

اثرات شوری بر بعضی از فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما و بافت روده ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*)

صغری اشرف^۱، عبدالرحیم پذیرا^{۱*}، محمود نفیسی بهابادی^۲

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، بوشهر، ایران، صندوق پستی: ۷۵۱۹۶۱۹۵۵

۲- گروه شیلات، دانشگاه خلیج فارس، پژوهشکده خلیج فارس، بوشهر، ایران، صندوق پستی: ۷۵۱۶۹۱۳۸۱۷

تاریخ دریافت: ۲۸ تیر ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۱۵ آذر ۱۳۹۵

چکیده

تأثیر سطوح شوری‌های مختلف آب (۱۵، ۳۵، ۵۰) گرم در لیتر و آب شیرین روی پارامترهای خونی و بافت روده ماهیان سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) به مدت ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرحی کاملاً تصادفی با ۴ تیمار مختلف (۱۵، ۳۵، ۵۰) گرم در لیتر شوری و آب شیرین (شاهد) و هر تیمار با ۳ تکرار و برای هر تکرار ۱۵ قطعه بچه ماهی با وزن اولیه ۳۲ گرم در نظر گرفته شد. در این تحقیق برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون (سدیم، پتاسیم، کلراید، اسمولاریته) در پایان دوره آزمایش مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی خون حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود ($P > 0.05$). در این تحقیق نتایج بافت روده ماهی سی‌باس آسیایی نشان داد که ساختار ویلی‌ها و آنتروسیت‌های بافت روده کاملاً طبیعی بوده و در محل قرارگیری هسته سلول‌های گوارشی نیز در تصاویر مختلف تفاوت چندانی مشاهده نشد. در تصاویر ارائه شده از تیمارهای مختلف ضایعات بافت‌شناسی دیده نشد. ساختار لایه‌های مخاطی، عضلانی و سروز و همچنین سلول‌های موکوس روده‌ای عادی و تغییرات چندانی را نشان نداد. عدم وجود اختلافات معنی‌دار در نتایج نشان می‌دهد که این ماهی یک گونه مقاوم نسبت به شوری بوده و محیط‌های هایپرهلین را تحمل می‌کند.

کلمات کلیدی: ماهی سی‌باس آسیایی، شوری، فاکتورهای بیوشیمیایی، پلاسما، بافت روده.

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان، تقاضا برای غذاهای دریایی افزایش یافته و به نظر می‌رسد که در آینده سهم زیادی از این تقاضا از طریق آبرزی پروری تأمین شود (FAO, 2012). از طرف دیگر با توجه به آلودگی دریاها و منابع آبی، از بین رفتن زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، ورود فاضلاب‌های شهری به آب رودخانه‌ها و دریاها، حضور صیادان سودجو و روش‌های صید نامناسب بقاء نسل برخی گونه‌های آبریان نظیر ماهیان دریایی که از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار می‌باشند را به خطر انداخته است. در سال‌های اخیر به دلیل کاهش ذخایر دریاها، صنعت آبرزی پروری رونق یافته و در این میان پرورش ماهیان دریایی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Sarvi et al., 2006).

ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) متعلق به خانواده (Latidae)، از بهترین ماهیان دریایی پرورشی دنیا به شمار می‌رود. این ماهی آنادروموس بوده و قابلیت سازگاری در هر دو محیط آب شور و شیرین را دارد (Paterson et al., 2003). رشد سریع، تکثیر آسان، تحمل شوری بالا، توانایی در پذیرش غذای فرموله و قابلیت پرورش در استخرهای خاکی و قفس از مهمترین ویژگی‌های این ماهی است (Allen et al., 2002). در پرورش این ماهی در استخرهای خاکی از غذاهای پلت و در پرورش در قفس تا ۷۰٪ از ضایعات ماهی استفاده می‌شود. وزن ایده‌آل این گونه در حدود ۶۰۰ تا ۷۰۰ گرم برای هر قطعه است (Anil et al., 2010). عمده پراکنش این ماهی در بسیاری از مناطق حاره و نیمه‌حاره، اقیانوس هند، اطلس، شمال

استرالیا و جنوب شرقی آسیا می‌باشد (Whitehead, 1984).

شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر رشد و ماندگاری ماهیان می‌باشد که این عمل از طریق تنظیم فشار مایعات بدن صورت می‌گیرد. اگرچه به طور عمده اکثر ماهیان قادرند تغییرات کم شوری را تحمل کنند ولی بعضی از ماهیان مقاوم به شوری از جمله ماهی سی‌باس آسیایی توانایی سازگاری با شوری‌های مختلف را دارند. شوری عمده‌ترین عامل محیطی است که می‌تواند روی روند تنظیم اسمزی در ماهیان اثر بگذارد، اما سیستم اسمزی در ماهیان نمی‌تواند فقط وابسته به شوری باشد. مهاجرت ماهیان بین دو محیط متفاوت از نظر شوری نیازمند مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌باشد. در ماهیان استخوانی سطوح یونی خارج سلولی و تنظیم اسمتیک قبل از هر چیز توسط آبشش‌ها، روده و کلیه‌ها کنترل می‌گردد (ستاری، ۱۳۸۱). با توجه به اینکه فشار اسمزی مایعات بدن در شوری پایین تقریباً با فشار اسمزی محیط برابر است، موجود در این محیط انرژی کم‌تری را صرف تنظیم اسمزی می‌نماید و در نتیجه میزان انرژی بیش‌تری صرف رشد ماهی می‌شود. درصد بقاء و بازماندگی گونه‌های زیادی از ماهیان ممکن است در شوری‌های پایین بهتر باشد (Likongwe et al., 1996).

