسمولت آزاد ماهیان پرداختند و به نتایجی نظیر کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی و دفع ادرار غلیظ و کم در هنگام تبدیل بچه ماهیان Parr به اسمولت (پیش از مهاجرت) دست یافتند که این موضوع سبب ایجاد آمادگی اولیه جهت زندگی در آب دریا می شود.

در میان اندامهای دخیل در تنظیم اسمزی، آبشش دارای نقش کلیدی در تعادل آب و املاح بدن می‌باشد. نقش عمده دفع یونهای تک ظرفیتی همانند سدیم و کلر بر عهده سلولهای کلراید آبششی است. در شرایط دریایی ماهیان سدیم را دفع و پتاسیم را جذب می‌کنند (Evans, 1998).

سلولهای کلراید آبشش ماهیان موجود در آب شیرین کوچکترند در حالیکه در محیط آب دریا بزرگتر می‌شوند و پس از انتقال به محیط آب دریا، از حالت نوع آب شیرین به سلولهای کلراید نوع آب دریا تغییر شکل می‌دهند. بطوریکه از وظیفه جذب یون به وظیفه ترشح یون تغییر حالت می‌دهند (Hiroi *et al.*, 1999).

مطالعه زمان تشکیل و تکمیل اندامهای مؤثر در تنظیم اسمزی می‌تواند زمان مناسب مهاجرت ماهی از رودخانه به دریا و در حقیقت اندازه مناسب رهاسازی بچه ماهیان آزاد دریای خزر یا پرورشی در محیطهای دریایی را مشخص نماید. این تحقیق علاوه بر کاربرد در رهاسازی، در پرورش ماهی آزاد دریای خزر در قفس و همچنین موضوع Sea ranching نیز می‌توان نتایج چنین مطالعاتی را بکار گرفت.

هدف از این تحقیق بررسی غلظت الکترولیت‌ها و روند تکاملی بافت کلیه و آبشش ماهی آزاد دریای خزر در شرایط زیستی و گروههای وزنی مختلف می‌باشد تا از این طریق بتوان نحوه تکمیل و عملکرد بافت کلیه در دفع یونهای دو ظرفیتی و نحوهٔ تغییرات سلولهای کلراید آبشش در مواجهه با شوری آب دریای خزر را تعیین کرد.

مواد و روش کار

در این تحقیق از بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) حاصل از تولید مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت از مولدین صید شده (نژاد پائیزه) در نزدیک دهانه رودخانه تنکابن استفاده شد. عملیات و اجرای تیمارها در ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (واقع در ساحل غازیان بندرانزلی) و مطالعات

magiran.com

بافت‌شناسی در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری طی سالهای ۸۴-۱۳۸۳ صورت گرفت. پس از حدود یک هفته از زمان تطابق با شرایط جدید، برای انجام عملیات تیمارداری، بچه ماهیان مستقیماً به وانهای ۱۰۰ لیتری شامل آب دریای خزر (۱۱ تا ۱۱/۵ قسمت در هزار) مجهز به سیستم هواده مرکزی انتقال یافتند. استفاده از وانهایی با این حجم توسط McCormick و Naiman در سال ۱۹۸۴ نیز گزارش شده است. بچه ماهیان تحت شرایط نور طبیعی قرار داشتند. با توجه به ۴ گروه وزنی بچه ماهیان و ۳ تکرار برای هر تیمار در مجموع از ۱۲ کرت آزمایشی استفاده گردید. تقسیم بچه ماهیان در تیمارها برای حصول زیتوده یکسان در هر وان بر مبنای ۵ گرم در لیتر صورت گرفت (Avella *et al.*, 1990).

آزمایشات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های آب با استفاده از روشهای استاندارد بطور مرتب و روزانه بشرح زیر انجام پذیرفت (ASTM, 1989).

پس از قرار گرفتن بچه ماهیان در کرتها در فواصل زمانی ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت، خونگیری از ساقه دمی بوسیله لوله‌های مویین هپارینه انجام شده و به ویال ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال یافت (Seidelin *et al.*, 2000). بعد از خونگیری، بچه ماهیان زیست‌سنجی شدند که طول با دقت ۱ میلیمتر و وزن با دقت ۰/۱ گرم ثبت گردید. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری، در سانتریفوژ یخچال‌دار ۵۵۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه قرار گرفتند (McCormick & Naiman, 1984) و به منظور سنجش غلظت الکترولیت‌ها نمونه‌ها در ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد شدند.

برای اندازه‌گیری یونهای Mg^{++} و Ca^{++} از دستگاه رایانه‌ای (TECNICON) RA-1000 استفاده شد. اندازه‌گیری مواد در این سیستم براساس روش رنگ‌سنجی بود و شدت جذب نوری با غلظت مواد رابطه مستقیم دارد (Seidelin *et al.*, 2000).

برای تثبیت نمونه‌های بافت کلیه و آبشش از محلول بوئن به مدت ۷۲ ساعت و پس از آن در اتانول ۷۰ درجه غوطه‌ور شدند.

