بررسی فراوانی و پراکنش سلول‌های کلراید آبشش بچه‌ماهیان سفید در مواجهه با شوری آب دریای‌خزر

محمد صیاد بورانی*[۱]، محدثه احمد نژاد[۱]، حسن مقصودیه کهن[۱]، سهراب دژندیان[۱]، منصور شریفیان[۲]

۱- پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۶

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹- ۱۴۹۶۵

تاریخ دریافت: ۱۸ آذر ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۲۷ فروردین ۱۳۹۳

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی توسعه سلول‌های کلراید در بافت آبشش گروه‌های مختلف وزنی بچه‌ماهی سفید (*Rutilus frisii*) در ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان واقع در غازیان بندرانزلی انجام شد. بچه ماهیان با میانگین وزنی ۰/۵، ۱ و ۲/۵ گرمی به صورت تصادفی انتخاب شدند و در ۳ گروه آب دریای خزر با شوری ۱۱ در هزار، آب ۷ در هزار (شرایط مصبی) و آب شیرین (با سه تکرار در هر گروه) در مدت ۱۰ روز، قرار گرفتند. جهت بررسی ساختار میکروسکوپی بافت آبشش در تیمارهای مختلف، از نمونه‌های بافتی به‌وسیله روش بافت‌شناسی کلاسیک و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین لام تهیه شد. بررسی فراوانی و محل آنزیم Na^{+}-K^{+}- ATPase و تعیین موقعیت سلول‌های کلراید با روش ایمونوهیستوشیمی به انجام رسید. در تصاویر بافت‌شناسی، سلول‌های کلراید در ناحیه پایه تیغه‌های ثانویه، روی تیغه‌ها و بین آن‌ها به‌وضوح دیده شدند. نتایج شمارش سلول‌های کلراید در آبشش بچه‌ماهیان سفید نشان داد که در هر میلی‌متر مربع از سطح بافت آبششی ماهیان ۰/۵، ۱ و ۲/۵ گرمی به‌ترتیب ۹۰۰۰، ۱۰۰۰۰- ۹۰۰۰ و ۱۲۰۶۰- ۱۰۰۷۰ سلول کلراید وجود دارد. در نتیجه مطابق با تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد بچه ماهیان ۰/۵ گرمی دارای قابلیت سازگاری با آب نواحی مصبی و آب دریای خزر را نداشته و کاملاً سازگاری به آب شیرین دارد. بر اساس مطالعات، به نظر می‌رسد بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی قابلیت تحمل و سازگاری با نواحی مصبی و نواحی از دریا با شوری ۷ تا ۸ در هزار دارند که افزایش وزن تأثیر بمراتب بهتری را خواهد داشت یعنی ترجیحاً وزن ۲/۵ تا ۳ گرم جهت این کار مناسب‌تر می‌باشد.

کلمات کلیدی: ماهی‌سفید، *Rutilus frisii*، تنظیم‌اسمزی، شوری، دریای‌خزر.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). mohammadborani@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

مقدمه

ماهی‌سفید با نام‌علمی *Rutilus frisii*، یک ماهی استخوانی نیمه‌مهاجر رود کوچ بوده که به زندگی در آب لب‌شور دریای خزر و تالاب‌های اطراف آن سازگار شده است. سالیانه به‌طور متوسط بیش از ۱۲ هزارتن از انواع ماهیان استخوانی از سواحل ایرانی دریای خزر استحصال می‌شود که ماهی‌سفید بیش از ۵۰ درصد صید را به خود اختصاص می‌دهد و از این طریق در اقتصاد مردم شهرهای ساحلی استان گیلان و مازندران وگلستان نقش بسزایی را ایفا می‌کند. ادامه روند صید بی‌رویه سبب‌گردید که کل استحصال این ماهی‌در فصول بهره‌برداری سال‌های ۵۹-۱۳۵۸ و ۶۰-۱۳۵۹ به کمتر از ۱۰۰ تن در سال برسد (غنی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۰). ولی از دهه ۵۰ با اجرای عملیات تکثیر مصنوعی، با تولید و رهاسازی بچه‌ماهیان توسط سازمان شیلات ایران صید این ماهی روند بهتری را طی نمود. به‌طوری‌که در سال ۱۳۹۰، میزان صید ماهی سفید حدود ۱۱ هزار تن و میزان رهاسازی حدود ۲۷۰ میلیون عدد بوده است (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۹۲). بر اساس تحقیقات صورت پذیرفته، ضریب بازگشت ماهی‌سفید (مربوط به نسل ۱۳۷۰) ۸/۴ درصد محاسبه شده که نسبت به نسل سال‌های ۱۳۶۵ و ۱۳۶۶ (حدوداً ۱۶ درصد) کاهش نشان می‌دهد (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۷۹). البته این میزان در ماهیان سفید نسل۱۳۷۳ به ۷/۳ درصد رسیده است (غنی نژاد و همکاران، ۱۳۸۰)، و این در حالی است که دامنه وزنی بیشتر بچه ماهیان سفید رها سازی شده بین۰/۶ تا ۱ گرم بود. لذا سعی برآن است که درصد ضریب بقاء افزایش یابد، یکی از راه‌های افزایش ضریب بقاء بچه‌ماهیان مطالعات شاخص‌های فیزیولوژیک و عوامل محیطی می‌باشد که در بین شاخص‌های‌فیزیولوژیکی، تنظیم‌اسمزی از نقش و اهمیت قابل‌توجهی برخوردار می‌باشد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸). تنظیم اسمزی، مکانیسم حفظ هموستازی مایعات درونی بدن و مسئول حفظ وکنترل اسمولاریته پلاسما می‌باشد (Jurd, 2003). اندام‌های دخیل شامل آبشش، پوست، کلیه و دستگاه گوارش می‌باشد (Eldon, 2003). از این میان آبشش مهم‌ترین جایگاه تبادل یونی و تنظیم اسمزی بین بدن و محیط بشمار می‌رود (Jurd, 2003). در اپی‌تلیوم آبششی سلول‌های کلراید مهم‌ترین جایگاه تبادلات یونی هستند (Wood and Marshall, 1994).