یکی از روش‌های بررسی خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان تعیین فاکتورهای خونی است که نسبت به روش‌های دیگر ساده‌تر و کم هزینه‌تر می‌باشد. با توجه به اینکه هر گونه ماهی فاکتورهای خونی ویژه‌ای دارد بررسی جداگانه ماهیان می‌تواند اطلاعات دقیقی از خصوصیات فیزیولوژیک آن گونه خاص را مشخص نماید. علاوه بر این، این نوع

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ به منظور بررسی اثرات تیمارهای شوری بر عملکرد بافت روده و همچنین فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی سی‌باس آسیایی در چهار تیمار (تیمار اول: آب شیرین، تیمار دوم: شوری ۱۵ گرم در لیتر، تیمار سوم: شوری ۳۵ گرم در لیتر و تیمار چهارم: شوری ۵۰ گرم در لیتر به عنوان تیمار شاهد) با سه تکرار در نظر گرفته شد که به مدت ۳۰ روز در طول دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. ماهیان سی‌باس آسیایی مورد نیاز با وزن متوسط ۳۲ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش راموز واقع در استان بوشهر تهیه و پس از حمل و عادت‌پذیری به مدت ۱۴ روز به تعداد ۱۵ قطعه به هر یک از تانک‌ها معرفی شدند. محل اجرای این تحقیق ایستگاه ماهیان دریایی پژوهشکده دانشگاه خلیج فارس بوشهر بود. محل نگهداری ماهی‌ها ۱۲ تانک پلی‌اتیلن با قطر ۶۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر با حجم آبگیری ۲۰۰ لیتر بود. تانک‌ها در ۳ ردیف ۴ تایی مستقر و به منظور جلوگیری از تبادل حرارتی، محیط استقرار تانک‌ها درون سوله قرار داشت و با پلاستیک پوشانده و حالت گلخانه‌ای ایجاد شد (Nafisi Bahabadi and Soltani, 2008). ماهی‌های مربوط به هر یک از تیمارهای شوری و تکرارهای مربوط به هر تیمار با توزیع کاملاً تصادفی در تانک‌ها قرار گرفتند.

تامین آب مورد نیاز

برای تأمین منبع آب شور مورد نیاز تحقیق از آب خلیج فارس استفاده گردید. برای تأمین آب شیرین از آب یک حلقه چاه موجود در محل انجام تحقیق

پارامترها می‌تواند با تغییرات محیط زیستی دستخوش تغییر گردند (رحیمی‌بشر و همکاران، ۱۳۸۶). تغییرات فاکتورهای خونی همراه با تغییر فاکتورهای محیطی امری غیر قابل انکار است و در ماهیان به دلیل خونسرد بودن آن‌ها این امر به وضوح دیده می‌شود (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۱). تغییر در پارامترهای بیوشیمیایی از جمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. به طور کلی بخشی از پاسخ‌های مختلف به شوری وابسته به تفاوت‌های خاص هر گونه در ویژگی‌های گلبول‌های قرمز خون است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۱) که می‌تواند اثر خود را به صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و همچنین تغییر میزان همتوکریت نشان دهد (روضاتی و همکاران، ۱۳۹۲).

بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی ابزاری را جهت تسهیل مدیریت سلامت ماهی فراهم کرده است که می‌تواند در بررسی اثرات استرس مورد استفاده قرار گیرد به عنوان مثال تغییرات محیطی مانند شوری و دما هم بر غلظت یون‌ها و هم بر تعداد سلول‌های خون موثر است (Chen et al., 2004). اثر تغییرات فاکتورهای محیطی بر شاخص‌های خونی ممکن است در یک محدوده به صورت افزایشی و در محدوده دیگر به صورت کاهشی باشد که این وضعیت به محدوده‌های اپتیمم هر ماهی و ویژگی‌های تطابقی آن بستگی دارد (Morgan and Iwama, 1991). بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثرات شوری بر بعضی فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما (سدیم، پتاسیم، کلراید، اسمولاریته) و بافت روده ماهی سی‌باس آسیایی صورت پذیرفت.

انجام تحقیق به صورت طبیعی و ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد و غذادهی ماهی‌ها در طول دوره روشنائی روزانه انجام شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسمای خون

عملیات خون‌گیری در پایان دوره آزمایش، ۳۰ روز پس از انتقال ماهی‌ها به تیمارهای آب شور و با استفاده از ماده بیهوشی (Ethylene glycol monophenyl ether) در شرایط یکسان به منظور تعیین میزان سدیم، پتاسیم، کلراید و اسمولاریته پلاسمای خون انجام شد. از هر تانک به طور کاملاً تصادفی ۲ قطعه ماهی انتخاب گردید. نمونه‌های خونی از سیاهرگ دمی واقع در انتهای باله مخرجی و با استفاده از سرنگ ۲cc گرفته شد و به منظور مطالعات خون‌شناسی در تیوب‌های آغشته به هپارین ریخته و به مدت ۴ ساعت در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پلاسمای خون توسط سانتریفیوژ اپندورف ساخت آلمان به مدت (۱۰ دقیقه در دور rpm ۳۰۰۰) جداسازی و در داخل تیوب‌های اپندورف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های تعیین مقادیر فاکتورهای بیوشیمیایی نگهداری شدند (Bayunova et al., 2002). نمونه‌های پلاسمای جهت آنالیزهای لازم به آزمایشگاه بیوشیمی رشت ارسال شد و تست‌های بیوشیمیایی پلاسمای (سدیم، پتاسیم، کلراید، اسمولاریته) در آنجا انجام گردید.