برای تهیه مقاطع بافتی، نمونه‌ها از مراحل آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه شدن، قالب‌گیری، برش، رنگ‌آمیزی و مونته کردن عبور داده شدند (کاظمی و بهمنی، ۱۳۷۷). جهت تشخیص بهتر سلولهای مختلف کلیه از دو روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین و AZAN (آزوکارمن B) استفاده گردید.

پس از مراحل فوق‌الذکر، اسلایدهای بافتی با کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی ـ فیلمبرداری مطالعه شد و قطر متوسط لوله پروکسیمال، مساحت شبکه گلومرولی، تعداد و محیط سلولهای کلراید آبشش با کمک برنامه Biocom با ۱۱۶ و ۴۶/۴ بار بزرگنمایی سنجش گردید.

داده‌های حاصل از زیست‌سنجی ماهیان، غلظت یونها، زیست‌سنجی اجزاء نفرون و سلولهای کلراید با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت و در جداسازی گروههای همگن برحسب کلاسه‌های وزنی و مدت زمان قرارگیری از آزمون توکی استفاده شد. برای انجام این عملیات از نرم افزار SPSS و جهت ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

میانگین طول بچه ماهیان زیست‌سنجی شده در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی بترتیب ۰/۲±۸، ۰/۳±۹/۶، ۰/۳±۱۱/۲ و ۰/۰۳۷±۱۲/۳ سانتیمتر بود. میانگین طول بچه ماهیان زیست‌سنجی شده در گروههای وزنی مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). براساس تعیین سن انجام گرفته، متوسط سن بچه ماهیان ۵ گرمی 0^+ و بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی 1^+ بوده است. متوسط غلظت الکترولیت‌ها در آب دریای خزر در جدول ۱ آمده است. املاح سدیم و کلر بیشترین غلظت را در ترکیب دریای خزر دارند.

جدول ۱: میانگین غلظت الکترولیت‌ها در آب دریای خزر (میلی‌اکی‌والان در لیتر)

یون / تیمار	Cl^-	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Na^+	K^+
آب دریای خزر (۱۱ تا ۱۱/۵ قسمت در هزار)	۱۲۰±۰/۹	۹/۹±۰/۱	۱۰/۱±۰/۱۵	۱۳۰±۱	۲±۰/۰۱

magiran.com

تغییرات غلظت پلاسمایی کلسیم با توجه به ۴ گروه وزنی در رویارویی با شوری دریای خزر در نمودار ۱ آمده است. در بچه ماهیان ۵ گرمی، غلظت کلسیم پلاسما پس از طی نوساناتی (تقریباً افزایشی) در زمان ۲۴ ساعت با ۱۶/۸ درصد افزایش نسبت به سطح اولیه به بیشترین حد خود رسید. بدنبال آن روند نزولی طی شده و به سطح اولیه نزدیک شد. در بچه ماهیان ۱۰ گرمی غلظت کلسیم پلاسما، پس از افزایش ۱۲/۹ درصدی در زمان ۲۴ ساعت، سپس روند نزولی را طی نموده و در زمان ۲۴۰ ساعت ۲۳/۹ درصد نسبت به زمان صفر کاهش یافت. میزان کلسیم پلاسمای خون بچه ماهیان ۱۵ گرمی در زمانهای مختلف قرارگیری در آب دریای خزر اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

در بچه ماهیان ۲۰ گرمی، غلظت کلسیم پلاسما تا زمان ۷۲ ساعت روند افزایشی داشته (۲۴ درصد افزایش نسبت به گروه شاهد) و پس از ۲۴۰ ساعت میزان کلسیم به سطح اولیه نزدیک شد (حدود ۵ درصد بالاتر). نتایج حاصل از اندازه‌گیری یون منیزیوم در تیمارهای مختلف وزنی در مواجهه با شوری دریای خزر در نمودار ۲ آمده است.

پس از انتقال بچه ماهیان ۵ گرمی به آب دریای خزر، غلظت منیزیوم در تمامی فواصل زمانی بالاتر از سطح اولیه بود، بطوریکه حداکثر و حداقل این افزایش بترتیب ۳۲/۲ درصد (در زمان ۲۴ ساعت) و ۱۳/۴ درصد (در زمان ۳ ساعت) مشاهده گردید. پس از ۲۴۰ ساعت ماندگاری در آب دریا سطح یون منیزیوم به ۴/۲ میلی‌اکی والان در لیتر رسید که حدود ۳۱/۳ درصد در مقایسه با سطح اولیه رشد نشان می‌دهد. نتایج فوق‌الذکر حاکی از عدم نزدیک شدن سطح این یون به سطح اولیه را در این گروه وزنی نشان می‌دهد. اگر چه اختلاف معنی‌دار نیست ولی روند افزایشی است و نشاندهندهٔ عدم خروج کامل و تعادل این یون در پلاسمای خون می‌باشد.

در بچه ماهیان ۱۰ گرمی منیزیوم پلاسما پس از ۳ و ۶ ساعت در آب دریای خزر بترتیب ۳۸ درصد و ۱۹ درصد نسبت به سطح اولیه کاهش نشان می‌دهد. پس از آن تا ۲۴ ساعت روند صعودی بوده و پس از ۲۴۰ ساعت سطح این یون پایین‌تر از سطح اولیه قرار گرفت. بالاترین مقدار مربوط به ۲۴ ساعت بود.