ماهیان مهاجررود رو پس از مهاجرت به آب‌شیرین هایپراسمتیک و در آب دریا هیپواسمتیک هستند. شروع رشد این ماهیان ابتدا در آب‌شیرین و سیستم اسمزی آنان در این محیط شکل می‌گیرد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸، صیادبورانی و همکاران، ۱۳۸۶). Thomson و Sargent (۱۹۷۷)، با انتقال مارماهیان زرد و نقره‌ای به محیط شورتر افزایشی را در تعداد و حجم سلول‌های کلراید آبششی مشاهده کردند که این افزایش منعکس کننده سازگاری ماهی با محیط شورتر است.

Cioni و همکاران (۱۹۹۱) دریافتند که سطح سلول‌های کلراید ماهیان سازگار شده به آب شور بزرگ‌تر از سطح سلول‌های کلراید ماهیان سازگار شده به آب شیرین است.

Fontaine و همکاران (۱۹۹۵)، نقره‌ای شدن بدن و سلول‌های غنی از میتوکندری (سلول‌های کلراید) مارماهیان اروپایی را مطالعه‌کرده و دریافت که سلول‌های کلراید مارماهی نقره‌ای زیادتر، بزرگ‌تر و تراکم میتوکندری بیشتر از سلول‌های کلراید مارماهی زرد بوده و بر این اساس نتیجه‌گرفتند که مرحله نقره‌ای

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

شدن در مارماهیان مشابه مرحله تبدیل بچه‌ماهیان پار (رودخانه‌زی) به بچه‌ماهیان اسمولت (رهسپار شونده به دریا) در آزاد ماهیان است.

در این راستا اثر شوری‌آب با تاکید بر شاخص‌های رشد در بچه‌ماهی سفید یک گرمی مورد بررسی قرار گرفت (امیری و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین تأثیر وزن بر قابلیت تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر توسط صیاد بورانی و همکاران (۱۳۸۴) مطالعه شده است. لذا اطلاع از چگونگی انجام عمل مذکور در ماهی و زمان تشکیل و تکمیل اندام‌های تنظیم‌کننده اسمزی می‌تواند تعیین‌کننده باشد. در این راستا و با توجه به تولید بچه ماهیان در مراکز تکثیر مصنوعی کشور به نظر می‌رسد آگاهی از چگونگی تنظیم اسمزی و بررسی فراوانی و پراکنش سلول‌های کلراید آبششی بچه‌ماهیان این‌گونه که یکی از اندام‌های اصلی دخیل در تبادلات‌یونی بوده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مکان‌های مورد پژوهش شامل ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان واقع در غازیان بندر انزلی، آزمایشگاه فیزیولوژی پژوهشکده‌آب‌های داخلی کشور (بندرانزلی)، آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی شهرستان نور و آزمایشگاه فیزیولوژی موسسه تحقیقات تاسماهیان کشور بوده و این تحقیق در سال ۱۳۹۰ لغایت ۱۳۹۱ انجام‌گرفت. نمونه‌های مورد بررسی از جمعیت بچه‌ماهی سفید دریای خزر با نام علمی *Rutilus frisii* حاصل تولید مرکز بازسازی ذخایر ماهیان‌گرمابی شهید انصاری رشت بود که در اوزان ۰/۵، ۱ و ۲/۵ گرمی به صورت تصادفی از نمونه‌های این مجتمع برداشت شد و به ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان واقع در غازیان بندرانزلی انتقال داده شدند. آب مورد نیاز برای این تحقیق در ۳ سطح شوری: آب شیرین (شاهد)، شوری ۷ در هزار و آب دریای خزر با شوری ۱۱ در هزار برای مدت ۱۰ روزه انجام گردید.

برای تطابق بچه ماهیان حدود یک ماه این ماهی‌ها در حوضچه‌های گرد (ونیرو) با چرخش‌آب و هوادهی نگهداری شدند. در مرحله بعد جهت انجام عملیات تیمارداری به وان‌های ۱۰۰ لیتری انتقال یافتند. جهت به حداقل رساندن پارامترهای پلاسما، ۲۴ ساعت قبل از انتقال به وان‌های ۱۰۰ لیتری، بچه‌ماهیان تحت شرایط گرسنگی نگه داشته شدند (Madsen and Naamansen, 1989).