بررسی ساختار بافت روده

به منظور مطالعه ساختار روده در پایان آزمایش به صورت کاملاً تصادفی از هر یک از تانک‌ها تعداد ۲

استفاده شد که از طریق شبکه‌های آبرسانی وارد سوله شده و از طریق پمپ به هر تانک وارد شد. برای تأمین آب تیمارهای شوری ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر عمل رقیق-سازی با محاسبه نسبت میزان مورد نیاز از آب شور به وسیله آب شیرین صورت پذیرفت. سپس با دستگاه شوری‌سنج (Atago) ساخت ژاپن صحت شوری‌های تهیه شده بررسی گردید تا به طور دقیق مطابق با شوری مورد نظر تانک برای آزمایش باشد (Moustakas et al., 2004).

اندازه‌گیری فاکتورهای کیفی آب

در طول مدت آزمایش ویژگی‌های آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH و شوری به صورت روزانه اندازه‌گیری و اطلاعات آن‌ها ثبت گردید. برای اندازه‌گیری این فاکتورها از دستگاه مولتی پارامترسنج دیجیتال قابل حمل مدل (Set 2340i WTW) ساخت آلمان استفاده گردید. دما بر حسب (درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول بر حسب (mg / l) و شوری بر حسب (ppt) بیان گردید.

غذادهی

غذادهی به ماهیان با استفاده از غذای پلت تجاری ساخت شرکت تعاونی بیضاء استان فارس انجام شد. که از شروع تا پایان آزمایش در حد سیری و متناسب با درجه حرارت و به صورت دستی در سه نوبت در روز به مصرف ماهی‌ها می‌رسید. غذای مورد استفاده، غذای کنسانتره مخصوص ماهی سی‌باص بود که میزان آن در هر وعده برای هر تانک با استفاده از ترازوی دیجیتال AD مدل (BH-1000a) ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. دوره نوری در نظر گرفته شده در زمان

نرم افزار (Excel ۲۰۱۰) نیز برای رسم نمودارها و جداول استفاده گردید.

نتایج

نتایج شاخص های بیوشیمیایی خون

نتایج نشان داد که با توجه به بالاتر بودن میزان یون پتاسیم در تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر نسبت به تیمارهای شوری ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). این در حالی بود که میزان پتاسیم در تیمار آب شیرین به طور معنی داری کم تر از میزان پتاسیم در تیمارهای ۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۱).

نتایج نشان داد که با توجه به بالاتر بودن میزان سدیم در تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر نسبت به تیمارهای شوری ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما میزان سدیم در تیمار آب شیرین کم تر از میزان سدیم در شوری های ۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر بود و اختلاف معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱).

نتایج نشان داد که میزان اسمولاریته در تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر به طور معنی داری بیش تر از تیمار شوری ۳۵ گرم در لیتر بود ($P < 0/05$). اما علیرغم بیش تر بودن میزان اسمولاریته در تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر نسبت به تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). از سوی دیگر با وجود کم تر بودن میزان اسمولاریته در شوری ۳۵ گرم در لیتر نسبت به شوری ۵۰ گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). این در حالی بود که میزان اسمولاریته در تیمار آب شیرین به طور

قطعه ماهی انتخاب گردید و قسمت بافت روده آن ها جدا و در ظروف جداگانه درون فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. نمونه های بافتی جهت مشاهده توسط میکروسکوپ نوری در محلول بوئن تثبیت و سپس برای نگهداری در اتانول ۷۰٪ قرار داده شدند. مراحل آبگیری با استفاده از الکل های ۹۰ و ۱۰۰٪ و نهایتاً با الکل بوتیلیک (۱۲ ساعت) انجام گرفت. سپس نمونه ها با استفاده از گزیلین شفاف سازی شده و به مدت ۱۲ ساعت در داخل آون (دمای ۶۰ درجه سانتی گراد) در پارافین مایع قرار داده و سپس با استفاده از دستگاه پارافین دیسپنسر مدل (Pooyan MK 1320) قالب گیری شدند (شیبانی و پوستی، ۱۳۷۹). پس از قالب گیری با استفاده از میکروتوم مدل (Microtom HM 360) مقاطع نمونه بافت ها به ضخامت ۶ میکرون برش داده شده و به روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل نیکون (E-600) متصل به برنامه محاسبه گر میکروسکوپی مدل (Nikon Digital Sight) مورد مطالعه و اندازه گیری قرار گرفتند. نمونه های بافت روده ماهی سی باس آسیایی جهت مطالعات بافت شناسی به آزمایشگاه مرکزی خلیج فارس منتقل گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصله با نرم افزار (SPSS[®] ۱۸) انجام پذیرفت. با استفاده از آزمون (One sample Kolmogorov smirnov test) از صحت نرمال بودن داده ها آگاهی حاصل شد. برای مقایسه داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای آزمون معنی دار بودن تفاوت ها در سطح اطمینان ۹۵٪ از آزمون Tukey's و T-test استفاده شد. همچنین از

و ۵۰ گرم در لیتر بود ($P < 0/05$). اما با وجود بیش‌تر بودن میزان کلراید در شوری ۱۵ گرم در لیتر در مقایسه با تیمارهای شوری ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۱).

