اثر مکمل نمک در جیره غذایی بر تغییر بافت‌های آبشش و کلیه بچه ماهی سفید *Rutilus kutum*

سیدمحمدوحید فارابی*[۱]، عباس متین‌فر[۲]، شهریار بهروزی[۲]، منصور شریفیان[۲]، محمود قانعی تهرانی[۲]

۱- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری ، ایران

۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱

چکیده

در این تحقیق از مکمل نمک در خوراک بچه‌ماهیان سفید (حدود یک گرم) در محیط آب شیرین به منظور تأثیر بر آبشش و کلیه برای تحریک سیستم تنظیم اسمزی استفاده گردید. هدف از این تحقیق، افزایش نرخ بقاء بچه ماهیان به هنگام رهاسازی به آب لب‌شور بود. میانگین وزن اولیه بچه ماهیان ۰/۰۱±۰/۹۱ گرم (میانگین±خطای استاندارد) بود. آزمایش در دو مرحله انجام شد. در مرحله یک بچه ماهیان به مدت ۱۵ روز در آب شیرین با غذای تجاری و مکمل نمک کلرید سدیم در ۴ تیمار (تیمار شاهد بدون مکمل نمک، ۵، ۷ و ۱۰ درصد) تغذیه شدند. هر تیمار شامل ۳ تکرار بود. در مرحله دو به آب لب‌شور دریای خزر (۱۲/۵ گرم در هزار) انتقال و به مدت ۲۸ روز با غذای تجاری بدون مکمل نمک تغذیه گردیدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای مرحله یک تغییری در بافت کلیه مشاهده نشد. اما، اختلاف معنی داری بین اندازه گلومرول و لوله های کلیوی بین دو محیط آب شیرین و لب‌شور (بین مرحله یک و دو) مشهود بود ($P<۰/۰۵$). در مرحله یک سلول‌های جانبی آماده تبدیل به سلول کلراید در آبشش در تیمارهای تغذیه شده با مکمل نمکی مشهود بود. در پایان مرحله دو تعداد سلول های کلراید آبشش در تیمار شاهد کمتر از تیمارهای تغذیه شده با مکمل نمک در مرحله یک بود ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که بچه‌ماهیان در تغذیه از مکمل۵ درصد نمک کلرید سدیم در جیره غذایی در مقابل تیمارهای دیگر از نرخ بازماندگی بیشتری برخوردار بودند ($P<۰/۰۵$). بنابراین تغذیه ماهیان سفید انگشت قد در آب شیرین با سطوح پایین مکمل نمک در جیره غذایی سبب تحریک فیزیولوژی و مقاومت ماهی در برابر محیط آب شور می گردد.

کلمات کلیدی: بچه‌ماهیان سفید، مکمل نمک، نرخ بازماندگی، آبشش، کلیه.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) smv_farabi@hotmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

مقدمه

ماهی سفید از گروه ماهیان رود کوچ بوده و جهت تکثیر به آب شیرین رودخانه مهاجرت می کند. از آنجا که رودخانه های کرانه جنوبی دریای خزر به واسطه تخریب زیستگاه و آلودگی، توان اکولوژیک لازم برای تامین بچه ماهیان سفید را ندارند (رضوی صیاد، ۱۳۷۴؛ کرباسی و همکاران، ۱۳۸۹؛ امینی رنجبر و هادیان، ۱۳۸۷؛Emadi, 1979). لذا این ماهی در شرایط کنونی، نیازمند حفاظت گردید (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷) و تکثیر مصنوعی به عنوان یکی از روش‌های حفظ شرایط موجود می باشد. سالانه میلیون‌ها قطعه بچه‌ماهی حاصل از تکثیر مصنوعی پس از پرورش اولیه به رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر رهاسازی می گردند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۴). در سراسر دنیا نیز برنامه هایی برای تولید انبوه ماهیان وحشی در مراکز تکثیر و رهاسازی بچه‌ماهیان به محیط‌های طبیعی جهت افزایش میزان صید تجاری شکل گرفته است (Bell *et al*. 2006). یکی از عمده‌ترین مشکلات در بازسازی ذخایر ماهیان مربوط به تلفات بچه‌ماهیان در زمان رهاسازی از مراکز تکثیر به محیط‌های طبیعی است (Suboski and Templeton, 1989). زیرا بیشترین تلفات بچه‌ماهیان در هنگام ورود به محیط طبیعی اتفاق می‌افتد (Olla *et al*., 1998) و در این راستا بیشترین تلفات مربوط به چند روز اول و یا چند هفته اول، بعد از رهاسازی است (Howell, 1994). ضعف شرایط فیزیولوژی و سازگاری ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی به محیط جدید از مهمترین عوامل مرگ و میر بچه‌ماهیان در مراحل اولیه زندگی است (Munro and Bell, 1997). این عوامل ممکن است از نارسایی غذایی حاصل گردد، همانطور که محیسنی و همکاران (۱۳۹۵) عدم موفقیت بچه ماهیان (نیم گرمی) گرسنه در سازش‌پذیری با آب لب‌شور دریای خزر را نشان دادند. زیرا ظرفیت سازش پذیری ماهیان استخوانی یوری هالین به تغییرات شوری محیط به محتوای انرژی بدن ماهی وابسته است (Sangiao-Alvarellos *et al*., 2005). شوری یکی از عوامل مهم در محیط زیست ماهیان محسوب می گردد و ماهیان در مهاجرت به همراه تغییر شوری محیط نیازمند مکانیسمی جهت سازگاری یا تنظیم اسمزی در شرایط جدید هستند (ستاری، ۱۳۸۱). اگرچه سیستم تنظیم اسمزی در ماهیان با کمک سلول های پوششی معده ای_ روده‌ای[1] و کلیه صورت می‌پذیرد، اما آبشش‌ها مهمترین مکان تبادل و تنظیم یون‌ها می‌باشند (Evans *et al*., 1999). تنظیم فشار اسمزی فرآیند پیچیده‌ای است که بطور همزمان سبب تغییرات بافتی، هورمونی، یونی، آنزیمی و متابولیتی موجودات آبزی می‌شود و نتیجه این تغییرات در میزان تلفات ظاهر می گردد (Evans, 2002). یکی از روش‌های متداول در دنیا برای تحریک سیستم تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان قبل از انتقال به آب شور، تغذیه با استفاده از نمک در جیره غذایی است. بررسی Zaugg و همکاران (۱۹۸۳) نشان داد که در استفاده از جیره نمکی (۷٪ کلرید سدیم، ۵٪ کلرید سدیم و ۲٪ کلرید پتاسیم) در تغذیه بچه‌ماهیان (*Oncorhynchus tshawytscha*) Chinook salmon، به مدت ۲۸ روز، میزان فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase آبشش و میزان بقاء بچه ماهیان تغذیه شده با جیره نمکی در انتقال مستقیم از آب شیرین به آب دریا افزایش داشته است. Pellertier و Besner (۱۹۹۲) در تغذیه از جیره نمکی در ماهی Brook charr (*Salvelinus fontinalis*) نشان