در ضمن این وان‌های ۱۰۰ لیتری به‌صورت طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی‌که با مطالعات McCormik و Naiman (۱۹۸۴) همخوانی‌دارد چیده شده بودند. داخل هر یک از وان‌های ۱۰۰ لیتری به اندازه ۸۰ لیتر از آب مورد نیاز (آب شیرین،۷در هزار و ۱۱ در هزار) پر گردید.

۲۰ درصد آب موجود در هر یک از وان‌ها هر روزه تعویض می‌شدند تا از رسوبات مواد غذایی و فضولات ماهی‌ها جلوگیری شود (Avella *et al.*, 1990). تراکم بچه ماهیان در داخل هر وان ۰/۵ گرم در لیتر در نظر گرفته شد. غذادهی نیز روزی یک‌بار با غذای‌کنسانتره SFK (غذای‌مربوط به ماهی سفید) به میزان ۲ درصد وزن بدن به بچه‌ماهیان داده شد. شوری آب حوضچه‌ها هر ۲۴ ساعت یکبار به‌وسیله دستگاه شوری‌سنج کنترل می‌شد (ASTM, 1989).

همچنین زیست‌سنجی بچه ماهیان یعنی طول با دقت ۱ میلی‌متر و وزن با دقت ۰/۱ گرم انجام‌گرفت.

جهت مطالعات‌بافتی در فاصله‌های زمانی مختلف، سه عدد ماهی از شوری‌های مختلف برداشته و پس از

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

بیومتری، باله‌های آن را قطع کرده و در داخل فیکساتور بوئن قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از بوئن خارج و در داخل الکل ۷۰ درجه قرار داده شد (پوستی و صدیق مرودستی، ۱۳۷۸). سپس مقطعی از کمان‌دوم آبششی جهت تهیه لام از ماهی مورد نظر جدا گردید. برای تشخیص بهتر سلول‌های کلراید آبشش از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین استفاده گردید (کرایوشکینا، ۱۳۷۸). تعداد و مساحت یاخته‌های کلراید توسط برنامه Image tool (version 2) اندازه‌گیری شد (Pelis and McCormick, 2001).

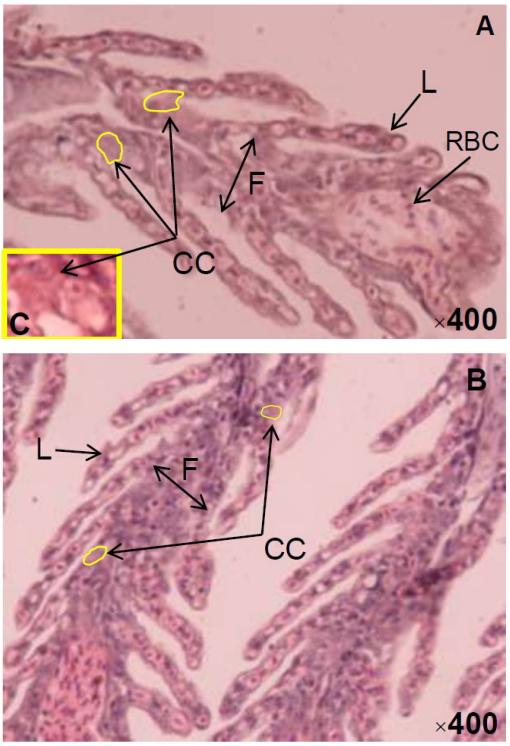
برای بررسی فراوانی و پراکنش سلول‌های کلراید از روش ایمونوهیستوشیمی استفاده گردید. ایمنولوکالیزه آنزیم Na^+, K^+- ATPase با استفاده از آنتی بادی $IgGa_5$ و میکروسکوپ نوری فلورسانس انجام گرفت (رجبی و همکاران، ۱۳۹۰).

داده‌های زیست‌سنجی با کمک نرم افزار SPSS18 و روش‌های عمومی آمار توصیفی مورد پردازش و میانگین گیری قرار گرفت. با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت و در جداسازی گروه‌های همگن بر حسب کلاسه‌های وزنی و شوری و مدت زمان قرارگیری از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج

بر اساس مطالعات بافت شناسی، آبشش بچه‌ماهیان سفید از ۴ جفت کمان آبششی در هر طرف سر تشکیل شده است. بافت آبشش شامل رشته‌های آبششی (Filament)، سلول‌های سنگفرشی، سلول‌های پیلار، سلول‌های کلراید، تیغه آبششی (Lamella)، گلبول قرمز خون (Red Blood Cell) و غضروف (Cartilage) است (شکل ۱). همان‌طوری که در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود سلول‌های کلراید آبشش در پایه تیغه‌های ثانویه و گاهی اوقات روی تیغه و در نواحی بین تیغه‌ای قرارگرفته‌اند و این سلول‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین شفاف‌تر و با روش ایمونو دارای خاصیت فلورسانسی و سبز درخشان می‌باشند. تعدادزیادی گلبول‌های قرمز خون در داخل بافت مشاهده می‌شود.