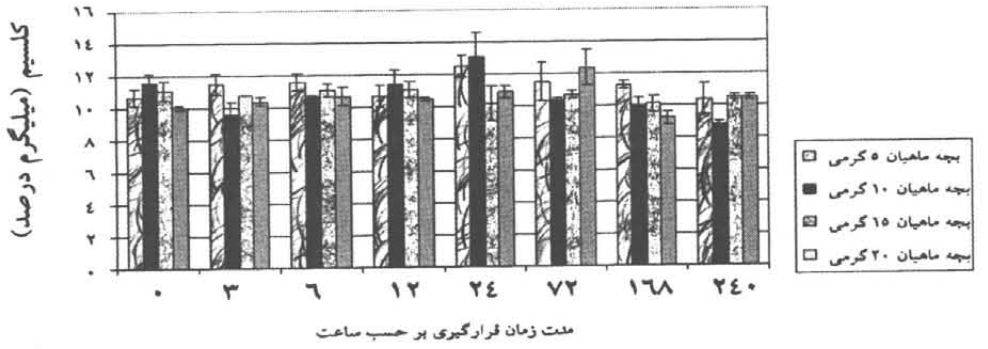
در بچه ماهیان ۱۵ گرمی، میزان یون منیزیوم پلاسما در تیمار آب دریای خزر در فواصل زمانی مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$).

میزان یون منیزیم پلاسمای خون بچه ماهیان ۲۰ گرمی که به مدت ۷۲ ساعت در معرض آب دریای خزر قرار گرفته بودند به بالاترین حد خود یعنی ۵/۱۳ میلی‌اکی والان در لیتر رسید که این میزان نسبت به سطح اولیه ۱/۷ برابر بالاتر است. پس از این زمان مقدار این یون روند کاهشی را طی نموده بطوریکه پس از ۲۴۰ ساعت سطح این یون به سطح آب شیرین نزدیک گشته است (۱۰/۵درصد کمتر از سطح اولیه). با انتقال بچه ماهیان به آب دریای خزر، پس از ۷۲ ساعت از زمان ماندگاری تغییرات فاحشی در سطح شبکه گلومرولی رخ داد که این کاهش مربوط به تمامی گروههای وزنی می‌باشد. آنالیز تجزیه واریانس نیز موضوع فوق را به اثبات می‌رساند ($P<0/05$) (نمودار ۳).

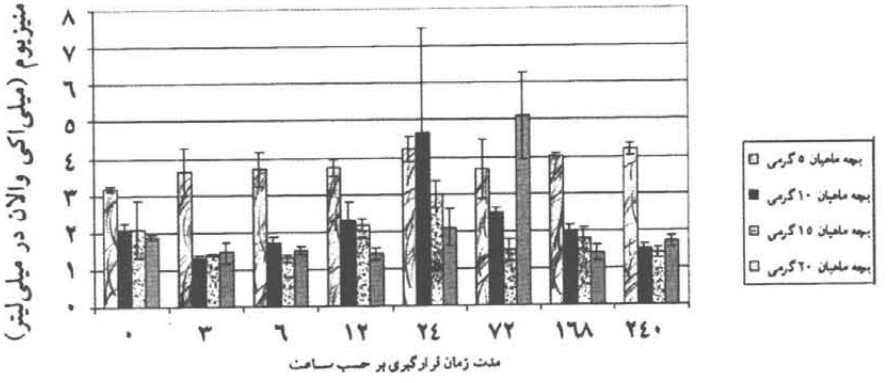
از مجموع مطالب فوق چنین استنباط می‌شود که سطح شبکه گلومرولی تمامی گروههای وزنی در محیط آب دریای خزر کاهش یافته است و با این عمل میزان تصفیه گلومرولی جهت تنظیم آب و املاح داخلی بدن ماهی تقلیل می‌یابد.

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه نشان داد که این شاخص در همه گروههای وزنی در آب دریای خزر کاهش یافته ($P<0/05$) و این کاهش در گروه ۵ گرمی کمتر بوده و پس از ۳ روز از زمان انتقال به حدود ۱۱۰۰ میکرومترمربع رسیده است. اختلاف سطح شبکه گلومرولی زمان ۷۲ ساعت نسبت به زمان صفر در گروههای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی بترتیب ۵۰۰، ۱۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۳۰۰ میکرومترمربع محاسبه گردید.