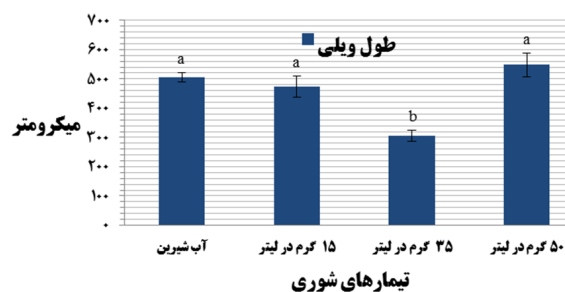
معنی‌داری کم‌تر از تیمار شوری ۱۵ و ۵۰ گرم در لیتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۱).

نتایج نشان داد که میزان کلراید در تیمار آب شیرین به طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار شوری ۱۵، ۳۵

جدول ۱: مقادیر فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما در تیمارهای مختلف ماهی سی‌باس آسیایی با احتمال اطمینان ۹۵٪

تیمار شوری (گرم در لیتر)			فاکتورهای بیوشیمیایی خون (میلی‌مول)	
۵۰	۳۵	۱۵	آب شیرین	
۱۰/۷۳ ^a	۱۰/۲۶ ^a	۱۰/۱۰ ^a	۲/۶۶ ^b	پتاسیم
۱۶۱/۳۳ ^a	۱۵۸/۶۶ ^a	۱۵۹/۳۳ ^a	۶۲/۰۰ ^b	سدیم
۴۴۲/۶۶ ^{ab}	۴۲۳/۳۳ ^{bc}	۴۶۸/۶۶ ^a	۳۹۸/۰۰ ^c	اسمولاریته
۱۴۵/۰۰ ^a	۱۵۲/۶۶ ^a	۱۵۵/۶۶ ^a	۱۳۳/۰۰ ^b	کلراید

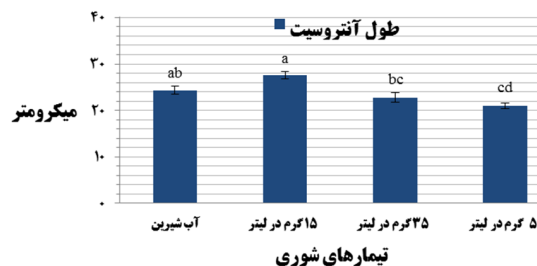
نتایج نشان داد که با توجه به بیش‌تر بودن طول ویلی در ماهیان تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر نسبت به ماهی‌های تیمار آب شیرین و تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). این در حالی بود که طول ویلی در ماهی‌های تیمار شوری ۳۵ گرم در لیتر به طور معنی‌داری کم‌تر از ماهی‌های تیمارهای شوری ۵۰ گرم در لیتر، تیمار آب شیرین و تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر بود و دارای تفاوت معنی‌داری بود ($P < 0/05$) (شکل ۲).



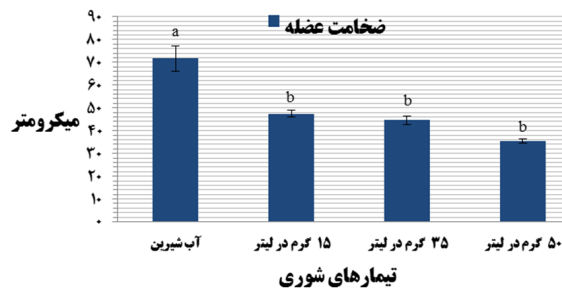
شکل ۲: طول ویلی روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمارهای مختلف آزمایشی با احتمال اطمینان ۹۵٪

نتایج مطالعات بافت روده

نتایج نشان داد که طول آنتروسیست‌ها در ماهی‌های تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر به طور معنی‌داری بیش‌تر از ماهیان تیمارهای شوری ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر بود ($P < 0/05$). این در حالی بود که علیرغم بیش‌تر بودن طول آنتروسیست ماهی‌های تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر نسبت به ماهی‌های تیمار آب شیرین اختلاف معنی‌دار نشان داده نشد ($P > 0/05$). از سوی دیگر مشاهده گردید که با وجود کم‌تر بودن طول آنتروسیست‌ها در ماهی‌های تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر نسبت به ماهی‌های تیمار شوری ۳۵ گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (شکل ۱).