در روش ایمونو هیستوشیمی، آنتی بادی $IgGa_5$ روی آنزیم Na^+,K^+ -ATPase قرار گرفته و با حضور آنتی‌بادی نوع دوم (FITC)، این آنزیم در نور فلورسنت به‌صورت زرد مایل به سبز نشان می‌دهد.



شکل ۱: A : تصویر بافت شناسی با رنگ‌آمیزی ائوزین- هماتوکسیلین از بافت آبشش بچه‌ماهی سفید (سه گرم) سازگار شده با آب شیرین – سلول‌های کلراید روی فیلامنت در ناحیه بین لاملا مشخص‌اند.

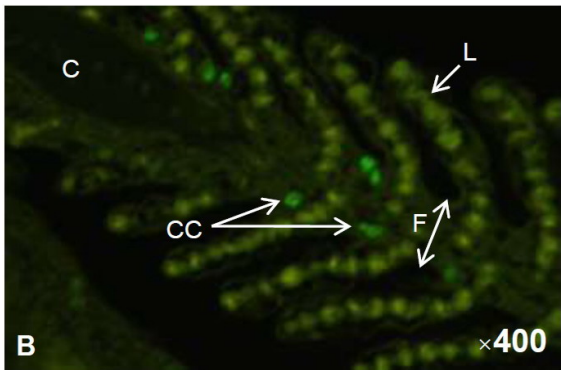
[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

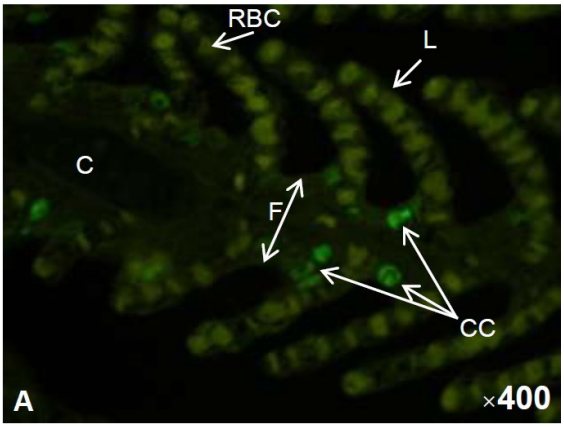
B: تصویر بافت شناسی با رنگ آمیزی ائوزین – هماتوکسیلین از بافت آبشش بچه‌ماهی سفید (نیم گرم) ۲۴۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر

C: تصویر بزرگ شده از سلول کلراید فیلامنتی

علامت‌های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته‌آبششی (Filament)، L: تیغه‌آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)



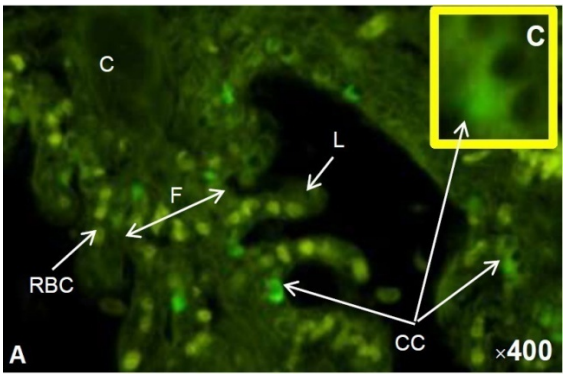


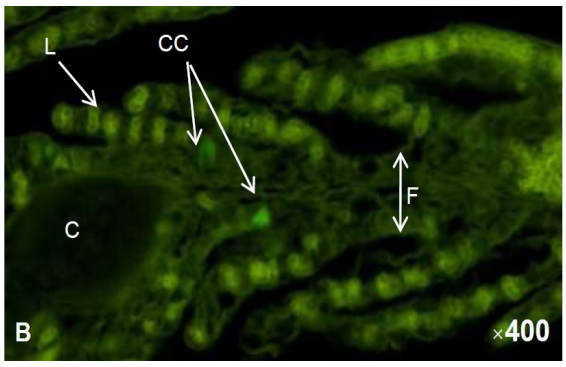
شکل ۲: A: تصویر مکان‌یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه‌ماهی سفید ۰/۵ گرمی سازگار شده با آب شیرین، با روش ایمونوهیستوشیمی

B: تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه ماهی سفید ۰/۵ گرمی ۲۴۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر، با روش ایمونوهیستوشیمی

علامت‌های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته‌آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)





شکل ۳: شکل A : تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه‌ماهی سفید ۱ گرمی سازگار شده با آب شیرین، با روش ایمونوهیستوشیمی

شکل B: تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه‌ماهی سفید ۱ گرمی ۲۴۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر ، با روش ایمونوهیستوشیمی

شکل c: سلول کلراید فیلامنتی واجد ایمونوفلورسانس

علامت‌های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)

در ماهیان ۰/۵ و ۱گرمی، بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر از نظر محیط سلول‌کلراید آبشش بچه‌ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید ($P>0/05$). محیط سلول‌های کلراید آبشش ماهیان ۲/۵گرمی بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای‌خزر دارای اختلاف معنی دار آماری است ($P<0/05$) که حاکی از رشد و تکامل این سلول‌ها در