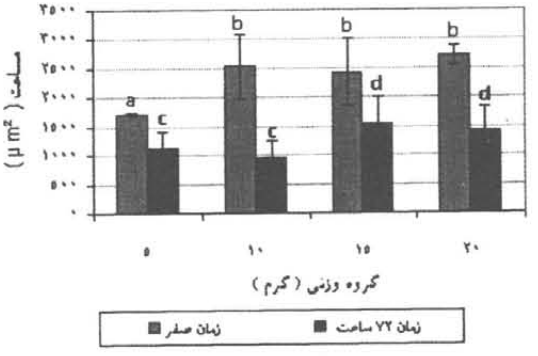
magiran.com



نمودار ۱: روند تغییرات یون کلسیم پلاسمای خون بچه ماهیان آزاد دریای خزر در مواجهه با شوری دریای خزر (۱۱/۵-۱۱ در هزار)



نمودار ۲: روند تغییرات یون منیزیوم پلاسمای خون بچه ماهیان آزاد دریای خزر در مواجهه با شوری دریای خزر (۱۱/۵- ۱۱ قسمت در هزار)



نمودار ۳ : مقایسه مساحت شبکه کلومرولی بچه ماهیان ازاد دریای خزر در زمان صفر و پس از ۷۲ ساعت قرارگیری در آب دریای خزر

magiran.com

در بچه ماهیان ۵ گرمی، متوسط قطر لوله پروکسیمال کلیه پس از ۷ روز قرارگیری بچه ماهیان در محیط آب دریای خزر نسبت به زمان صفر افزایش یافته و این افزایش حاکی از عدم توسعه کامل این بافت در مواجهه با شوری محیط می‌باشد.

براساس آنالیز واریانس یکطرفه، تفاوت معنی‌داری در میانگین قطر پروکسیمال بچه ماهیان ۱۰ گرمی در زمانهای مختلف قرارگیری در آب دریا ($P<0.05$) مشاهده نشد. در بچه ماهیان ۱۵ گرمی در تیمار آب دریای خزر، دو نقطه افزایشی در دو زمان ۳ و ۷۲ ساعت مشاهده می‌شود ولی سطح افزایشی در زمان ۷۲ ساعت بالاتر بوده است. تفاوت معنی‌داری بین میانگین قطر لوله در گروه ۷۲ ساعته با دو گروه شاهد و ۱۶۸ ساعته مشاهده می‌شود. در سایر گروهها تفاوت وجود ندارد ($P>0.05$). براساس آنالیز واریانس یکطرفه، تفاوت معنی‌داری در میانگین قطر پروکسیمال در زمانهای مختلف قرارگیری بچه ماهیان ۲۰ گرمی در آب دریا ($P<0.05$) مشاهده نشد (جدول ۲).

پس از انتقال بچه ماهیان ۵ گرمی از محیط آب شیرین به آب دریای خزر و آب ۷ در هزار تفاوت معنی‌داری از نظر متوسط محیط سلولهای کلراید مشاهده نشد ($P>0.05$)، ولی در سایر گروههای وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی تفاوت معنی‌داری بین اندازه سلولهای کلراید در زمانهای مختلف ماندگاری در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر با مقدار این شاخص در زمان صفر (به استثناء ماندگاری ۱۲ ساعته در آب ۷ در هزار) مشاهده می‌شود ($P<0.05$)، که نشاندهندهٔ سازش پذیری سلولهای کلراید جهت افزایش حجم تبادلات یونی برای نیل به تنظیم املاح داخلی بدن می‌باشد. ولی در بچه ماهیان ۵ گرمی چنین تغییراتی مشاهده نشد (جدول ۳).

پس از ۱۶۸ ساعت قرارگیری گروههای وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در آب دریای خزر، تعداد سلولهای کلراید آبششی افزایش معنی‌داری نسبت به زمان صفر نشان دادند ($P<0.05$)، ولی این افزایش در گروه ۵ گرمی مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۲: میانگین قطر لوله پروکسیمال بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال به آب دریای خزر با شوری ۱۱ تا ۱۱/۵ قسمت در هزار (به میکرومتر)

گروه وزنی	تیمار شوری	ساعت صفر	ساعت ۳	ساعت ۱۲	ساعت ۷۲	ساعت ۱۶۸
۵ گرمی	آب دریای خزر	۳۷/۸±۴/۹	۳۷/۴±۳/۱	۳۷/۷±۲/۷	۳۴/۳±۳/۸	۴۱/۳±۹/۱
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	۳۳/۴±۳/۹	۴۱±۰/۹	۳۳/۷±۷/۵	۳۴/۹±۹/۹	۳۳±۳/۱
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	$۳۶/۵±۷/۳^{a}$	$۴۱/۵±۷/۲^{ab}$	$۳۶/۵±۴/۴^{ab}$	$۴۲/۳±۷/۵^{b}$	$۳۳/۴±۲/۱^{a}$
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	۳۴±۵/۹	۳۹/۲±۸/۱	۳۷/۳±۵/۳	۳۶/۶±۷/۷	۳۶/۲±۶/۱

در سطرهای حروف گذاری نشده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها وجود ندارد. ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. تفاوت معنی‌دار داده‌ها در مقاطع زمانی مختلف به تفکیک گروه وزنی و سطح شوری ذکر شده است ($P<0.05$).