[1] Gastrointestinal epithelium

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

دادند که ٪۸ و ٪۱۲ کلرید سدیم در جیره و تغذیه به‌مدت ۶ هفته و همچنین نگهداری بچه ماهیان به‌مدت ۶ روز در آب لب شور سبب سازگاری بهتر و افزایش بقاء بچه ماهیان ٪۹۰-۲۵ در انتقال از آب شیرین به آب شور دریا شد. Perry و همکاران (۲۰۰۶) در استفاده از جیره نمکی در ماهی بعنوان فریب ماهی در آب شیرین نام بردند، که سبب می‌گردد تا ماهی اندام‌های مربوط به تنظیم اسمزی را فعال نماید. در بررسی پاتولوژی (TEM) و ایمنوهیستولوژی بافت آبشش ماهی قزل آلای رنگین‌کمان نشان داد که درصد سطوح سلول های کلراید (MRC) و فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase در تغذیه ماهیان با ٪۱۱ کلرید سدیم در جیره افزایش یافته است. در نتیجه‌گیری عنوان نمودند که جیره نمکی در محیط آب شیرین سبب آمادگی بچه ماهیان جهت آداپتاسیون با آب شور شده و ساختمان آبشش را تغییر می‌دهد. Santos و همکاران (۲۰۱۴) اثر مکمل نمک کلرید سدیم (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد از وزن خشک جیره اصلی) را بر روی تغییرات بافت آبشش و تنظیم اسمزی بچه ماهی Cobia در آب لب-شور (۵ گرم در لیتر) مورد ارزیابی قرار دادند. بررسی آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase در گروه بدون مکمل نمک بیشتر بود و در مقابل تعداد سلول‌های کلراید در گروه استفاده کننده از مکمل نمکی بیشتر بود، به‌طوری‌که در جیره مکمل ٪۱۰ نمک کلرید سدیم تعداد سلول به ۴۱ عدد در میلی‌متر مربع رسید، در صورتی‌که، در گروه بدون استفاده از مکمل نمک ۱۶ عدد در میلی‌متر مربع بود. این فرآیند سبب کاهش مصرف انرژی در جریان تنظیم اسمزی می‌گردد و بر رشد بچه‌ماهیان تأثیرگذار است. Mzengereza و Kang'ombe (۲۰۱۵) اثر مکمل نمک کلرید سدیم (۰، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) را بر رشد، بقاء و تغذیه عملی برای تعیین بازدهی غذا بر بچه‌ماهیان ۰/۳۴±۱۲/۳۲ گرمی گونه *Oreochromis shiranus* (Trewavas, 1941) در مدت ۹۰ روز مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد بیشترین بقاء در گروه بدون مکمل نمکی (۹۷/۷ درصد) و کمترین بقاء در گروه مکمل نمکی ٪۱ (۹۴/۸ درصد) بدست آمد. این مطالعه نشان داد که مکمل نمک کلرید سدیم می‌تواند رشد ماهی را ارتقاء ببخشد و از سوی دیگر مقادیر زیادتر مکمل نمکی کلرید سدیم (٪۲) سبب رشد منفی در این ماهی گردد.

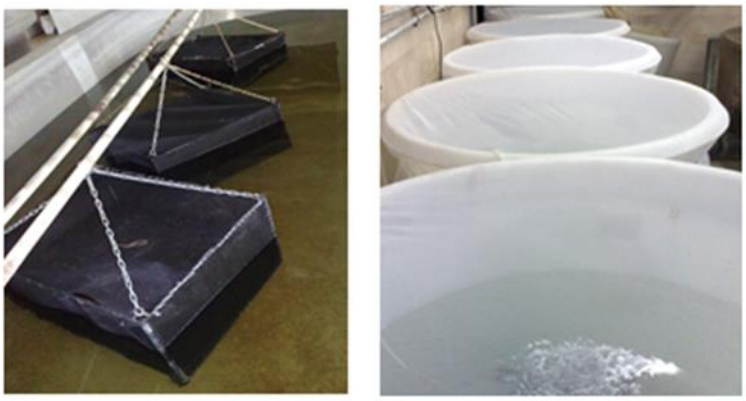
بنابراین، هدف از این پژوهش تحریک و فعال-سازی سیستم تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان سفید با استفاده از نمک در جیره غذایی در آب شیرین در قبل از ورود به آب لب شور دریا بوده که سبب کاهش تلفات احتمالی آن‌ها هنگام رهاسازی به محیط طبیعی می-گردد.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهیان از مجتمع تکثیر و پرورش شهید رجایی در فاصله ۱۵ کیلومتری شهرستان ساری در استان مازندران واقع در حوضه جنوبی دریای خزر با دامنه وزنی ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم تهیه و به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال یافت. آب شیرین از رودخانه تجن و آب لب‌شور از دریای خزر تأمین گردید. جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز محیط آزمایش از پمپ هواساز مرکزی استفاده گردید. طی دوره آزمایشات پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب (اکسیژن محلول، pH، دمای آب، شوری و یون آمونیوم) با استفاده از دستگاه دیجیتال (Palintest مدل ۷۵۰۰)

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها در دو مرحله انجام شد. مرحله یک در مخازن مدور ۳۰۰ لیتری، محتوی ۱۲۰ لیتر آب شیرین و مرحله دو در قفس‌های شناور با حجم ۶۰ لیتر مستقر در مخازن ۱۶ متر مربعی با حجم آبگیری ۸۰۰۰ لیتر(۰/۵×۴×۴ متر) و آب لب‌شور دریای خزر انجام شد (شکل۱). جریان آب در مخازن ۳۰۰ لیتری مدور، ۳ لیتر در دقیقه و در شبانه روز ۵۰ درصد آب آن‌ها تعویض گردید. جریان آب در مخزن ۱۶ متر مربعی ۰/۵ لیتر در ثانیه و در شبانه‌روز حدود ۰/۱۲ آب مخزن تعویض گردید، زیرا به‌ازای هر ماهی حدود ۲۲ لیتر آب در مخزن موجود بود. هر تیمار آزمایشی شامل سه تکرار و در مرحله یک هر تکرار دارای ۶۰ قطعه بچه‌ماهی با تراکم یک قطعه بچه‌ماهی در دو لیتر آب و در مرحله دو به تعداد ۳۰ قطعه در هر قفس بود.



شکل ۱: محیط آزمایش در آب شیرین (راست: وان های ۳۰۰ لیتری) و لب‌شور (چپ: قفس های ۶۰ لیتری در مخزن ۱۶ متر مربعی)

در شروع آزمایش (مرحله یک) پس از انتقال و بیومتری اولیه، بچه ماهیان به‌مدت ۳ روز جهت پذیرش محیط جدید، نگهداری و غذادهی شدند. سپس ۲۴ ساعت قبل از معرفی بچه‌ماهیان به تیمارهای آزمایشی، غذادهی قطع گردید (McKenzi *et al*., 1999).

در مرحله یک آزمایش بچه‌ماهیان در یک گروه وزنی (۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم) و با تغذیه از چهار سطح مکمل نمک کلرید سدیم در جیره غذایی (۰، ۵، ۷ و ۱۰ درصد جیره پایه) در آب شیرین به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. در ادامه و در مرحله دو بچه‌ماهیان در چهار گروه فوق‌الذکر در آب لب‌شور دریای خزر (شوری ۰/۲۱±۱۲/۵ گرم در هزار) در مدت ۲۸ روز و با تغذیه از جیره پایه، جهت تعیین درصد بازماندگی نگهداری و مورد ارزیابی قرارگرفتند (Zaugg *et al*., 1983; Perry *et al*., 2006; Mzengereza and Kang'ombe, 2015).

غذای پودری بچه‌ماهی سفید از غذای متداول مجتمع تکثیر شهید رجائی ساری که در کارخانه غذای دام و آبزیان واقع در شهرستان ساری تولید شده، استفاده گردید. حدود ترکیبات غذا شامل: رطوبت ۱۰ درصد، پروتئین خام[1] ۳۷ درصد، چربی[2] ۱۱ درصد، خاکستر[3] ۱۲ درصد و ازت آزاد[4] ۳۰ درصد و با انرژی ۳۳۰۰ کالری بر کیلوگرم[5] بود.