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

گروه ۲/۵ گرمی برای مواجهه با شوری می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: مقادیر مساحت و محیط سلول‌های کلراید آبشش بچه‌ماهیان سفید در تیمارهای ترکیبی پس از ۲۴۰ ساعت قرارگیری

تیمار	مساحت سلول کلراید (میکرومترمربع)	محیط سلول کلراید (میکرومترمکعب)
آب شیرین- ۰/۵ گرم	۳۵/۶ ± ۱۰/۳۹ [a]	۲۳/۰۸ ± ۳/۴۲ [a]
آب شیرین- ۱ گرم	۴۱/۵۳ ± ۱۰/۱۲ [b]	۲۳/۹۷ ± ۲/۸۸ [a]
آب شیرین – ۲/۵ گرم	۴۴/۹۵ ± ۱۱/۳ [b]	۲۹/۱۶ ± ۴/۴۲ [b]
آب دریای خزر- ۰/۵ گرم	۳۶/۷۳ ± ۱۰/۹۳ [a]	۲۳/۱۴ ± ۳/۶۳ [a]
آب دریای خزر – ۱ گرم	۴۱/۵۴ ± ۱۰/۳۷ [b]	۲۴/۱۱ ± ۳/۱۱ [a]
آب دریای خزر – ۲/۵ گرم	۴۷/۹۵ ± ۱۲/۹۲ [c]	۲۹/۹ ± ۵/۱۳ [b]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می‌باشند (P> ۰/۰۵)

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی مساحت سلول‌کلراید دارند (P<۰/۰۵). و بر اساس آزمون توکی اختلاف بین گروه‌های فوق الذکر مشخص گردید.

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی محیط سلول‌کلراید ندارند (P>۰/۰۵).

نتایج شمارش سلول‌های کلراید در آبشش بچه‌ماهیان سفید هم سن و با اوزان متفاوت، نشان داد که تعداد آن‌ها در میکرو متر مربع از سطح مقطع بافت آبششی، با انتقال ماهی ۰/۵ گرم از آب شیرین به آب دریای خزر کاهش یافته، در بچه ماهیان ۱ گرمی تفاوت مشاهده نشد ولی در ماهیان ۲/۵ گرمی افزایش معنی‌دار بوده است.

جدول ۲: تعداد سلول‌های کلراید (میکرومترمربع) در بچه‌ماهیان سفید در تیمارهای ترکیبی

تیمار	تعداد سلول‌های کلراید
آب شیرین- ۰/۵ گرم	۹/۱۳ ± ۳/۴۹ [a]
آب شیرین- ۱ گرم	۹/۳۳ ± ۳/۹۷ [a]
آب شیرین – ۲/۵گرم	۱۰/۰۷ ± ۴/۵۹ [a]
آب دریای خزر- ۰/۵ گرم	۹/۰۴ ± ۴/۴۲ [a]
آب دریای خزر – ۱ گرم	۱۰/۵۹ ±۴/۶ [a]
آب دریای خزر – ۲/۵ گرم	۱۲/۰۶ ± ۵/۰۵ [b]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می‌باشند (P>۰/۰۵)

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی تعداد سلول‌های کلراید دارند (P<۰/۰۵). بر اساس آزمون توکی اختلاف بین گروه‌های فوق الذکر مشخص گردیدند (جدول ۲).

بحث

یکی از راه‌های افزایش ضریب بقای بچه‌ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیک می‌باشد. در میان عوامل فیزیولوژیک، تنظیم اسمزی از نقش و اهمیت ویژه ای برخوردار است. مطالعه تنظیم اسمزی می‌تواند زمان مناسب مهاجرت ماهی از رودخانه به دریا و در حقیقت اندازه مناسب رهاسازی یا پرورش در محیط‌های دریایی را مشخص نماید (Laird and Needham, 1988) از این طریق بر میزان بازگشت ماهیان مولد بیافزاید.

در این تحقیق پاسخ‌های فیزیولوژیک بچه‌ماهیان سفید به افزایش شوری محیط در ۳ گروه وزنی ۰/۵، ۱ و ۲/۵ گرمی که هر گروه به‌واسطه همبستگی مستقیم وزن و طول معرف اندازه مشخصی نیز می‌باشد، مطالعه

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

شد. پاسخ‌های بررسی شده شامل تغییرات بافتی آبشش، فراوانی و مکان یابی آنزیم Na^+ , K^+- ATPase بود که هر یک نشان دهندهٔ عملکرد یک یا چند دستگاه بدن در مقابله با شوری است.

سلول‌های کلراید آبشش ماهیان دارای نقش اساسی در تنظیم یونی آن‌ها هستند. این سلول در ماهیان آب شیرین بزرگ‌تر ولی تعدادش کمتر و در محیط آب دریا کوچک‌تر ولی با تعداد بسیار بیشتر دیده می‌شوند. پس از انتقال به محیط آب دریا، از حالت نوع آب‌شیرین به سلول‌های کلراید نوع آب‌دریا تغییر شکل می‌دهند، بطوری که از وظیفهٔ جذب یون به وظیفه ترشح یون تغییر حالت می‌دهند (Hiroi *et al*,1999).