جدول ۳: محیط سلولهای کلراید آبشش بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال به تیمار آب دریای خزر (میکرو مترمکعب)

گروه وزنی	تیمار	ساعت صفر	ساعت ۱۲	ساعت ۷۲	ساعت ۱۶۸
۵ گرمی	آب دریای خزر	۳۲/۶±۳/۴	۳۴±۸/۳	۲۵/۹±۲/۳	۳۳/۵±۵/۲
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	$۳۴/۵±۴/۵^{a}$	$۵۰/۵±۷/۷^{b}$	$۴۱±۹^{b}$	$۵۰±۷^{b}$
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	$۳۸/۸±۵/۲^{a}$	$۳۹/۶±۴/۲^{a}$	$۴۸/۷±۵/۵^{b}$	$۴۷±۶/۸^{b}$
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	$۳۷/۵±۴/۲^{a}$	$۵۱/۵±۱۴^{b}$	$۴۶±۷/۲^{b}$	$۴۷/۳±۶/۶^{b}$

در سطرهای حروف گذاری نشده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها وجود ندارد. تفاوت معنی‌دار داده‌ها در مقاطع زمانی مختلف به تفکیک گروه وزنی و سطح شوری ذکر شده است ($P<0.05$).

magiran.com

جدول ٤: جدول مقایسه میانگین (آزمون Tukey) تعداد سلولهای کلراید آبشش (بین دو لاملای آبششی) بچه ماهیان آزاد خزر در گروه شاهد (زمان صفر) و ١٦٨ ساعت پس از شروع آزمایش

سطح شوری / تیمار	آب دریای خزر
بچه ماهیان ٥ گرمی- زمان صفر	١/٥±٠/٥^{b}
بچه ماهیان ٥ گرمی- زمان ١٦٨ساعت	١/٤±٠/٣^{b}
بچه ماهیان ١٠ گرمی- زمان صفر	٤/٥±٠/٥٧^{cd}
بچه ماهیان ١٠ گرمی- زمان ١٦٨ساعت	٧±٠/٥^{a}
بچه ماهیان ١٥ گرمی- زمان صفر	٣±١^{bc}
بچه ماهیان ١٥ گرمی- زمان ١٦٨ساعت	٦±٠/٧^{ad}
بچه ماهیان ٢٠ گرمی- زمان صفر	٣±٠/٦^{bc}
بچه ماهیان ٢٠ گرمی- زمان ١٦٨ساعت	٧±٠/٨^{a}

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P>0.05$).

بحث

یکی از راههای افزایش ضریب بقای بچه ماهیان بخصوص در مورد گونه‌های آزاد ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیک می‌باشد. McCormick و Naiman در سال ١٩٨٤، بر افزایش وزن بچه آزاد ماهیان جهت بهره‌برداری بیشتر از دریا تأکید دارند و این موضوع را بدلیل توانایی تنظیم اسمزی بچه ماهیان توسعه یافته‌تر ضروری می‌داند. بنابراین رشد سریعتر و سازگاری زودتر بچه ماهیان به آب دریا بلحاظ اقتصادی با اهمیت بوده و به منظور برگشت به چراگاه طبیعی (Sea ranching) و پرورش دریایی می‌تواند مفید واقع شود.

در این تحقیق پاسخ‌های فیزیولوژیک بچه ماهیان آزاد خزر به افزایش شوری محیط در چهار گروه وزنی ٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ گرمی که هر گروه بواسطه همبستگی مستقیم وزن و طول معرف اندازه مشخصی نیز می‌باشد، مطالعه شد. پاسخهای بررسی شده شامل تغییرات غلظت یونهای منیزیوم و کلسیم پلاسمای خون و تغییرات بافتی کلیه و آبشش بود که نشاندهندهٔ عملکرد کلیه و آبشش شوری‌های مختلف محیط است.

در بررسی روند تغییرات یونهای کلسیم و منیزیوم، در مرحله اول که حدود یک روز یا بیشتر ادامه دارد، اثر قرارگیری در شرایط استرسی آزمایش مشاهده می‌شود. چنین نوساناتی را در اغلب داده‌ها که نشاندهندهٔ کاهش غلظت یونها در ساعات اول است می‌توان مشاهده نمود. پس از پایان یافتن دوره چند ساعتی استرس، گرایش به افزایش غلظت یونها در بچه ماهیان قرار گرفته در آب خزر آغاز شده و این روند تا بیش از ٧٢ ساعت ادامه می‌یابد که آنرا می‌توان با شدتهای متفاوت در نتایج سنجش کلسیم مشاهده نمود. این روند مورد انتظار بوده و در همه گروههای وزنی دیده می‌شود.

براساس مطالعات McComick در سال ٢٠٠١، در جریان تغییر شوری محیط، طی ۴ روز اول بیشترین تغییرات در مقادیر یونهای پلاسما و فشار اسمزی ایجاد می‌گردد. بنابراین، اندازه‌گیری متغیرهای پلاسمای خون ماهیان پس از ۴ روز در آب دریا بعنوان یک شاخص توانایی تنظیم در محیط دریایی (Hypoosmoregulation) مطرح است.

بعد از انتقال بچه ماهیان آزاد خزر از آب شیرین به آب لب شور، مقادیر یونهای منیزیوم و کلسیم خون آنها پایین‌تر از محیط لب شور خزر (١٠ میلی اکی والان در لیتر) بود.

با انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به آب دریا، تغییرات یون

magiran.com

منیزیوم در مقابل نوسانات یونهایی مانند سدیم و کلر کمتر است و اسمولاریته منیزیم کمتر از ۱ درصد کل اسمولاریته پلاسما را شامل می‌شود (McCormick & Naiman, 1984).