[1] Crude Protein
[2] EE (Eter Extract)
[3] Ash
[4] NFE(Nitrogen Free Extract)
[5] SFK

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

جیره نمکی از طریق تهیه محلول نمک در آب و با استفاده از اسپری روی غذای خشک، آماده شد. پس از اسپری محلول نمک روی غذا، غذای حاوی نمک در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. بدین‌ترتیب جیره نمکی در سه نسبت (۵، ۷ و ۱۰ درصد) تهیه گردید.

در مرحله یک بچه‌ماهیان به‌مدت ۱۰ روز به‌تدریج با غذای آزمایشی (بدون نمک و با نمک) تغذیه شدند. به‌طوری‌که جهت حصول تیمارهای آزمایشی ٪۵ نمک: پنج روز غذای بدون نمک و از روز ششم تا دهم هر روز ٪۱ نمک به غذا اضافه گردید. بنابراین، در تیمار ٪۷ نمک: از روز چهارم و در تیمار ٪۱۰ نمک از روز اول تا روز دهم به میزان ٪۱ نمک اضافه شد. سپس از روز دهم به‌مدت ۵ روز تا روز پانزدهم بچه-ماهیان با مکمل نمکی طبق درصدهای نهایی فوق تغذیه گردیدند. جهت کسب انرژی مساوی توسط بچه‌ماهیان از خوراک در تیمارهای آزمایشی، نمک اضافی به درصد جیره پایه افزوده شد (Mzengereza and Kang'ombe, 2015). غذادهی به نسبت ۴ درصد میانگین وزن بدن ماهیان در تیمار یک (شاهد و بدون استفاده از مکمل غذایی) و براساس وزن ماهی تعیین و در دو نوبت صبح و عصر غذادهی بچه‌ماهیان صورت گرفت (جدول. ۱).

در مرحله دو بچه‌ماهیان در ابتدا به مخزن ۱۶متر مربعی حاوی آب شیرین منتقل و بتدریج آب لب شور دریای خزر در طول ۴۸ ساعت افزوده و کاملاً جایگزین آب شیرین گردید (شکل ۱). سپس بچه-ماهیان به‌مدت ۲۸ روز (مرحله دوم) با غذای پایه (بدون مکمل نمک) در آب لب‌شور دریای خزر نگهداری و تغذیه شدند (جدول ۱) و در پایان آزمایش درصد بازماندگی تیمارهای آزمایشی تعیین شد (Ai *et al.*, 2006).

جدول۱: معرفی بچه ماهیان سفید در دو مرحله آزمایش (آب شیرین و لب‌شور) در تیمار ها

وزن اولیه (میلی‌گرم)	مراحل آزمایش	شوری آب محیط آزمایش	تغذیه تیمارها	
۸۰۰-۱۰۰۰	مرحله یک	آب شیرین	تیمار۱	تغذیه بدون مکمل نمکی
			تیمار ۲	تغذیه با مکمل نمکی ۵ درصد
			تیمار ۳	تغذیه با مکمل نمکی ۷ درصد
			تیمار ۴	تغذیه با مکمل نمکی ۱۰ درصد
۱/۲۵±۰/۰۱	مرحله دو	آب لب‌شور	تیمار۱ تیمار ۲ تیمار ۳ تیمار ۴	انتقال بچه‌ماهیان با ترکیب مرحله یک آزمایش به مرحله دو آزمایش و تغذیه با غذای پایه (بدون مکمل نمک)

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

در پایان مرحله یک و دو آزمایش جهت تهیه مقطع و بررسی بافت‌های آبشش و کلیه به‌تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی به‌صورت تصادفی از هر تیمار نمونه-برداری به‌عمل آمد. نمونه به‌طور کامل[1] در فرمالین‌بافر خنثی ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و کاملاً تثبیت گردید (پوستی و مرادی، ۱۳۸۵: پوستی و مروستی، ۱۳۷۸). در ابتدا نمونه های تثبیت شده توسط دستگاه اتوتکنیکال (Shandon مدل ۱۰۰۰ : Citadel ساخت انگلستان) آماده‌سازی و برای قالب‌گیری با پارافین آماده گردید. برش بافت با میکروتوم دوار (Shandon ساخت انگلستان) به ضخامت ۶ میکرومتر به‌عمل آمد و روی لام قرار داده شد. بعد از برش جهت ذوب‌شدن پارافین، به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰ – ۵۴ درجه سانتی‌گراد به داخل آون (Memmert ساخت آلمان) انتقال داده‌شد. سپس به‌روش رنگ-آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی و جهت بررسی‌های میکروسکوپی آماده گردید (پوستی و مرادی، ۱۳۸۵؛ Roberts, 2001؛ Bancroft and Gamble, 2002). قابل ذکر است که از قسمت میانی کلیه مقطع بافتی تهیه شد. سپس سلول-های آبشش و کلیه بچه ماهیان بر اساس بافت شناسی کاربردی (Young and Heath, 2000) و اطلس هیستوپاتولوژی ماهی (Takashima and Hibiya, 2001) مورد بررسی قرار گرفتند. قطر بزرگ گلومرول بر حسب میکرومتر در برش‌های بافتی کلیه میانی بچه-ماهیان در تیمارهای مختلف مرحله یک و دو آزمایش اندازه گیری شد (Charmi *et al*., 2009; Krayushkina *et al*., 1996; Cataldi *et al*., 1995). همچنین اندازه‌گیری قطر سلول‌های کلراید آبششی (بزرگترین قطر) در پایان مرحله یک و دو انجام شد. اندازه‌گیری پس از عکس‌برداری از مقاطع گرفته شده با استفاده از میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی ۴۰۰ (۱۰×۴۰)، با استفاده از نرم افزار: KLONK Image Measurment (12.2.1.8) انجام شد.

در این بررسی از طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل (CRD[2]) استفاده گردید و جهت ثبت اطلاعات و تعیین آمار توصیفی داده ها از نرم‌افزار Excel, 2010 و جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از برنامه آماری Spss (Version.18) استفاده شد. درصد بازماندگی، اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش و اندازه گلومرول کلیه تحت آزمون F مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه میانگین پارامتر های مورد سنجش در تیمارهای آزمایشی پس از معنی‌دار بودن، از طریق آزمون دانکن[3] و مقایسه مرحله یک و دو با استفاده از آزمون t در سطح پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

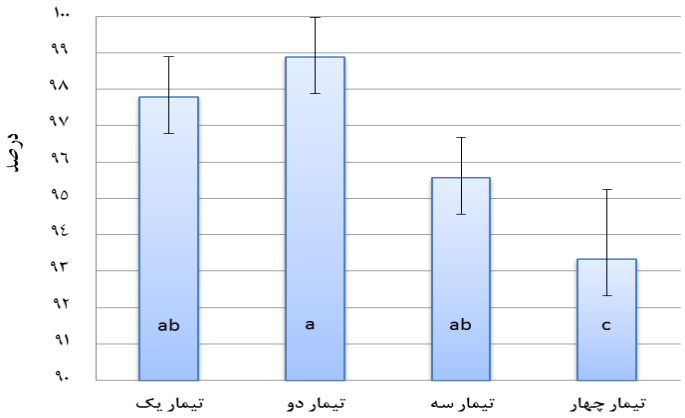
تلفات در بچه‌ماهیان سفید در تیمارهای آزمایشی مرحله یک (۱۵ روز اول) مشاهده نشد. نتایج نشان داد که بچه‌ماهیان سفید در استفاده از مکمل نمک در جیره غذایی به‌نسبت ۵، ۷ و ۱۰ درصد مقاوم بودند. در مرحله دو تلفات محدودی در تیمارهای آزمایشی طی ۲۸ روز دوره پرورش رخ داد. در نتیجه درصد بقاء بچه‌ماهیان در تیمارهای آزمایشی طی دوره آزمایش (یک و دو) به‌مدت ۴۳ روز به‌شرح شکل ۲ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین درصد بقاء در تیمار ۲ و کمترین درصد بقاء در تیمار ۴ بدست آمد ($P<0/05$) و سه تیمار ۱، ۲

[1] Whole - body

[2] Complete Random Design
[3] Duncan Test

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

و ۳ دارای اخـــتلاف معنـــی داری نبودنـــد(P>۰/۰۵)، (شکل ۲).