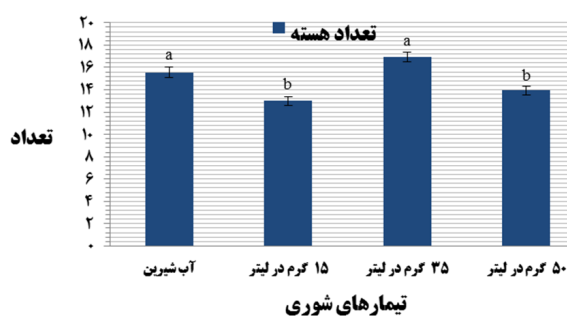


شکل ۱: طول آنتروسیست‌ها روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمارهای مختلف آزمایشی با احتمال اطمینان ۹۵٪



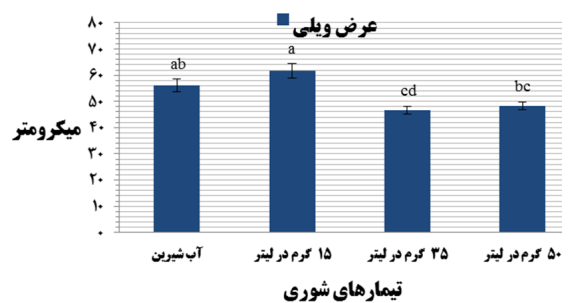
شکل ۴: ضخامت لایه عضلانی روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمارهای مختلف آزمایشی با احتمال اطمینان ۹۵٪

نتایج مربوط به تعداد هسته آنتروسیت‌ها نشان داد که تعداد هسته در ماهیان تیمارهای شوری ۳۵ گرم در لیتر و تیمار آب شیرین به طور معنی‌داری بیش‌تر از ماهیان تیمارهای شوری ۱۵ گرم در لیتر و شوری ۵۰ گرم در لیتر بود ($P < 0.05$). این در حالی است که با وجود کم‌تر بودن تعداد هسته‌ها در ماهیان تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر نسبت به ماهیان تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (شکل ۵). همچنین مقاطع عرضی بافت روده نیز مؤید این مطلب است (شکل ۶).



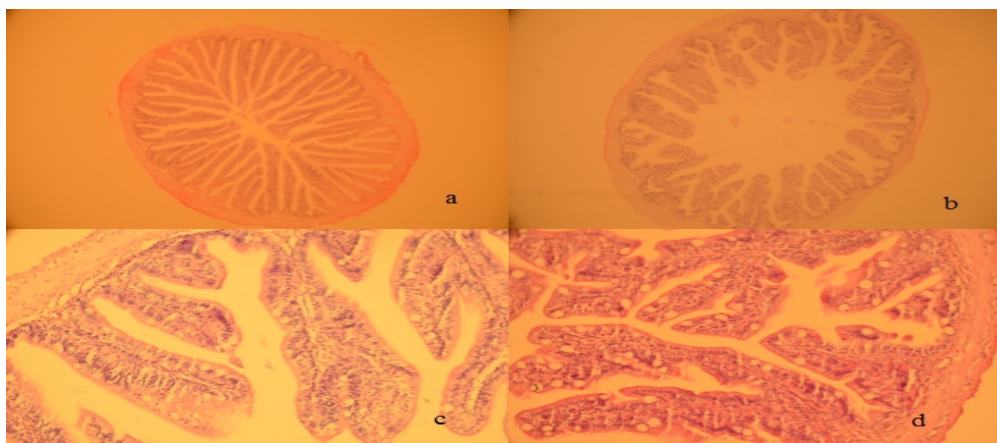
شکل ۵: تعداد هسته روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمارهای مختلف آزمایشی با احتمال اطمینان ۹۵٪

نتایج نشان داد که عرض ویلی در ماهیان تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر نسبت به ماهیان تیمارهای شوری ۵۰ گرم در لیتر و تیمار شوری ۳۵ گرم در لیتر به طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($P < 0.05$). اما با وجود بیش‌تر بودن عرض ویلی در ماهیان تیمار شوری ۱۵ گرم در لیتر نسبت به ماهی‌های تیمار آب شیرین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). از سوی دیگر مشاهده شد که با وجود کم‌تر بودن عرض ویلی در ماهیان شوری ۳۵ گرم در لیتر نسبت به ماهیان تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۳: عرض ویلی روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمارهای مختلف آزمایشی با احتمال اطمینان ۹۵٪

نتایج نشان داد که ضخامت عضله روده در ماهیان تیمار آب شیرین در مقایسه با سایر تیمارها بیش‌تر و دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). اما با توجه به کم‌تر بودن ضخامت عضله روده در ماهیان تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر در مقایسه با ماهیان تیمارهای شوری ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (شکل ۴).



شکل ۶: مقطع عرضی بافت روده ماهیان سی‌باس آسیایی تیمار آزمایشی. a: آب شیرین (بزرگنمایی $10\times$)، b: شوری ۱۵ گرم در لیتر (بزرگنمایی $10\times$)، c: شوری ۳۵ گرم در لیتر (بزرگنمایی $40\times$)، d: شوری ۵۰ گرم در لیتر (بزرگنمایی $40\times$)

بحث

در این تحقیق نتایج نشان داد که با افزایش شوری، سطوح پتاسیم، سدیم، اسمولاریته و کلراید افزایش یافته که به نظر می‌رسد این افزایش میزان یون‌ها، نشان‌دهنده تطابق و سازگاری این ماهی با شرایط تغییر شوری است و شاخص‌های فیزیولوژیکی این سازگاری را در بچه ماهیان سی‌باس آسیایی نشان می‌دهد و تلفاتی در شوری‌های مختلف مشاهده نشد. در این تحقیق تفاوت معنی‌داری در میزان اسمولاریته در تیمارهای شوری ۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر وجود نداشت که به نظر می‌رسد به دلیل مقاوم بودن ماهی سی‌باس آسیایی به تغییرات دامنه شوری آب است که این ماهی می‌تواند اسمولاریته خون خود را در محدوده وسیعی از شوری‌های محیط در حد ثابت نگه دارد.