براساس مطالعات Krayushkina (۲۰۰۵)، گونه‌هایی که پس از انتقال از آب شیرین به آب لب شور، غلظت یونها و اسمولاریته پلاسمای خون آنها به پایین‌تر از مقادیر این پارامترها در محیط برسد قادرند از حالت تنظیمی Hyperosmotic به حالت Hypoosmotic در آیند.

در جمع‌بندی کلی نتایج سنجش یونها در روز دهمِ تیمارها، می‌توان قابلیت تنظیم یونی بچه ماهیان ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی را در شوری دریای خزر و عدم تنظیم در گروه ۵ گرمی را تأیید نمود.

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه در بچه آزاد ماهیان دریای خزر نشان داد که این شاخص در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی طی سه روز از زمان انتقال به آب دریای خزر کاهش می‌یابد. این کاهش سطح، حاکی از کاهش تصفیه آب جهت تنظیم آب و املاح داخلی بدن ماهی می‌باشد. بیشترین کاهش سطح شبکه گلومرولی همزمان با تغییر شوری محیط در بچه ماهیان ۱۰ گرمی بوقوع پیوسته، ضمن آنکه کاهش سطح گلومرول در گروههای وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی (در آب دریای خزر) نیز قابل توجه است.

بسیاری از گونه‌ها با ایجاد تغییراتی در وظایف کلیه نسبت به محیط شورتر پاسخ می‌دهند. میزان تصفیه گلومرولی به شدت تقلیل می‌یابد و معمولاً باز جذب لوله‌ای افزایش می‌یابد. جریان ادرار به ۱۰ درصد مقدار آن در آب شیرین تقلیل می‌یابد. ماهیان دریایی که آب را بغیر از کلیه، از طریق دیگر نیز از دست می‌دهند نسبت به ماهیان آب شیرین از گلومرولهای کوچکتر و کمتری برخوردارند (ستاری، ۱۳۸۱).

Holmes و Stainer در سال ۱۹۶۶ دریافتند که کاهش حدود ۵۰ درصدی در میزان ادرار بچه ماهیان در حال مهاجرت به دریا در مورد گونه قزل‌آلای رنگین کمان رخ داده و این موضوع کاهش ۵۰ درصدی میزان فیلتراسیون گلومرولی را در این گونه بچه ماهیان نشان می‌دهد. این رخداد تغییر اساسی در ساختار کلیه در خلال دوره تبدیل بچه ماهی Parr به اسمولت را پیش از انجام مهاجرت به دریا بیان می‌دارد که زمینه‌ساز سازگاری مناسب در دریاست.

براساس مطالعات Ford در سال ۱۹۵۸، تعداد گلومرول ماهی آزاد صورتی در محیطهای دریایی کاهش می‌یابد. در بعضی از آزاد ماهیان دریایی تعداد و اندازه گلومرول کاهش یافته و در برخی موارد گلومرول‌ها در کلیه ناپدید می‌شوند. علاوه بر تأثیر شوری، اثر اندازه بچه ماهیان بر مساحت شبکه گلومرولی نیز در این تحقیق مشاهده گردید. طبق نتایج، مساحت شبکه گلومرولی با افزایش اندازه بچه ماهیان رابطه مستقیم دارد. این افزایش سطح شبکه گلومرولی با افزایش اندازه حاکی از رشد و توسعه اندامهای دخیل در تنظیم اسمزی بوده بطوریکه کارآیی این سیستم را ارتقاء می‌بخشد. Hickmann در سال ۱۹۵۹ نیز در مطالعه گونه‌ای از کفشک ماهیان توسعه اندامهای مؤثر در تنظیم اسمزی از جمله کلیه با افزایش وزن را گزارش نموده است. تاکنون افزایش سطح شبکه گلومرولی با افزایش وزن در گونه‌های آزاد ماهیان بطور مشخص مشاهده نشده است.

علاوه بر مکانیزم کلیویِ فیلتراسیون گلومرولی، باز جذب لوله‌ای نیز در تنظیم کلیوی فشار اسمزی نقش دارد. در ماهیان آب شیرین میزان فیلتراسیون گلومرولی بالا و باز جذب لوله‌ای پایین بوده در حالیکه در دریا میزان فیلتراسیون گلومرولی به شکل قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و میزان باز جذب لوله‌ای افزایش می‌یابد (Hoar, 1988).

در لوله دیستال قسمت عمده کلسیم، سدیم و آمونیاک حذف می‌شود و در لوله پروکسیمال تبادلات یونی و باز جذب اتفاق می‌افتد (ستاری، ۱۳۸۱).

جمع‌بندی نتایج مطالعه غلظت یونهای کلسیم و منیزیوم پلاسما و وضعیت نفرون در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی ماهی آزاد در مواجهه با شوری نواحی ساحلی خزر نشان می‌دهد که شاخصهای یاد شده با قابلیتهای متفاوت، می‌توانند توان ماهی را برای تنظیم اسمزی ارزیابی کنند.