شکل ۲. درصد بقاء بچه‌ماهیان سفید در پایان ۴۳ روز تغذیه با مکمل نمکی در آب شیرین و پرورش در آب لب‌شور بدون مکمل نمکی در تیمارهای آزمایشی (خطای استاندارد±میانگین)

(تیمار۱: بدون مکمل نمکی در مرحله یک، تیمار۲، ۳ و ۴: به‌ترتیب استفاده از مکمل نمکی در مرحله یک آزمایش به‌میزان ۵، ۷ و ۱۰ درصد جیره پایه، حروف لاتین نماینده اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است)

بررسی‌ها نشـان داد کـه در بافـت کلیـه بچـه‌ماهیـان سفید در هر دو مرحله آزمایش با مکمل نمکی و بـدون آن (شـــاهد)، اکثـــر فضـــای کلیـــوی را توبـــول‌هـــای مزونفریک احاطه کرده‌انـد. همچنـین گلـومرول نیـز در تیمارهای آزمایشـی در دو مرحلـه مشـاهده گردیـد. امـا تفـاوتی در مقـاطع بـافتی کلیـه در مرحلـه یـک و دو آزمایش بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردیـد و کلیـه بچه‌ماهیان سفید تغییری با استفاده از جیره نمکی در ایـن آزمایش نشان نداد، اما تفاوت‌هایی در اندازه گلومرول-ها و فضای داخلی لولـه‌هـای پروکسـیمال و دیسـتال در مرحلـه دو آزمـایش نسـبت بـه مرحلـه یـک در تمـام تیمارهای آزمایشی مشاهده شد (جدول۲)، (شکل۳).

جدول۲: اندازه گلومرول (بر حسب میکرومتر) در برش‌های قسمت میانی کلیه بچه‌ماهیان سفید در آب شیرین و لب‌شور

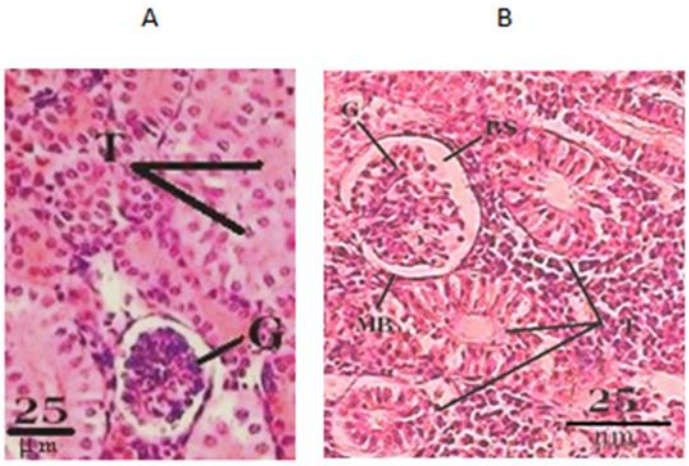
تیمارهای آزمایشی	آب شیرین			آب لب شور		
	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین
یک	۳۲/۲	۴۳/۵	۳۶/۳±۱/۲۳	۲۵/۴	۳۲/۴	۲۶/۹±۰/۶۴
دو	۳۱/۵	۴۳/۳	۳۶/۱±۱/۱۳	۲۵/۳	۳۲/۶	۲۶/۶±۰/۶۹
سه	۳۱/۶	۴۲/۷	۳۶/۱±۱/۰	۲۴/۴	۳۳/۷	۲۷/۱±۰/۹۵
چهار	۳۱/۱	۴۲/۸	۳۶/۱±۱/۰۳	۲۳/۹	۳۱/۳	۲۶/۵±۰/۷۱

✹آب شیرین: تیمار یک بدون تغذیه از مکمل نمکی و تیمار دو، سه و چهار با استفاده از مکمل نمکی بترتیب به‌مقدار ۵، ۷ و ۱۰ درصد غذا به مدت ۱۵ روز، آب لب شور دریای خزر: تغذیه بدون مکمل نمکی به مدت ۲۸ روز

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بـین میـانگین اندازه گلومرول بافت کلیه در تیمارهـا در آب شـیرین و همچنین در آب شور وجود نداشت (P>۰/۰۵). اما بـین اندازه گلومرول در مرحله یـک (آب شـیرین) و مرحلـه دو (آب لب‌شور) تحت آزمـون t اخـتلاف معنـی‌دار در سـطح اطمینـان ۹۵ درصـد وجـود داشـت (P<۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

همچنین در هر چهار تیمار در مرحله دو آزمایش افزایش اندازه لوله‌های کلیه و فضای داخلی آن‌ها در آب لب‌شور نسبت به آب شیرین مشهود بود.

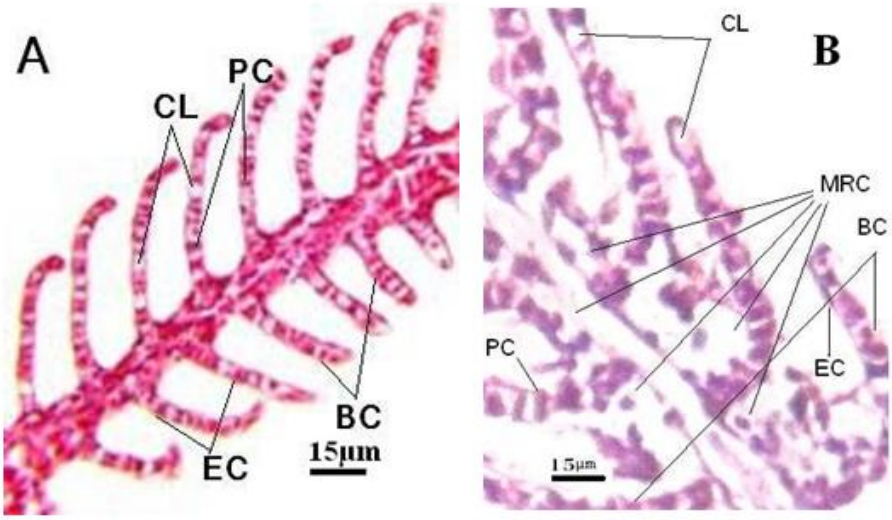


شکل ۳: مقطع میکروسکوپی بافت کلیه بچه‌ماهی سفید در آب شیرین (A: مرحله یک، ۱/۲۵ گرم) و پس از ۲۸ روز پرورش در آب لب‌شور دریای خزر با شوری ۱۲/۵ گرم در هزار (B: مرحله دو، ۲ گرم)
(تثبیت شده در فرمالین و رنگ‌آمیزی به‌روش هماتوکسلین ائوزین، بزرگ نمائی ۴۰۰x)
گلومرول (G: Glomerulus)، توبول (T: Tubules)، فضای بومن (BS: Bowmans Space)، جسم مالپیگی (MB: Malpighian Body)

