

"مقاله پژوهشی"

سازگاری اسمزی و شاخص‌های هیستومتری بافت آبشش بچه‌ماهی اوزون‌برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) در پاسخ به تیمارهای شوری محیط و دفعات غذادهی روزانه

سیده مریم احمدی^۱، حبیب وهابزاده رودسری^{۱*}، حسین خارا^۱، ذیح اله پزند^۲، محمد صیاد بورانی^۳

۱. گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)،

رشت، ایران

۳. پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)،

بندر انزلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۲

چکیده

شوری و دفعات تغذیه دو چالش اساسی در پرورش بچه ماهیان اوزون‌برون برای اهداف پرورش و بازسازی ذخایر هستند. در این تحقیق شاخص‌های تنظیم اسمزی و بافت آبشش ۸۱۰ اوزون‌برون (وزن $10/96 \pm 0/89$ گرم و طول $12/64 \pm 0/96$ سانتی‌متر) در ۹ تیمار ترکیبی از سه سطح شوری با سه نوع تغذیه طی هشت هفته پرورش بررسی شدند. شاخص‌های تنظیم اسمزی شامل اسمولاریته، فعالیت آنزیمی، تعداد و اندازه سلول‌های کلراید بافت آبشش ارزیابی شدند. تیمارها شامل دو، چهار و شش بار تغذیه (۲T، ۴T و ۶T) در ترکیب با شوری‌های صفر، ۶ و ۱۲ ppt (۰‰، ۶‰ و ۱۲‰) بود. نتایج نشان داد که اسمولاریته و فعالیت $Na^+-K^+-ATPase$ تحت تأثیر شوری قرار گرفت؛ اما دفعات تغذیه تأثیر معنی‌داری بر آنها نداشت ($p > 0.05$). مقدار سدیم (Na^+) در تیمار ۱۲‰-۲T و پتاسیم (K^+) در تیمار ۱۲‰-۲T افزایش یافت. بیشترین تعداد سلول‌های کلراید در تیمارهای با بیشترین شوری (۱۲ ppt) مشاهده شد. دفعات تغذیه در شوری‌های مشابه بر تعداد سلول‌های کلراید تأثیری نداشت ($p > 0.05$). مساحت و محیط سلول‌های کلراید در ۱۲‰-۲T و ۱۲‰-۶T با افزایش شوری بهبود یافت ($p < 0.05$). تغییرات در تعداد و اندازه سلول‌های کلراید رشته‌های آبشش پس از دو ماه پرورش با ۲، ۴ و ۶ بار تغذیه در آب شور با شوری ۱۲‰ با کمترین تنش مشاهده شد.

کلمات کلیدی: اوزون‌برون، دفعات غذادهی، تنظیم اسمزی، بافت آبشش.

مقدمه

شوری به عنوان عامل مهم اکولوژیک مؤثر بر رشد و بقای آبزیان، در نواحی ساحلی در واکنش به نوسانات آب و هوایی دستخوش تغییرات شدید می‌شود. ماهیان خاویاری به دلیل توانایی خود در سازگاری با سطوح مختلف شوری آب شناخته شده‌اند، اما غلظت شوری بالا و پایین می‌تواند به بافت‌های آبشش به عنوان اندام اصلی تنظیم اسمزی و تنظیم غلظت آب و یون آسیب وارد کند و از سویی دیگر آبی‌پروری ماهیان خاویاری در سراسر جهان به دلیل کاهش مداوم عملکرد صید مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (Jafari et al., 2021).

بچه ماهیان اوزون‌برون (*Acipenser stellatus*) در محیط‌های مختلف در نواحی داخلی و در مناطق ساحلی ایرانی دریای خزر از جمله قفس‌های شناور یا مخازن سدها پرورش داده می‌شوند. در تمام این مخازن از آب شیرین یا شور استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده است که تاس‌ماهیانی که برای مدت طولانی در معرض شوری زیاد قرار می‌گیرند، سطح آبشش را کاهش و تولید مخاط را افزایش می‌دهند. این وضعیت نشان‌دهنده آسیب و استرس است؛ بنابراین، نظارت دقیق بر سطح شوری در زیستگاه‌های این گونه‌ها و انجام مداخلات برای محافظت از سلامت آبشش آنها مهم است (Farshadian et al., 2019).

تنظیم فشار اسمزی فرایند پیچیده‌ای است که هم‌زمان باعث تغییرات بافتی، هورمونی، یونی، آنزیمی و متابولیکی در موجودات آبی می‌شود. نتیجه این تغییرات در میزان مرگ و میر ظاهر می‌شود (Foyle et al., 2020). ماهیان خاویاری توانایی قابل توجهی در تنظیم غلظت نمک داخلی خود در پاسخ به تغییر شوری

در محیط دارند. یکی از مکانیسم‌های کلیدی برای این امر بافت‌های آبشش است که نقش مهمی در تنظیم اسمزی بازی می‌کنند. این بافت‌ها توسط سلول‌های تخصصی پوشانده شده‌اند که به طور فعال یون‌ها را در غشاهای خود حمل می‌کنند تا تعادل نمک داخلی تاس‌ماهیان را حفظ کنند. با تغییر شوری آب، شیب غلظت در سراسر این غشاها تغییر کرده و مکانیسم‌های حمل و نقل مختلفی را ایجاد می‌کند و به تاس‌ماهیان اجازه می‌دهد تا با شرایط جدید سازگار شود (Foyle et al., 2020).