بر اساس مطالعات Wedemeyer (۱۹۹۶)، نحوه تنظیم غلظت یون‌ها در شرایطی که ماهی در محیط‌هایی با شوری متفاوت قرار می‌گیرد برای هر گونه متفاوت و اختصاصی است. بعضی از ماهی‌ها که دامنه تحمل شوری آنها گسترده است مانند خامه ماهی می‌تواند اسمولاریته خون خود را در دامنه وسیعی از شوری‌های

محیط ثابت نگه دارد. این موضوع در تحقیقات دیگری روی سایر گونه‌های مقاوم به شوری نیز به اثبات رسیده است. موحدی‌نیا و همکاران (۱۳۹۱)، طی انجام مطالعه‌ای روی ماهیان یک ساله شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) که از انواع ماهیان مقاوم به شوری است، نشان دادند که این ماهی می‌تواند شوری‌های از ۵ تا ۶۰ گرم در لیتر را بدون تغییر عمده در الکترولیت‌های خون تحمل نماید. Denson و همکاران (۲۰۰۳)، در مطالعه‌ای به بررسی رشد و بقاء ماهی کویا (*Rachycentrus canadum*) در شوری‌های ۵، ۱۵ و ۳۰ گرم در لیتر در سیستم مدار بسته به مدت ۸ هفته پرداختند. نتایج نشان داد که پس از پایان دوره آزمایش و اندازه‌گیری اسمولاریته پلاسمای خون، میزان اسمولاریته به طور مشخصی در شوری ۳۰ گرم در لیتر ۳۳۵ میلی‌مول و بیش‌تر از دیگر تیمارها بود. Crocker و همکاران (۱۹۸۳)، در مطالعه‌ای که روی ماهی سی‌باس کانالی (*Sciaenops ocellatus*) در شوری ۲۸ گرم در لیتر انجام دادند، میزان اسمولاریته را ۳۵۰ میلی‌مول اندازه‌گیری نمودند. همچنین Marshall و همکاران (۱۹۹۹)، این میزان اسمولاریته را تایید

کردند. Crocker و همکاران (۱۹۸۱)، میزان اسمولاریته را در ماهی باس کانالی (*Sciaenops ocellatus*) در آب شیرین ۲۹۸ و در آب شور ۳۵۰ میلی مول گزارش نمود که مشابه مطالعه حاضر می باشد. در تحقیق مشابه دیگری که Peter و James (۲۰۰۳)، روی تاس ماهی (*Acipenser brevirostrum*) در شوری های (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰) گرم در لیتر انجام دادند، پس از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی خون میزان اسمولاریته پلاسما در ماهیانی که طی ۸ هفته در معرض این شوری ها قرار گرفتند، با افزایش شوری افزایش یافته اما اختلاف معنی داری را نشان نداد که این مسئله ناشی از تطابق و سازگاری مناسب ماهی ها با تغییرات شوری بود. در مطالعه ای که نفیسی بهابادی و همکاران (۱۳۹۰)، روی ماهیان جوان قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) که در معرض شوری های (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰) گرم در لیتر قرار گرفته بودند، نیز میزان یون های کلراید و اسمولاریته خون افزایش یافت که این افزایش میزان یون ها در خون نتیجه قرار گرفتن ماهیان آب شیرین مانند قزل آلا در شرایط آب شور و به منظور تطابق آنها با این شرایط است. در این مطالعه نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما ی خون بچه ماهیان سی باس آسیایی (یون سدیم و پتاسیم) حاکی از عدم وجود اختلاف معنی دار در تیمارهای مختلف آب شیرین و شوری (۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر) بود ($P > 0.05$). که به نظر می رسد دلیل آن استرسزا نبودن این سطوح شوری برای بچه ماهیان سی باس آسیایی می باشد. ایمان پور و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه ای به بررسی تاثیر سطوح مختلف شوری (۰، ۲، ۴، ۷ و ۱۰ گرم در لیتر) روی بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) پرداختند. در پایان دوره