سلول‌های کلراید (MRC[1]) در بافت آبشش بچه ماهیان سفید در آب‌شیرین و لب‌شور، مشاهده گردید و تیغه های ثانویه غیرطبیعی در تیمارهای آزمایشی مشهود نبود. همچنین سلول‌های کلراید در بخش پایه تیغه‌های ثانویه مشاهده شدند (شکل۴). در ماهیان تغذیه شده با مکمل نمکی در آب شیرین، در بافت آبشش برآمدگی‌هایی حاصل از سلول‌های آماده[2] تبدیل به سلول‌های کلراید وجود داشت، به‌طوری‌که در تیمار چهار بزرگترین قطر برآمدگی و در تیمار یک کوچکترین قطر برآمدگی ($P<۰/۰۵$) مشاهده گردید و اندازه این برآمدگی‌ها در تیمارهای دو و سه نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ($P>۰/۰۵$). اندازه سلول کلراید در آب لب‌شور در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری نبود ($P>۰/۰۵$). همچنین تعداد سلول‌های کلراید در گروه های تغذیه شده با مکمل نمکی (تیمارهای دو، سه و چهار) بیشتر بود، به‌طوری‌که میانگین تعداد سلول‌های کلراید در این گروه ۴۸۴۶ عدد در میلی‌متر مربع و درصورتی‌که در گروه شاهد ۳۵۰۰ عدد در میلی‌متر مربع بود. این فرآیند سبب تنظیم بهتر اسمزی در ماهیان می‌گردد (جدول ۴).

[1] MRC: Mitochondria-Rich Cells
[2] Accessory cells

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]



شکل۴: مقطع میکروسکوپی بافت آبشش بچه ماهی سفید (۲گرمی) در آب شیرین (**A**) و لب‌شور (**B**) ۱۲/۵ گرم در هزار (رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین ائوزین)

سلول پیلار (PC: Pillar Cell)، سلول اپیتلیال (EC: Epithelial Cell)، سلول خونی (BC: Blood Cell)، سلول میتوکندری (MRC: Mitochondria-Rich Cell)، حفره باریک (CL: Capillary Lumen)

جدول ۳: اندازه و تعداد سلول و بر آمدگی سلولی کلراید آبشش بچه‌ماهیان سفید در آب شیرین و آب لب شور (در آب شیرین تیمار یک بدون تغذیه از مکمل نمکی و تیمار دو، سه و چهار با استفاده از مکمل نمکی کلرید سدیم به‌ترتیب به مقدار ۵، ۷ و ۱۰ درصد غذا و تغذیه در آب لب‌شور بدون مکمل نمکی)

شرح	تیمارهای آزمایشی	آب شیرین (بر آمدگی سلولی)	آب لب‌شور (سلول)
اندازه (میکرومتر)	یک	۵/۴۴±۰/۰۶ ^{c}	۸/۰۱±۰/۱۱ ^{a}
	دو	۶/۴۷±۰/۰۶ ^{ab}	۸/۰۵±۰/۱۰ ^{a}
	سه	۶/۵۶±۰/۰۶ ^{ab}	۸/۰۶±۰/۱۰ ^{a}
	چهار	۶/۸۴±۰/۰۷ ^{a}	۸/۰۷±۰/۱۰ ^{a}
تعداد (در میلی‌متر مربع)	یک	–	۳۵۰۰±۱۴۸ ^{b}
	دو	–	۴۸۶۰±۱۸۰ ^{a}
	سه	–	۴۸۰۰±۱۶۴ ^{a}
	چهار	–	۴۸۸۰±۱۶۶ ^{a}

✹حروف لاتین در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها تحت آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

بحث

به‌طور کلی، با ورود ماهی از آب‌شیرین به آب‌شور تغییراتی در سیستم تنظیم یونی- اسمزی ماهیان رود کوچ بوجود می‌آید. این فرآیند سبب تغییر حالت از هایپراسموتیک (در آب شیرین) به‌حالت هیپواسموتیک (در آب شور) در ماهی می‌گردد (Hwang *et al.*, 2007). همچنین در عرصه تعادل با محیط جدید، علاوه بر دخالت پیام‌های عصبی و هورمونی، ماهیان نیازمند تغییراتی در اندام‌های مختلف جهت سازش‌پذیری با محیط جدید هستند. این قابلیت ها به جنس، گونه، سن و اندازه (وزن و طول) هر ماهی بستگی دارد و در طی این فرآیند یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم وارد بدن ماهی گشته و ماهی جهت بقاء و حفظ تعادل نیازمند دفع آن از طریق آبشش (یون‌های تک ظرفیتی) و کلیه (یون‌های دو ظرفیتی) است. این مکانیسم مورد تأیید گزارشات علمی متعددی است (Svasand *et al.*, 2000; Sanchez-Lamadrid, 2002; Farabi *et al.*, 2007 and 2009).

اما آنچه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت، استفاده از مکمل نمکی برای تحریک سیستم تنظیم_یونی اسمزی برای آمادگی معرفی بچه‌ماهیان سفید از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر بوده است که توسط Perry و همکاران (۲۰۰۶) از آن بعنوان فریب ماهی در آب‌شیرین نام بردند، بدین ترتیب که با این عمل ماهی اندام مربوط به تنظیم یونی- اسمزی خود را فعال نماید. آن‌ها نشان دادند که اندازه سلول کلراید آبشش و همچنین میزان فعالیت آنزیم $Na^+ + K^+$ - ATPase در تغذیه ماهیان با مکمل ۱۱٪ کلرید سدیم در جیره افزایش یافته است. این فرآیند توسط دانشمندان متعددی و با استفاده از درصدهای مختلفی از مکمل نمکی در گونه‌های مختلف ماهی با اندازه‌های متفاوت مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج مشابه‌ای در برداشته است. به‌طوری‌که مکمل نمکی در جیره غذایی ماهی در محیط آب شیرین سبب آمادگی بچه‌ماهیان جهت سازگاری با آب شور شده و ساختمان اندام‌های دخیل در تنظیم یونی- اسمزی را تغییر می‌دهد و بر کارایی رشد ماهی نیز مؤثر است (Applebaum and Jesuarockiaraj, 2009: Keshavanath *et al.*, 2012: Santos *et al.*, 2014: Mzengereza and Kang'ombe, 2015).

ماهی سفید از جمله ماهیان رودکوچ است و بچه-ماهیان جهت ادامه زندگی مجبور به مهاجرت از آب شیرین، به آب لب‌شور دریای خزر هستند. یکی از سنجش های اصلی در سازش‌پذیری این بچه‌ماهیان به محیط جدید، آمادگی لازم برای پذیرش آب لب‌شور است. گزارشات علمی متعددی حاکی از پذیرش بهتر محیط آب شور با افزایش وزن بچه‌ماهی سفید وجود دارد (ایمانپور، ۱۳۸۴: عنایت غلامپور [1] و همکاران، ۱۳۹۰: صیادبورانی، ۱۳۸۹: فارابی و همکاران، ۱۳۹۳: صیادبورانی و همکاران، ۱۳۹۳).

به‌طور کلی، سلول‌های کلراید آبششی در پاسخ به تغییرات شوری محیط تغییراتی در اندازه، تعداد، شکل و نحوه توزیع آن‌ها پدید آمده و به‌طور کلی توسعه پیدا نموده و به‌شکل قابل توجهی افزایش در تعداد و اندازه آن‌ها ایجاد می‌گردد (McCormick, 2001: Wang *et al.*, 2009).