در تصاویر بافت‌شناسی، سلول‌های کلراید در ناحیه پایه تیغه‌های ثانویه، روی تیغه‌ها و بین آن‌ها بوضوح دیده شدند. نتایج سایر محققین روی گونه‌های مختلف ماهیان و در شوری‌های متفاوت نیز بیانگر حضور سلول‌های کلراید هم در بخش تیغه‌ای و هم در بخش رشته‌های آبششی بوده است (خوشنود و همکاران، ۱۳۸۷؛ خدابنده و تقی زاده، ۱۳۸۵؛ رجبی و همکاران، ۱۳۹۰).

سلول‌های کلراید با استفاده از آنتی‌بادی $IgGa_5$ مکان‌یابی شدند. بخش قاعده‌ای– جانبی این سلول‌ها، دارای ایمونوفلورسانس قوی است که نشان‌دهنده حضورآنزیم Na^+-K^+-ATPase در این بخش می‌باشد (Shikano and Fujio, 1998; Khodabandeh *et al*., 2009a).

در تحقیق حاضر، سلول‌های کلراید با روش ایمونو هیستوشیمی به‌صورت لامپ‌های روشنی نمایان شده و شناسایی، شمارش و اندازه دقیق آن‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد.

همان‌طور که در شکل‌های ۲و ۳ مشاهده می‌شود سلول‌ها ی کلراید، بیشتر در ناحیه پایه تیغه‌ها و ناحیه رشته‌ای قرار گرفته‌اند. براساس یافته سایر محققین، سلول‌هایی که در ناحیه تیغه قرار گرفته‌اند نقش تنظیم اسمزی را بیشتر در آب شیرین برعهده داشته و جایگاه جذب یونی هستند و سلول‌هایی که در ناحیه رشته قرار دارند بیشتر در تنظیم اسمزی در آب شور نقش‌داشته و جایگاه ترشح یون می‌باشند و این امر وابسته به فعالیت آنزیم Na^+-K^+-ATPase به همراه حضور کوترانسپورتر NKCC و کانال دفع یونی CFTR می‌باشد (رجبی وهمکاران، ۱۳۹۰؛ Shikano and Fujio, 1998).

بررسی تعداد و تغییرات سلول‌های کلراید در بین متغیرهای ثانویه در این تحقیق، کاهش تعداد سلول‌ها پس از ۱۰ روز در تیمار آب دریای خزر برای ماهیان ۰/۵ گرمی، افزایش آن در ماهیان ۱و ۲/۵ گرمی در آب ۷ در هزار و دریای خزر را نشان داد. نتایج شمارش سلول‌های کلراید در آبشش بچه‌ماهیان سفید نشان داد که در هر میلی‌متر مربع از سطح بافت آبششی ماهیان ۰/۵ ، ۱ و ۲/۵ گرمی بترتیب ۹۰۰۰ ، ۱۰۰۰۰– ۹۰۰۰ و ۱۲۰۶۰– ۱۰۰۷۰ سلول‌کلراید وجود دارد. طبق یافته‌های Maetz (۱۹۷۴) در برخی ماهیان استخوانی تعداد سلول‌های کلراید نسبتاً سریع افزایش یافته و نتیجه آن را طی ۳ روز اول سازگاری به آب دریا می‌توان دید.

بر اساس مطالعات انجام شده در مار ماهی ۵۰۰ گرمی (*Anguila japonica*) ۱۰۰۶ سلول‌کلراید (Wong and Chan, 2001)، در آبشش‌باس‌دریایی ۲۴۰ گرمی (*Dicentrarchus labrax*) ۶۲۵۰ سلول‌کلراید (Varsamos, 2002)، در آبشش تیلاپیای

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

موزامبیک ۶۵ گرمی ۶۲۳۳ سلول کلراید (Vander Heijden *et al*., 1997) وجود داشته است.

اندازه سلول‌های کلراید (سطح سلول‌های کلراید) پس از قرارگیری بچه ماهیان ۰/۵ گرمی در محیط‌های با شوری‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری با زمان صفر نشان نداد. در ماهیان ۱ گرمی نیز این تفاوت معنی دار نبود ولی سطح سلول‌های کلراید در آبشش بچه ماهیان ۱ گرمی نسبت به بچه ماهیان ۰/۵ گرمی بیشتر بود. در بچه ماهیان ۲/۵ گرمی نیز سطح سلول‌ها افزایش یافت و سطح سلول‌های کلراید نسبت به دو گروه وزنی قبل افزایش داشت. در تحقیقات مختلف، قابلیت تنظیم اسمزی با افزایش اندازه بدن ماهی افزایش می‌یابد (Evans *et al*., 2005). اما در مورد ماهیان مهاجر و نیمه‌مهاجر این قابلیت تا وزن خاصی اتفاق می‌افتد و در گونه‌های مختلف متفاوت است (Robert, 2000).

Laurent و Hebebi (۱۹۸۹) بیان نمودند که تعداد و اندازه سلول‌های کلراید بین لاملایی در هنگام سازگاری ماهیان یوری‌هالینی افزایش می‌یابد.