آزمایش پارامترهای بیوشیمیایی خون بچه ماهیان (کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم) مورد اندازه گیری قرار گرفت که نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی خون اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($P > 0.05$).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در آب شیرین کم ترین میزان سدیم و پتاسیم ثبت گردید و با افزایش شوری از صفر به ۱۵ گرم در لیتر میزان یون های سدیم و پتاسیم افزایش یافت اما در مجموع در تیمارهای مختلف این اختلاف معنی دار نبود. به نظر می رسد که افزایش پتاسیم در شوری بالا قدرت تنظیم اسمزی در ماهیان را افزایش می دهد. پتاسیم یکی از کاتیون های داخل سلولی می باشد و همچنین در فعالیت (Na-K-ATPase) مهم بوده و در حال تعادل با پتاسیم خارج سلولی می باشد. فقدان سطوح پتاسیم آب می تواند قدرت تنظیم اسمزی را در ماهیان تحت الشعاع قرار دهد (Pequeux, 1995). در تحقیقی که Peter و James (۲۰۰۳)، روی تاس ماهی (*Acipenser brevirostrum*) انجام دادند میزان سدیم و کلراید با افزایش شوری افزایش یافت. اما میزان پتاسیم تحت تاثیر افزایش شوری قرار نگرفت و میزان پتاسیم در ماهی های با شوری پایین تر میزان بالاتری را داشت. در مطالعه ای که Fielder و همکاران (۲۰۰۷)، روی ماهی (*Pagrus auratus*) انجام دادند، عنوان نمودند که اسمولاریته و یون های سدیم و پتاسیم سرم خون با افزایش ناگهانی شوری افزایش یافتند. در تحقیق حاضر میزان یون سدیم و پتاسیم در تیمار آب شیرین به ترتیب ۶۲ و ۲/۶۶ میلی مول محاسبه گردید. در تحقیقی مشابه Thrall و همکاران (۲۰۰۴)، میزان یون های سدیم و پتاسیم را در ماهیان آب شیرین به ترتیب ۱۵۰ و ۳

میلی مول گزارش کرده‌اند. مجابی و همکاران (۱۳۷۹)، مقدار سدیم را بر حسب گونه ماهی و محیط متغیر دانستند و میزان آن را در اغلب ماهیان ۱۵۰ میلی مول ذکر کردند و کاهش سدیم و کلر را در ماهیان آب شیرین ناشی از عفونت‌های عمومی و اختلال در کارکرد آبشش‌ها معرفی کردند.

در این مطالعه بافت روده ماهی سی‌باس آسیایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که ساختار ویلی‌ها و آنتروست‌های دستگاه گوارش کاملاً نرمال بوده و در محل قرارگیری هسته سلول‌های گوارشی نیز در تصاویر مختلف تفاوت چندانی مشاهده نشد. ضایعات بافت‌شناسی در تصاویر ارائه شده از تیمارهای مختلف دیده نشد. همچنین ساختار لایه‌های مخاطی، عضلانی و سروز و همچنین سلول‌های موکوس روده‌ای عادی و تغییرات چندانی در آنها مشاهده نگردید. نتایج حاصل از بافت‌شناسی روده نشان می‌دهد که طول ویلی با افزایش شوری اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نمی‌دهد (به جزء در شوری ۳۵ گرم در لیتر). همچنین این نتایج بیانگر این است که با افزایش شوری اختلاف معنی‌داری از نظر عرض ویلی بین گروه شاهد و شوری ۱۵ گرم در لیتر با دو تیمار ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر مشاهده شد. نتایج مربوط به طول آنتروست‌ها در تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش شوری یک روند کاهشی در طول آنتروست‌ها مشاهده شد. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان کرد که ماهی سی‌باس آسیایی یک گونه مقاوم نسبت به تغییر شرایط شوری آب است و می‌تواند بدون تغییر چندانی در یون‌های پلاسمای خون شوری‌های مختلف را تحمل کند. ماهیان سی‌باس می‌توانند تا شوری ۵۰ گرم در لیتر را تحمل کرده و رشد خوبی داشته باشند و امکان پرورش

ماهی سی‌باس آسیایی که یک گونه وارداتی می‌باشد در شوری بالا و در استخرهای پرورش میگو وجود دارد و می‌توان برای پرورش اقتصادی آن برنامه‌ریزی نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق در سوله تکثیر و پرورش ماهیان آب شور پژوهشکده خلیج فارس در دانشگاه خلیج فارس انجام گردید، بدین وسیله از مسئولین این پژوهشکده تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

- ایمانپور، م. ر.، غلامپور، ط.، حسینی، س. ع.، شعبانپور، ب.، ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های رشد، میزان بازماندگی، غذاگیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*). مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۴(۴)، ۵۳۹-۵۴۹.
- جمال‌زاده، ح.، کیوان، ا.، جمیلی، ش.، عریان، ش.، سعیدی، ع.، ۱۳۸۱. بررسی فاکتورهای خونی آزاد ماهی دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۱(۱)، ۲۵-۳۴.
- حسینی، پ.، وهاب‌زاده رودسری، ح.، صیاد بورانی، م.، کاظمی، ر.، زمینی، ع.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات ناشی از افزایش شوری آب بر برخی از فاکتورهای خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله زیست‌شناسی دریا، ۴(۱۴)، ۴۱۷-۴۲۹.
- رحیمی‌بشر، م.، تهرانی‌فرد، ا.، قاسمی‌نژاد، ا.، علیپور، و.، فلاح‌چای، م.، ۱۳۸۶. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) در مراحل مختلف رشد گنادی. مجله علوم زیستی، ۱(۳)، ۴۵-۵۶.