مطالعاتی که Laurent و Hebebi (۱۹۸۹) روی تنظیم فشار اسمزی ماهیان انجام دادند، نشان می‌دهد که تعداد یا اندازه

magiran.com

سلولهای کلراید بین لاملایی در هنگام سازگاری ماهیان استخوانی یوری هالین افزایش می‌یابد. Boeuf (۱۹۹۳) بیان داشت که هنگام تبدیل بچه ماهی از مرحله Parr به مرحله اسمولت، افزایش تعداد و اندازه سلولهای کلراید آبششی جهت آماده‌سازی اولیه برای زندگی در دریا لازم است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اندازه سلولهای کلراید آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی در مدت زمانهای مختلف قرارگیری در آب دریا اختلاف معنی‌داری را با زمان صفر نشان نمی‌دهند و تقریباً در یک سطح قرار دارند ($P>0/05$). ولی این پارامتر در مورد گروههای وزنی ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ گرمی با افزایش همراه بوده است که افزایش اندازه سلولها در مقایسه با زمان صفر اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. ضمن آنکه اندازه سلولهای کلراید دو گروه وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی در مقایسه با گروه وزنی ۱۰ گرمی به هنگام قرارگیری در آب صفر اندکی بیشتر بوده است.

بررسی تعداد و تغییرات تعداد سلولهای کلراید در بین تیغه‌های ثانویه آبشش، افزایش تعداد این سلولها پس از یک هفته در تیمار آب دریای خزر برای گروه وزنی ۵ گرمی را نشان نداد. نبودن تغییر در تعداد این سلولها در این گروه وزنی بیانگر عدم تطابق کافی در برابر شوری است. در گروههای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی افزایش در تعداد سلولهای کلراید از روز صفر تا پایان یک هفته قرارگیری در آب دریای خزر مشاهده گردید ($P<0/05$).

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط شوری دریای خزر، ماهی آزاد از حدود ۱۰ گرم قابلیت رشد و بقا دارد و می‌تواند دستگاههای بدن را تنظیم نماید. افزایش اندازه در این جهت اثر مثبتی نشان می‌دهد. رهاسازی ماهی آزاد در وزن یاد شده و اندازه متناظر با آن امکانپذیر است. بنابراین بچه ماهیان ۵ گرمی توانایی تنظیم اسمزی مناسبی در محیط آب دریای خزر را ندارند ولی بچه ماهیان با وزن بالای ۱۰ گرم (ترجیحاً ۱۵ و ۲۰ گرمی) قابلیت تحمل آب دریا و توانایی تنظیم اسمزی دریایی را دارند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران و معاونین ایشان، ریاست محترم پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور و معاونین ایشان، جناب آقای دکتر محمد پورکاظمی ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و معاونین ایشان، مهندس رضوان ا... کاظمی و پرسنل بخش فیزیولوژی انستیتو، پرسنل ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (ساحل غازیان)، پرسنل بخش آبزی‌پروری پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی کشور، ریاست و کارکنان مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت و گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به جهت همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

ستاری، م. ، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (تشریح و فیزیولوژی). انتشارات نقش مهر. صفحات ۳۰۹ تا ۳۳۲.

صیادبورانی، م. ، ۱۳۸۷. تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی آزاد دریای خزر از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی. وزارت جهاد کشاورزی. ۵۴ صفحه.

غنی‌نژاد، د. ؛ مقیم، م. ؛ عبدالملکی، ش. و صیاد بورانی، م. ، ۱۳۸۱. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۷۹-۸۰. پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور. بندرانزلی . ۹۸ صفحه.

کازانچف، ا. ان. ، ۱۹۸۱. ماهیان دریای خزر و حوزه آبریز آن. مترجم: ابوالقاسم شریعتی، ۱۳۷۱. وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی. صفحات ۶۳ تا ۶۶ .

کاظمی، ر. و بهمنی، م. ، ۱۳۷۷. دستورالعمل تهیه و رنگ آمیزی بافتها برای مطالعات بافت‌شناسی. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۱۶ صفحه.

ASTM (American Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater), 1989. American Public Health Association, Washington D.C., USA. Chapters 3 & 4, 222P.

magiran.com

Avella M., Young G., Prunet P. and Schreck C.B., 1990. Plasma prolactin and cortisol concentrations during salinity challenges of coho salmon *(Oncorhynchus kisutch)* at smolt and post-smolt stages. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. Aquaculture, pp.359–372.

Boeuf G., 1993. Salmonid smolting: A pre-adaptation to the oceanic environment. Fish Ecophysiology. (eds. J.C. Rankin & F.B. Jensen), Chapman & Hall, London, UK. 221P.

Cleveland P., Hickmann C.P. and Trump B.F., 1969. The kidney. Fish Physiology. (eds. W.S. Hoar & D.J. Randal), Academic Press Inc, New York, USA. 1:91-239.

Colville T.P., Richards R.H. and Dobbie J.W., 1983. Variations in renal corpuscular morphology with adaptation to sea water in the rainbow trout, *Salmo gairdneri.* Journal of Fish Biology, 23:451-546.

Evans D.H., 1998. The physiology of fishes. CRC Press, New York, USA. 519P.