براساس نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های شوری و تکامل بافت‌های درگیر سازگاری ماهی با شرایط جدید مانند آبشش در این تحقیق و نیز به‌منظور کاهش هزینه‌های بسیار هنگفت تولید و پرورش بدون افزایش مرگ و میر بچه ماهی، می‌توان چنین نتیجه گیری نمود: بچه ماهیان ۱ و ۲/۵ گرم (ترجیحاً ۲/۵ گرم) قابلیت تنظیم اسمزی با آب لب شور ۷ تا ۸ در هزار را داشته و به نظر می‌رسد این اندازه جهت مهاجرت به دریا مناسب باشد. به‌طوری‌که ماهیان ۰/۵ گرمی فاقد این توانایی بوده‌اند.

رجبی و همکاران (۱۳۹۰) بیان نمودند که افزایش سلول‌های کلراید با افزایش وزن، شاید به جهت آماده شدن برای مهاجرت به دریا به همراه افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز آبششی باشد. عطائی مهر و همکاران (۱۳۸۹) بیان نمودند که امکان اظهارنظر صریح و قاطع در خصوص وزن و شوری مناسب رهاسازی بچه ماهی سفید از منظر نحوه تنظیم فشار اسمزی وجود ندارد و مطالعات جامع تری نیاز می‌باشد.

در نتیجه مطابق با تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد بچه ماهیان ۰/۵ گرمی دارای قابلیت سازگاری با آب نواحی مصبی و آب‌دریای خزر را نداشته و کاملاً سازگاری به آب شیرین دارد. براساس مطالعات، به نظر می‌رسد بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی قابلیت تحمل و سازگاری با نواحی مصبی و نواحی از دریا با شوری ۷ تا ۸ در هزار دارند که افزایش وزن تأثیر به‌مراتب بهتری را خواهد داشت یعنی ترجیحاً وزن ۲/۵ تا ۳ گرم جهت این کار مناسب‌تر می‌باشد. عطائی مهر و همکاران در سال ۱۳۸۹ گزارش دادند که امکان اظهار نظر صریح و قاطع در خصوص وزن و شوری مناسب رهاسازی بچه‌ماهی سفید از منظر نحوه تنظیم فشار اسمزی وجود ندارد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. امیری، آ.، صیادبورانی، م.، مرادی ، م.، پورغلامی ، آ.، ۱۳۸۷. اثر شوری‌های مختلف بر روی رشد و ماندگاری بچه‌ماهی سفید انگشت قد. مجله علمی شیلات ایران. ۱۷(۱)، ۲۳ - ۲۹.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

۲. پوستی، آ.، صدیق مرودستی، ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب شناسی). انتشارات دانشگاه تهران، ۳۲۸ صفحه.

۳. خدابنده، ص.، تقی‌زاده، ز.، ۱۳۸۵. مکان‌یابی آنزیم Na+, K+- ATPase و سلول‌های یونوسیت در آبشش گربه ماهی به روش ایمونو هیستوشیمی. فصلنامه پزشکی یاخته، ۸(۱)، ۴۵ - ۵۲.

۴. خوشنود، ز.، خدابنده، ص.، مسافر، س.، ۱۳۸۷. مکان یابی آنزیم Na+, K+- ATPase و سلول‌های کلراید آبششی به روش ایمونو هیستوشیمی در بچه‌تاسماهی ایرانی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۴)، ۱۷-۲۶.

۵. رجبی، ح.، خدابنده، ص.، فلاح، س.، امیری مقدم، ج.، ۱۳۹۰. تعیین الگوی پراکنش سلول‌های کلراید آبشش در بچه‌ماهیان دو تابستانه آزاد خزر سازگار به آب شیرین. مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۲)، ۴۹ - ۵۹.

۶. صیاد بورانی، م.، طلوعیم، عبدالملکی، ش.، پورغلامی مقدم، آ.، خداپرست، ح.، غنی نژاد، د.، حسینی، آ.، ۱۳۷۹. بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان استخوانی رهاسازی‌شده در آب‌های استان گیلان. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، صفحات ۶- ۵۰

۷. صیاد بورانی، م.، ابطحی، ب.، بهمنی، م.، کاظمی، ر.، دژندیان، س.، دقیق روحی، ج.، امیری، آ.، ۱۳۸۴. تأثیر وزن بر قابلیت تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۱۴(۴)، ۸۱ - ۹۶.

۸. صیادبورانی، م.، ابطحی، ب.، بهمنی، م.، ۱۳۸۶. تعیین اندازه مناسب رهاسازی بچه‌ماهی آزاد دریای خزر از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۵۴ صفحه.

۹. صیاد بورانی، م.، احمدنژاد، م.، مقصودیه کهن، ح.، دژندیان، س.، ۱۳۹۲. گزارش تعیین اندازه مناسب رهاسازی بچه‌ماهی سفید از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۳۹ صفحه.

۱۰. عطائی مهر، ب.، مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع.، نظامی، ش.، ریاضی، غ.، ۱۳۸۹. اثر شوری‌های مختلف بر میزان املاح، فشار اسمزی، آب بافت بدن، سلول‌های کلراید آبششی و درصد تلفات بچه‌ماهی سفید. مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۲)، ۱۱۵-۱۳۰.