14. Chen, C., Wooster, G.A., Bowser, P.R., 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. *Aquaculture*, 239, 421-443.
15. Crocker, P.A., Arnold, C.R., DeSeer, J.A., Holt, G.J., 1981. Preliminary evaluation of survival and growth of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) in fresh and salt water. *World Mariculture Society*, 12, 122-134.
16. Crocker, P.A., Arnold, C.R., DeBoer, J.A., 1983. Blood osmolality shift in juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus* L.) exposed to fresh water. *Journal of biology*, 23(3), 315-319.
17. Denson, M.R., Stuart, K.R., Smith, T.I.J., Weirich, C.R., Segars, A., 2003. Effects of Salinity on Growth, Survival, and Selected Hematological Parameters of Juvenile Cobia *Rachycentron canadum*. *Journal of the world Aquaculture Society*, 34(4), 496-504.
18. FAO., 2012. The state of world fisheries and aquaculture, Food and agriculture organization of the United Nation, Rome, 209 pp.
19. Fielder, D.S., Allan, G.L., Pepperall, D., Pankhurst, P.M., 2007. The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper (*Pagrus auratus*). *Aquaculture*, 272, 656-666.
20. Likongwe, J.S., Stecko, T.D., Stauffer, J.R., Carline, R.F., 1996. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 146, 37-46.
21. Marshall, W.S., Emberley, T.R., Singer, T.D., Bryson, S.E., Cormick, S.D., 1999. Time course of salinity adaptation in strongly euryhaline estuarine teleosts, *Fundulus heteroclitus*: a multivariable approach. *Journal of Experimental Biology*, 202, 1535-1544.
22. Morgan, I.D., Iwama, G.K., 1991. Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 2083-2094.
23. Moustakas, C., Watanabe, W.O., Kimberly, A., 2004. Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *Journal Aquaculture*, 229 (1-4), 159-179.
24. Nafisi Bahabadi, M., Soltani, M., 2008. Effect dietary energy levels and feeding rates on
۵. روضاتی، ع.، حق، ن.، آورجه، س.، ۱۳۹۲. اثرات استرس شوری و دما بر فاکتورهای خونی بچه ماهی کپور (*Cyprinus carpio*). *مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان*، ۱(۲)، ۹۵-۱۱۳.
۶. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، ۶۵۹ صفحه.
۷. شبانی، م. ت.، پوستی، ا.، ۱۳۷۹. بافت شناسی روده ها در ماهی قره برون (*Acipenser persicus*). *مجله پژوهش و سازندگی*، ۴(۴۹)، ۸۹-۹۱.
۸. مجابی، ع.، نظیفی حبیب آبادی، س.، صافی، ش.، صابری، م.، شکیب، ج.، مهری، م.، خضرای نیا، پ.، ۱۳۷۹. بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. ویرایش دوم، انتشارات نوربخش تهران، صفحه ۳۲۹-۳۹۰.
۹. موحدی نیا، ع.، سواری، ا.، سلاطی، ا.، ۱۳۹۱. سازگاری های فراساختاری آبشش ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) تحت شرایط اسمزی مختلف. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۶۲(۲)، ۱۶۵-۱۷۴.
۱۰. نفیسی بهابادی، م.، سلطانی، م.، فلاحتی مروت، ع.، ۱۳۹۰. بررسی میزان رشد و برخی شاخص های بیوشیمیایی خون ماهیان جوان قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شوریه های مختلف آب. *نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم*، ۹(۴)، ۶۲۵-۶۴۱.
11. Allen, G.R., Midgley, S.H., Allen, M., 2002. Field guide to the freshwater fishes of Australia. Western Australian Museum, Perth, Western Australia, 394 p.
12. Anil, M.K., Santhosh, B., Jasmin, S., Saleela, K.N., Rani Mary, G., Jose kingsly, H., Unnikrishnan, C., Hanumanta Rao, G., Syda Rao, G., 2010. Growth performance of the seabass (*Lates calcarifer*) (Botch) in sea cage at LIZHINJAM Bay along the South-West coast of India. *Indian Journal of Fisheries*, 57(4), 65-69.
13. Bayunova, L., Barannikova, I., Semenkova, T., 2002. Sturgeon stress reactions in aquaculture. *Journal applied Ichthyology*, 18, 397-404.

2006. Cryopreservation of semen from the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Aquaculture*, 256, 564–569.
29. Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., Denicola, D., Fettman, M.J., Lassen, E.D., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA highly alkaline pyramid lake (pH 9.4) to challenge at pH 10. *Journal of Experimental Biology*, 175, 173-194.
30. Wedemeyer, G.A., 1996. Physiology of fish in intensive culture system. In: (Eds.), Chapman and Hall publication, 60-98 pp.
31. Whitehead, P.J.P., 1984. Centropomidae. In W. Fischer and G. Bianchi (eds.) FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean (Fishing Area 51). vol. 1. [pag. var.] FAO, Rome.
- growth and body composition of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 7, 171-186.
25. Paterson, B.D., Rimmer, M.A., Meikle, G.M., Semmens, G.L., 2003. Physiological responses of the Asian sea bass, *Lates calcarifer* to water quality deterioration during simulated live transport: acidosis, red-cell swelling, and levels of ions and ammonia in the plasma. *Aquaculture*, 218, 717-728.
26. Pequeux, A., 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, 1-60.
27. Peter, L.J., James, S.B., 2003. Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile shortness sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Aquaculture*, 219(1-4), 891–909.
28. Sarvi, k., Niksirat, H., Mojazi Amiri, B., Mirtorabi, S.M., Rafiee, G.R., Bakhtiyari, M.,