Ford P., 1958. Studies on the development of the kidney of the Pacific pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha.* Canadian Journal of Zoology, 36:45-47.

Hickmann C.P., 1959. The osmoregulatory role of the thyroid gland in the starvy flounder, *Platichthyes stellatus.* Canadian Journal of Zoology, 37:997-1060.

Hiroi J., Kaneko T. and Tanaka M., 1999. In vivo sequential changes in chloride cell morphology in the yolk-sac membrane of Mozambique tilapia embryos and larvae during seawater adaptation. Journal of Experimental Biology, 202:3485-3495.

Hoar W.S., 1988. The physiology of smolting salmonids. Fish Physiology. Academic Press, New York, USA. 11B:275-343.

Holmes W.N. and Stainer M.I., 1966. Studies on the renal excretion of electrolytes by the trout *Salmo gairdneri.* Journal of Experimental Biology, 44:33-46.

Krayushkina L.S., 2005. Evolution of mechanisms of osmotic and ionic regulation in a number of Acipenserids. 5th International Symposium on Sturgeon, Iran. pp.179-182.

Krayushkina L.S., Stepanov Y.I., Semenova O.G. and Panov A.A., 1995. Osmoregulatory system of Juvenile *Oncorhynchus gorbuscha* in river and marine life. Journal of Icthyology, Vol. 35, No. 7, pp.143-152.

Laurent P. and Hebebi N., 1989. Gill morpho-metry and fish osmoregulation. Canadian Journal of Zoology, 67:3055-3063.

McCormick S.D., 2001. Endocrine control of osmoregulation in Teleost Fish. American Zoology, 41:781-794.

McCormik S.D. and Naiman R.J., 1984. Osmoreglation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis* .2. Effects of size, age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation. Comparative Biochemical Physiology, -A. Vol. 79A, No. 1, pp.17-28.

Potts W.T.W., Foster M.A. and Stather J.W., 1970. Salt & water balance in salmon smolts.

magiran.com

Journal of Experimental Biology, 52:553-564.

Seidelin M., Madsen S., Blenstrup H. and Tipsmark C., 2000. Time-course changes in the expression of Na^+, K^+-ATPase in gills and pyloric caeca of Brown trout (*Salmo trutta*) during acclimation to seawater. Physiological and Biochemical Zoology, University of Chicago. pp.446-453.

Zaugg W.S. and Beckman B.R., 1989. Saltwater-induced decreases in weight and length relative to seasonal gill Na^+, K^+-ATPase changes in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): A test for saltwater adaptability. Aquaculture, 86:19-23.

magiran.com

Study of kidney and gill function in *Salmo trutta caspius* fingerlings after move to the Caspian Sea

Sayyad Bourani M.[1]*; Abtahi B.[2]; Bahmani M.[3]; Hallajian A.[4]; Yousefi A.[5] and Amiri A.[6]

1,6- Inland Waters Aquaculture Center, P.O.Box: 66 Bandar Anzali, Iran

2- Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, P.O.Box: 198396-3113 Tehran, Iran

3,4 & 5- International Sturgeon Research Institute, P.O.Box: 41635-3464 Rasht, Iran

Received: November 2007 Accepted: February 2009

Keywords: *Salmo trutta caspius*, Glomeruli, Proximal, Chloride Cell, Caspian Sea, Iran

Abstract

Caspian trout (*Salmo trutta caspius*) is an anadromous and valuable fish species in the Caspian Sea. Electrolytes concentration (Mg^{2+} and Ca^{2+}) and kidney and gill development trend were studied in different weight groups. Specimens in 4 weight groups 5, 10, 15 and 20g. Each trial was done in 3 replicates.

The observation of kidney glomeruli in histological sections showed that the diameter of glomeruli in all weight groups in Caspian water decreased after 72h adaptation period ($P<0.05$). The decrease in 5 g fish was less than the other weight groups (reached 1100μm in 72h). Difference of glomeruli in 5, 10, 15 and 20g groups after 72h of move to the Caspian water in comparison with time of zero was calculated at 500, 1600, 900 and 1300μm^2, respectively.

The results showed that mean diameter of proximal tube in 5, 10, 15 and 20g in time zero was 37.8±4.9, 33.4±3.9, 36.5±7.3, 34±5.9μm, respectively and this parameter reached 41.3±9.1, 33±3.1, 33.4±2.1 and 36.2±6.1 μm after 168 hours of exposure to Caspian Sea water. Hence, in 5g group, this parameter increased over 168h.

After transferring 5g juveniles to the Caspian Sea water, Mg^{2+} concentration in all times was higher than time zero, and then reached 4.2meq/l after 240h of exposure to the Caspian Sea water. The results show that 5g weight group is not able to balance electrolytes such as Mg^{2+} completely.

The number and size of gill chloride cells in 5g juveniles did not change in Caspian Sea water treatment ($P>0.05$), although in other groups (10, 15 and 20g) a significant increase in chloride cell's number and size was detected. The number of chloride cells on gill's secondary lamellas varied between 3 to 7 (in two gills lamellas).

* Corresponding author: mohammadborani@yahoo.com