ایمانپور (۱۳۸۴)، با بررسی تنش شوری روی بچه-ماهیان سفید ۰/۵ تا سه گرم و امیری و همکاران (۱۳۸۷) بر بچه‌ماهیان سفید یک گرمی در شوری‌های ۱۰ppt و کمتر از آن نشان دادند که توانایی سازگاری

[1] Hosseini

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

(درصد بازماندگی بیش از ۹۵ درصد) و رشد خوبی برای بچه‌ماهیان در چنین شرایطی وجود دارد. البته ایمانپور (۱۳۸۴) نشان داد که با افزایش وزن از ۰/۵ تا ۳ گرم تعداد سلول‌های کلراید به‌طور معنی داری افزایش داشته است که به‌عبارتی با درصد بازماندگی بچه‌ماهیان و افزایش تعداد و قطر سلول‌های کلراید در مرحله دو آزمایش (آب لب شور) در این بررسی مطابقت دارد (جدول۳).

اما بررسی های بافتی آبشش و کلیه در این تحقیق نشان داد که بچه ماهیان تحت تغذیه از مکمل نمک کلرید سدیم (مرحله یک) و تنش شوری آب (مرحله دو)، تغییراتی در ساختار آن‌ها پدید آمد. بررسی‌های فارابی و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که برخی از بچه-ماهیان سفید کمتر از یک گرم بخصوص در اوزان کمتر از ۰/۵ گرم در انتقال مستقیم از آب شیرین به آب لب‌شور دریای‌خزر به میزان بیشتری دچار تخریب بافت آبششی شدند. اما در این بررسی تخریب در بافت آبشش مشاهده نگردید. دلیل این موضوع ممکن است بواسطه معرفی بچه‌ماهیان بیش از ۱/۲۵ گرم به آب لب-شور باشد که با مطالعات بهروزی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد.

Daborn و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که در زمان انتقال ماهی از آب شیرین به شور، سلول‌های کلراید آبششی از تمایز سلول‌های سنگفرشی ایجاد می‌شوند و پس از تماس با آب شور نرخ این تمایز افزایش یافته و با گذشت زمان تعداد سلول‌های کلراید آبششی افزایش می‌یابد. همچنین Foskett و همکاران (۱۹۸۱) نشان دادند که پس از گذشت چند روز مواجهه با آب شور، تعداد سلول‌های کلراید به حد ثابتی رسیده و از این پس نرخ افزایش در اندازه سلول تسریع می‌گردد. در این بررسی با تغذیه تیمارهای ۲، ۳ و ۴ از مکمل نمک در مرحله یک آزمایش در محیط آب شیرین برآمدگی‌هایی در سلول‌های آماده تبدیل[1] به سلول‌های کلراید بوجود آمد، که این پدیده در تیمار یک یا شاهد (بدون تغذیه از مکمل نمک) مشاهده نگردید. این برآمدگی در تیمار شماره چهار با درصد بالاتر(۱۰٪) تغذیه از مکمل نمکی مشهودتر بوده است (جدول ۳). اما اندازه این سلول‌ها پس از گذشت ۲۸ روز دوره پرورش در آب لب‌شور در چهارتیمار آزمایشی در پایان مرحله دو فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد که در این مدت بچه‌ماهیان سفید در تیمار شاهد توانایی لازم جهت تنظیم یونی- اسمزی را کسب نموده‌اند. این نتیجه با بررسی‌های محیسنی و همکاران (۱۳۹۵) بر بچه‌ماهی سفید مطابقت دارد. بررسی آن‌ها نشان داد که بچه‌ماهی سفید در مواجهه با آب لب‌شور تا روز چهارم مواجهه با آب لب‌سور، افزایش تعداد سلول‌های کلراید آبششی در آن‌ها مشهود است و پس از آن تا روز هفتم، به سطح نسبتاً ثابتی می‌رسند. همچنین نشان دادند که تعداد سلول‌های کلراید آبششی در ماهیان تغذیه‌شده تا روز چهارم مواجهه با آب لب‌شور بیشتر از ماهیانی بود که تا روز چهارم تغذیه نشدند. اطلاعات بدست آمده آن‌ها با مطالعاتFoskett و همکاران (۱۹۸۱) در بررسی میزان تمایز سلول‌های کلراید آبششی در ماهی سیچلید (*Sarothodon mossambicus*) در زمان تطبیق با آب شور مطابقت دارد. ماهی سیچلید (*Sarothodon mossambicus*) تنها تا روز سوم پس از مواجهه با آب شور افزایشی در تعداد سلول‌های کلراید آبششی نشان داده است. همچنین Trombetti و همکاران (۱۹۹۶)

[1] Accessory cells

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

تاثیر مکمل نمکی کلرید سدیم (۱۰٪) بر تنظیم اسمزی ماهی قزل آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم $(Na^+ + K^+)$-ATPase آبششی در تغذیه با مکمل نمکی کلرید سدیم بیشتر، ولی تعداد سلول‌های کلراید آبششی در پایان آزمایش در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت. اما در این بررسی در تغذیه از مکمل نمکی در آب‌شیرین سبب گردید که در ۲۸ روز پرورش بچه-ماهیان سفید در آب لب‌شور تعداد سلول‌های کلراید آبششی نسبت به تیمار شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار گردد ($P<0/05$)، (جدول ۳). نتایج این تحقیق با بررسی‌های Santos و همکاران (۲۰۱۴) در تغذیه از مکمل نمک کلرید سدیم بر روی تغییرات بافت آبشش و تنظیم اسمزی بچه ماهی Cobia در آب لب‌شور و افزایش تعداد سلول های کلراید در گروه استفاده کننده از مکمل نمکی مطابقت دارد. آن‌ها معتقدند که این فرآیند سبب کاهش مصرف انرژی در جریان تنظیم اسمزی می‌گردد و بر رشد بچه ماهیان تاثیرگذار است. زیرا توسعه تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبششی، افزایش سطح فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی را به دنبال دارد. مطالعات Fontainhas-Fernandes و همکاران (۲۰۰۰) نیز به نتایج مشابهی تغذیه از مکمل نمکی و انتقال به آب لب‌شور در ماهی نیل تیلاپیا دست یافتند.

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر جیره نمکی در آب شیرین در افزایش تعداد سلول کلراید در بافت آبشش در مواجهه با آب لب‌شور در گونه‌های مختلف و احتمالاً در اندازه‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد. ولی تأثیر آن به‌طورکلی سبب تغییر در عملکرد آبشش برای تنظیم بهتر یونی- اسمزی در مواجهه با آب شور و یا لب‌شور می‌گردد.

کلیه ماهیان به‌عنوان یکی از مهمترین اندام‌های بدن ماهی جهت سازگاری موجود با محیط‌های مختلف است (Sveltana, 2006). بافت کلیه بچه‌ماهیان سفید در مرحله یک آزمایش تغییر نکرده است و با ورود بچه‌ماهیان به آب لب‌شور تغییراتی در بافت کلیه در چهارتیمار آزمایشی با افزایش حفره داخلی توبول‌های کلیوی (پروکسیمال و دیستال) و همچنین کاهش قطر گلومرول‌ها (شکل۳) و در راستای سازش‌پذیری در آب لب‌شور مشاهده گردید. عدم تغییر ساختار کلیه در مرحله یک احتمالاً بدلیل عدم وظیفه‌مندی کلیه در دفع یون‌های تک ظرفیتی (یون سدیم و کلر) است. زیرا در تنظیم یونی - اسمزی در محیط آب شیرین، عمدتاً جذب یون‌های تک ظرفیتی برای انتقال به سرم خون ماهیان از آبشش‌ها و از کلیه‌ها دفع زیاد آب صورت می‌گیرد و در تنظیم یونی - اسمزی ماهیان در محیط آب شور نیز عمدتاً ترشح یون های تک ظرفیتی مازاد سرم خون ماهیان به آب از آبشش‌ها و ترشح یون‌های دوظرفیتی از کلیه‌ها صورت می‌گیرد (McCormick, 2001).