۱۱. غنی نژاد، د.، مقیم، م.، صیادبورانی، م.، عبدالملکی، ش.، ۱۳۸۰. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۸۰-۷۹. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، بندر انزلی، ۹۸ صفحه.

۱۲. کرایوشکینا، ل.، ۱۳۷۸. بررسی سیستم اسمزی ماهیان. گرد آوری دانش خوش اصل، ع. مرادی، م. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، ۸۳ صفحه.

13. ASTM., 1989. American standard methods for examination of water and waste water. American public health association, Washington. 2005.
14. Avella, M., Young, G., Prunet, P., Schreek, C.B., 1990. Plasma prolactin and cortisol concaentration during salinity challenges of coho salmon (Oncorhynchus kisutch) at smolt and post-smolt stages. Elsevier Science publishers B.V. Amesterdam. Aquaculture, 359-370.
15. Cioni, C., Merich, D.De., Cataldi, E., Cataudella, S., 1991. Fine structure of chloride cells in freshwater and saltwater adapted *Oreochromis mossambicus*. Journal of Fish Biology, 39,197-209.
16. Eldon, J.B., 2003. Regulation of renal and lower gastrointestinal function: role in fluid and electrolyte balance.Comparative Biochemistry and Physiology, 136, 499-505.
17. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P., 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acide-base regulation and excretion of nitrogenus waste. Physiological Review, 85, 97-177.
18. Fontaine, Y.A., Pisma, M., LeMoal, C., Rambourg, A., 1995. Silvering and gill mitochondria- rich cells in the eel *Anguilla anguilla*, Cell & Tissue Research, 281(3), 465-471.
19. Hiroi, J., McCormick, S.D., Kaneko, R.O., Kaneko, T., 2005. Functional classification of

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]

mitochondrion-rich cells in euryhaline Mozambique tilapia *(Oreochromis mossambicus*) embryos, by means of triple immunoflurescence staining for Na+, K+, ATPase, Na+,K+,2Cl- cotransporter and CFTR anion channel. The Journal of Experimental Biology, 208, 2023-2036.
20. Jurd, R.D., 2000. Instant notes in animal biology. Biological Science Publications, 140-145.
21. Khodabandeh, S., Shahriari, M., Abtahi, B., 2009a. Changes in chloride cells abundance Na^+, K^+-ATPase immunolocalization and activity in gills of golden grey Mullet, *Liza aurata*, fry during adaptation to different salinities. Yakhteh Medical Journal, 11, 49-54.
22. Laird, L.M., Needham, T., 1988. Salmon and trout farming. Ellis Horwood Limited, 87-116.
23. Laurent, P., Hebebi, N., 1989. Gill morphology and fish osmoregulation. Canadian Journal of Zoology. 67, 3055-3063.
24. Madsen, S.S., Naamansen, E.T., 1989. Plasma ionic regulation and gill Na+, K+, ATPase changes during rapid transfer to seawater of yearing rainbow trout,*salmo gaideri*: Time course and seasonal variation. Journal of fish Biology, 34(6), 829-840.
25. Maetz, J., 1974. Fish gills: mechanisms of salt transfer in fresh water and sea water. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 262, 209-249.
26. McCormik, S.D., Naiman, R.J., 1984. Osmoregulation in the bruke trout, *Salvelinus fontinalis*.2. Effect of size,age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation. Comparative Biochemistry and physiology-A, 79a (1), 17-28.
27. Pelis, R., McCormick, S.D., 2001. Effects of growth hormone and cortisol on Na+,K+- 2Cl- cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic salmon. General and Comparative Endocrinology. 124(2), 134–143.
28. Robert, R.S., 2000. Encyclopedia of aquaculture. 880 p.
29. Shikano, T., Fujio, Y., 1998. Immunolocalization of Na^+, K^+- ATPase in the branchial epithelium of chum salmon fry during seawater and freshwater acclimation. Journal of Experimental Biology, 201, 3031-3040.
30. Thomson, A.J., Sargent, J.R. 1977. Changes in the levels of chloride cells & Na^+,K^+-dependent ATPase in the gills of yellow & silver eels adapting to sea water. Journal of Experimental Zoology, 200, 33-40.
31. Van der Heijden, A.J.H., Verbost, P.M., Eygensteyn, J., Wendelaar Bonga, S.E., Flik, G., 1997. Mitochondria-rich cells in gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) adapted to freshwater or seawater. Quantification by confocal laser scanning microscopy. Journal of Experimental Biology, 200, 55-64.
32. Varsamos, S., 2002. Tolerance rage and osmoregulation in hypersaline conditions in the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Marine Biology, 82,1047-1048.
33. Wong, C.K., Chan, D.K., 2001. Effects of cortisol on chloride cells in the gill epithelium of Japanese eel, *Anguilla japonica*. Endocrinology, 168, 185-192.
34. Wood, C.M., Marshall, W.S., 1994. Ion balance, Acid-base regulation and choloride cell function in the common killifish, *Fundulus heteroclitus* a euryhaline estuarine teleosts. Estauries, 17, 34-52.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-06-30]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1393.8.2.4.2]