در تحقیقی که توسط Stoskopf (۱۹۹۳) انجام شد، نشان داد که اندازه گلومرول‌ها در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت می‌باشد، اما ماهیان استخوانی آب شیرین از تعداد گلومرول بیشتر و بزرگتری نسبت به ماهیان دریازی برخوردارند. در این بررسی تغییر اندازه گلومرول بچه ماهیان سفید در اندازه‌های مختلف و در آب لب‌شور نسبت به آب شیرین مشاهده گردید (جدول ۲).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

قهرمان‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) در دو محیط آب لب‌شور (دریای خزر ۸/۴۹ گرم در لیتر) و آب شیرین (رودخانه خشکرود) درمقایسه بافت‌شناسی کلیه (قدامی، میانی و خلفی) مولدین ماهی سفید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که از نظر تعداد لوله-های کلیوی ماهی سفید اختلاف معنی‌داری بین دو محیط نداشتند (P>۰/۰۵) و میانگین اندازه لوله‌های دیستال، جمع کننده و شبکه گلومرولی در آب شیرین به طور معنی‌داری بزرگتر از آب لب‌شور بود (P<۰/۰۵). میانگین اندازه لوله‌های پروگسیمال در آب دریا نسبت به آب شیرین بیشتر بود. اگر چه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در نتیجه لوله‌های کلیوی در ماهی سفید بعد از مهاجرت به آب شیرین جهت سازگاری با محیط جدید تغییر می‌کند. این تغییرات در واقع مکانیزم تحمل ماهی سفید در مواجه با شرایط هیپواسمتیک است.

بنابراین، با توجه به تغییر محیط از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر، ساختار کلیه بچه‌ماهیان سفید نیز تغییر نمود. اما در استفاده از مکمل نمک کلرید سدیم در مدت آزمایش تغییری در بافت کلیه در مرحله یک آزمایش در محیط آب شیرین مشاهده نشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. امیری، ا.، صیاد بورانی، م.، مرادی، م. و پور غلامی، ا.، ۱۳۸۷. اثر شوری‌های مختلف بر رشد و ماندگاری بچه ماهی سفید انگشت قد (*Rutilus frisii kutum*) مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۱):۲۱-۳۰.

۲. امینی رنجبر، غ. و هادیان، ا.، ۱۳۸۷. بررسی میزان ددت در رسوبات رودخانه سفیدرود (حد فاصل سد تاریک تا بندر کیاشهر). مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۸۱: ۸۶-۸۱.

۳. ایمانپور،م .ر.،۱۳۸۴. اثرات طیف نور ، دوره های نوری و غنی سازی روی پرورش لاروی و تنظیم اسمزی بچه ماهیان سفید *Rutilus frisii kutum*. رساله دوره دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۸ ص.

۴. بهروزی، ش.، فارابی، س.م.و.، هدایتی فرد، م. و شریفیان، م.، ۱۳۹۴. بررسی اثر شوری بر نرخ بازماندگی و تغییرات بافت کلیه بچه ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. نشریه دامپزشکی در پژوهش سازندگی، ۱۰۷: ۳۱ تا ۳۷.

۵. پوستی، ا و م. و مرادی، ا.، ۱۳۸۵. روش های آزمایشگاهی بافت شناسی، انتشارات دانشگاه تهران. ۲۹۶ص.

۶. پوستی، ا.ع. و مروستی، ص.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی) انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ ص.

۷. رضوی صیاد، ب. ۱۳۷۴. ماهی سفید (Rut*ilus frisii kutum*)، انتشارات وزارت جهادکشاورزی، مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۸۶ صفحه.

۸. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۴. سازمان شیلات ایران، معاونت توسعه مدیریت و منابع، دفتر برنامه و بودجه. ۶۴ ص. ۲۸ /۱۰/ ۱۳۹۴.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

http://www.khzshilat.ir/Content/media/image/2016/01/795_orig.pdf

۹. ستاری،م.۱۳۸۱، ماهی شناسی(۱). تشریح و فیزیولوژی، انتشارات نقش مهر، چاپ اول. ۶۵۹ ص.

۱۰. صیادبورانی، م.، ۱۳۸۹. تعیین اندازه مناسب رهاسازی بچه‌ماهی سفید از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی. پروژه موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۹۴ صفحه.

۱۱. صیادبورانی، م.، احمد نژاد. م.، مقصودیه کهن، ح.، دژندیان، س. و شریفیان، م. ۱۳۹۳. بررسی فراوانی و پراکنش سلول‌های کلراید آبشش بچه-ماهیان سفید در مواجهه با شوری آب دریای خزر. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۲):۴۴-۳۵.

۱۲. عبدلی،ا. و نادری، م. ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آبزیان. ۲۳۸ ص.

۱۳. عنایت غلامپور، ط.، ایمانپور، م. ر.، حسینی، س. ع. و ب. شعبانپور.، ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص های رشد، میزان بازماندگی، غذا گیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید *Rutilus frisii kutum* . مجله زیست شناسی ایران، ۲۴(۴): ۵۳۹-۵۴۹.

۱۴. فارابی، س.م.و.، بهروزی، ش.، قانعی تهرانی، م.، رمضانی، ح.، آذری، ع.ح.، شکوری، م.، نجف پور، ش.، واحدی، ف.، نصرالله تبار، ع.، ملایی، ح.، علوی، ا. و معاضدی، ج.، ۱۳۹۳. تعیین درصد مقاومت بچه ماهی سفید (۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلیگرمی) به شوری، گل آلودگی و کاهش اکسیژن در آب. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۶۶ ص.

۱۵. قهرمان‌زاده، ز.، بانی، ع.، ایمانپور نمین، ج. و حلاجیان، ع.، ۱۳۹۳. مقایسه بافت شناسی لوله های کلیوی مولدین ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در دو محیط لب شور (دریای خزر) و آب شیرین (رودخانه خشکرود). مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷(۱): ۱۳۴-۱۴۲.

۱۶. کرباسی، ع.، نبی بیدهندی، غ.، غضبان، ف. و کوکبی حبیب زاده، ش.، ۱۳۸۹. تفکیک شمایی عناصر و بررسی شدت آلودگی در رسوبات رودخانه سیاهرود. محیط شناسی، سال ۳۶(۵۳): ۲۰-۱۱.

۱۷. محیسنی، م.، بنایی، م.، نعمت دوست حقی، ب. و فارابی. س.م.و.، ۱۳۹۵. اثر محرومیت غذایی بر توسعه سلول‌های کلراید آبششی در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) در مواجهه با تنش شوری. مجله بوم شناسی آبزیان، ۵(۴): ۸۸-۹۷.

۱۸. محیسنی. م، فارابی. س.م.و.، بنایی. م. و نعمت دوست حقی. ب.، ۱۳۹۵. اثر گرسنگی بر تغییر الکترولیت‌های بدن بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) طی سازگاری با آب شور. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۱۲۴-۱۱۱.

19. Ai, Q., Mai K, Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H. & Zhang, L., 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea)*. Aquaculture, 260: pp. 255-263.
20. Applebaum, S. & Jesuarockiaraj, A., 2009. Salt incorporated diets for enhancing growth performance and survival in gilthead sea bream Sparus aurata L.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

juveniles reared in low saline brackish water. Scienria Marina, 73(S1): 213-217.
21. Bancroft. J. D. & Gamble. M., 2002. Theary and practice of histological techniques. Churchill Livingston, 796 p.
22. Bell, J.D., Bartley, D.M., Lorenzen, K. & Loneragan, N.R., 2006. Restocking and Stock Enhancement of Coastal Fisheries: Potential, Problems and Progress. Fish Res 80:1–8
23. Cataldi, E., Ciccotti, E., Dimarco Disan, P., Disantano, O., Bronzi, P. & Cataudella, S., 1995. Acclimation trials of juvenile Italian sturgeon to different salinities: Morpho-physiological descriptors. Journal of Fish Biology, 47: 609-618.
24. Charmi, A., Bahmani, M., Sajjadi, M.M. & Kazemi. R., 2009. Morpho-histological study of kidney in farmed iuvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Pakistan Journal of Biological Sciences, 12(1): 11-18.
25. Daborn, K., Cozzi, R. & Marshall, W., 2001. Dynamics of pavement cell–chloride cell interactions during abrupt salinity change in Fundulus heteroclitus. Journal of Experimental Biology, 204(11): 1889-1899.
26. Emadi, H., 1979. The state of the fishing and reproduction of the kutum, Rutilus frisii kutum, in the Caspian Sea of Iran. Journal of Ichthyology, 19(4): 151-154.
27. Evans, D.H., 2002. The physiology of fishes. CRC Press, New York.York, pp. 91-239.
28. Evans, D. H., Piermarini. P.M. & Potts, W.T.W., 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. Journal of Experimental Zoology, 283: 641-652.
29. Farabi. S.M.V., Hajimoradloo, A. & Bahmani, M., 2007. Study on salinity tolerance and some physiological indicators of ion-osmoregulatory system in juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) in the south Caspian Sea: Effects of age and size. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 6(2): 15-32.143.
30. Farabi. S.M.V., Najafpour, Sh. & Najafpour, G. D., 2009. Aspect of Osmotic-ions Regulation in Juvenile Ship, Acipenser nudiventris (Lovetsky, 1828) in the Southeast of Caspian Sea. World applied sciences Journal, 7(9): 1090-1096.
31. Fontainhas-Fernandes. A., Russell-Pinto, F., Gomes, E., Reis-Henriques, Ma.A. & Coimbra, J., 2000. The effect of dietary sodium chloride on some osmoregulatory parameters of the teleost, Oreochromis niloticus, after transfer from freshwater to seawater. Fish Physiology and Biochemistry, 23(4): 307-316.
32. Foskett, J.K., Logesdon, C.D., Turner, T., Mochen, T.E. & Bern, H.A., 1981. Differention o the chloride cell extrusion mechanism during seawater adaptation of a teleost fish, the cichlid Sarothodon mossambicus, Journal of Experimental biology, 94: 209-224.
33. Hwang, P.P., Lee, T.H., 2007. New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 148: 479-497.
34. Howell, B.R., 1994. Fitness of hatchery-reared fish for survival in the sea. Aquaculture and Fisheries Management. 25: 3-17.
35. Keshavanath, P., Oishi, C.A., Leao da Fonseca, F.A., Affonso, E.G. & Filho, M.P., 2012. Growth Response of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Fingerlings to Salt (Sodium Chloride) Supplemented Diets. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 7: pp. 439-446.
36. Krayushkina, L.S., Panov, A.A., Gerasomov, A.A. & Potts, W.T.W., 1996. Changes in sodium, calcium and magnesium ion concentrations in sturgeon (*Huso huso*) urine and in kidney morphology. Journal of Computational Biology, B, 165: 527-533.
37. Mzengereza, K. & Kang'ombe, J., 2015. Effect of Dietary Salt (Sodium Chloride) Supplementation on growth, survival and feed utilization of Oreochromis shiranus (Trewavas, 1941). Journal of Aquaculture Research and Development, 7:1. 8.
38. McCormick, S.D., 1990. Cortisol directly stimulates differentiation of chloride cells in tilapia opercular membrane. 259: R857-863.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]

39. McKenzi, D.J., Cataldi, E., Di Marco, P., Mandlich, A., Romano, P., Ansferri, S., Bronzi, P. & Cataudella, S., 1999. Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon Acipenser naccarii.II: Morpho_physiological adjustments to hyperosmotic environment. Journal of Applied Ichthyology, 15: 61_66.
40. Munro, J.L. & Bell, J.D., 1997. Enhancement of marine fisheries resources. Reviwes in Fisheries Science, 5: 185-222.
41. Olla, B.L., Davis, M.W. & Ryer, C.H., 1998 Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. B. Mar. Sci. 62: 531- 550.
42. Pellertier, D. & Besner, M., 1992. The effect of salty diets and gradual transfer to sea water on osmotic adaptation, gill Na+, K+-ATPase activation, and survival of brook charr, Salvelinus fontinalis, Mitchill. Journal of Fish Biology. 141: 791-803.
43. Perry, S.F., Rivero-Lopez, L., McNeill, B. & Wilson, J.M., 2006. Fooling a freshwater fish: How dietary salt loading transforms the trout gill into a seawater phenotype. Journal of Experimental Biology, 209: 4591-4596.
44. Roberts, R. J., 2001. Fish pathology. 3nd ed. W. B. Sunders, London. 472p.
45. Sanchez-Lamadrid, A., 2002. Stock enhancement of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.): assessment of season, fish size and place of release in SW Spanish coast. Aquaculture, 210:187-202.
46. Sangiao-Alvarellos, S., Arjona, F.J., Martín del Río, M.P., Míguez, J.M., Mancera, J.M. & Soengas, J.L., 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in Sparus auratus. Jounal of Experimental Biololgy, 208: 4291-4304.
47. Santos, R.A., Bianchini, A., Jorge, M.B., Romano, L.A., Sampaio, L.A. & Tesser, M.B., 2014. Cobia Rachycentron canadum L. reared in low-salinity water: does dietary sodium chloride affect growth and osmoregulation? Aquaculture Research, 45(4): 4: 728-735.
48. Stoskopf, M. K., 1993. Fish medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Co., p. 882.
49. Suboski, M. D., Templeton, J. J., 1989. Life skills training for hatchery fish: social learning and survival. Fisheries Research, 7, 343e352.
50. Svasand, T., Kristiansen, T.S. Pedersen, T., Salvanes, A.G.V., En-gelsen, R., Nævdal, N. & Nødtvedt, M., 2000. The enhancement of cod stocks. Fish and Fisheries, 1: 173-205.
51. Sveltana, F., 2006. Normal kidney development in normal medaka fish. http://www.jsps.go.jp/english/e-plaza/e-sdialogue/03_data/Dr_Fedorova.pdf.
52. Takashima, F. & Hibiya, T., 2001. An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features. 1th Edn., Kodansha Ltd., New york, p: 234
53. Trombetti, F., Ventrella, V., Pagliarani, A., Ballestrazzi, R., Galeotti, M., Trigari, G., Pirini M. & Borgatti, A.R., 1996. Response of rainbow trout gill (Na^++K^+)-ATPase and chloride cells to T 3 and NaCI administration. Fish Physiology and Biochemistry, 15(3): 265-274.
54. Wang, P.J., Lin, C.H., Hwang, L.Y., Huang, C.L., Lee, T.H. & Hwang, P.P., 2009. Differential responses in gills of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 152: 544-551.
55. Young, B. & Heath, J., 2000. Functional Histology, a text and colour Atlas. 4th Edn., New York: Churchill Livengstone, Pp: 252-298.
56. Zaugg, W.S., Roley, D.D., Prentice, E.F., Gores, K.X. & Waknitz, F.W., 1983. Increased seawater survival and contribution to the fishery of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by supplemental dietary salt. Aquaculture, 32: 183-188

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.2.0]