از طرفی عوامل تغذیه مانند نوع غذا، مقدار غذا و دفعات تغذیه از جمله عوامل مهم در افزایش تولید تاس‌ماهیان هستند (Ghorbani Vaghei et al., 2023). تغذیه تاس‌ماهیان با تاثیر بر شاخص‌های رشد می‌تواند موجب تغییرات تولید شود (احمدی و همکاران، ۱۴۰۱). تحقیقات ارتباط بین فرکانس تغذیه و اندازه و تعداد سلول‌های کلراید مسئول جذب و انتقال یون در بافت‌های آبشش را نشان داده است. بطوریکه تغذیه مکرر می‌تواند اندازه و تعداد این سلول‌های کلراید و در نهایت توانایی تاس‌ماهیان برای حفظ تنظیم اسمزی مناسب را افزایش دهد (Ghorbani Vaghei et al., 2023). با این حال، تغذیه بیش از حد می‌تواند منجر به استرس متابولیک و آسیب به بافت‌های آبشش شود و بر تنظیم اسمزی تاثیر منفی بگذارد. مطالعات نشان داد که فرکانس تغذیه می‌تواند به طور مشابه برای اندازه‌های مختلف ماهی تعیین شود (Varsamos et al., 2005). بنابراین، پایش دفعات تغذیه برای حفظ سلامت تاس‌ماهیان و بهینه‌سازی تنظیم اسمزی در شوری‌های مختلف محیطی ضروری است. برای درک این مکانیسم‌های اساسی در پرورش

شوری صفر از آب چاه (۰-۰/۵ ppt)، شوری ۶ با ترکیب آب دریا و آب چاه (۷-۵ppt) و شوری ۱۲ (۱۳-۱۱ ppt) به طور مستقیم از آب دریا تهیه شد. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما (۱۹/۲±۱/۵) درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول (۵/۰±۶۰/۴۴ میلی گرم در لیتر) و درصد اشباعیت اکسیژن محلول توسط دستگاه اکسیژن متر دیجیتال (Oxi 3205 SET3، WTW، آلمان) و pH (۷/۸۳±۰/۰۸) توسط دستگاه pH متر (Jenway، 370)، انگلستان) به صورت روزانه در کل دوره پرورش اندازه‌گیری شد. همچنین هوادهی توسط پمپ هواده (ACO-010، RESUN، چین) با قدرت اکسیژن دهی ۰/۱۳۵ مترمکعب در دقیقه صورت گرفت.

نمونه‌برداری خون و تهیه سرم

جهت بررسی آنزیم‌های کبدی و آنزیم‌های گوارشی در پایان دوره، خون‌گیری از بچه ماهیان اوزون‌برون پرورشی صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری، تغذیه ماهیان قطع گردید و از هر تکرار ۳ نمونه به طور تصادفی انتخاب شد از ساقه دمی در انتهای باله مخرجی، ۲ سی‌سی نمونه‌های خون جمع‌آوری و در ۲ لوله اپندورف (یکی هپارینه بود) ذخیره شدند. برای تهیه سرم و اندازه‌گیری آنزیم‌ها نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس لایه بالایی سرم جدا و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Kazemi et al., 2006).

تاس‌ماهیان، اثر توام دفعات تغذیه و شوری بر بافت آبشش و سازگاری اسمزی بچه‌ماهی اوزون‌برون پرورشی طی ۸ هفته مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۱۰ قطعه اوزون‌برون پرورشی با میانگین وزن ۱۲/۲۴ گرم و طول ۱۲/۶۴±۰/۹۶ سانتی‌متر به مدت یک هفته در آب شیرین در ایستگاه تحقیقات تاس‌ماهیان گیلان (وابسته به انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری) واقع در منطقه چابکسر استان گیلان به منظور سازگاری نگهداری شدند. مخازن فایبر گلاس دارای روکش با دریچه‌ای بودند که امکان دسترسی به غذا و نور خورشید را فراهم می‌آورد. برای تأمین آب‌شور و شیرین از آب دریای خزر و آب چاه استفاده شد.

سه سطح شوری (۰، ۶ و ۱۲ ppt) و سه سطح دفعات غذایی در مجموع ۹ تیمار (هریک با ۳ تکرار) به شرح (جدول ۱) در نظر گرفته شد (Vaz et al., 2015).

جدول ۱: مشخصات تیمارها و ساعات غذایی بچه ماهیان

اوزون‌برون در تیمارهای مختلف

تیمار	مشخصات تیمار	ساعت غذایی
۱	۲T - ۰%	۶، ۱۸
۲	۴T - ۰%	۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴
۳	۶T - ۰%	۱۰، ۶، ۱۴، ۱۸، ۲۲، ۲
۴	۲T - ۶%	۶، ۱۸
۵	۴T - ۶%	۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴
۶	۶T - ۶%	۱۰، ۶، ۱۴، ۱۸، ۲۲، ۲
۷	۲T - ۱۲%	۶، ۱۸
۸	۴T - ۱۲%	۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴
۹	۶T - ۱۲%	۱۰، ۶، ۱۴، ۱۸، ۲۲، ۲

اندازه‌گیری شاخص‌های تنظیم اسمزی

پس از جداسازی سرم خون، میزان اسمولاریته (برحسب میلی اسمول بر لیتر) تعیین شد ۱۰۰ میکرولیتر از سرم به نسبت ۱ به ۹۹ توسط آب مقطر رقیق گردید و جهت اندازه‌گیری یون‌ها در یخچال به مدت یک هفته نگهداری شد (Krayushkina *et al.*, 2006). مقدار یون‌های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه Flamephotometer (مدل Coming480 Jenway، انگلستان) بر حسب mEq/L (برای یون‌های یک ظرفیتی $\text{mEq/L} = \text{mmol/L}$) اندازه‌گیری شد (صیادبورانی، ۱۳۹۲).

سنجش میزان فعالیت آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

فعالیت آنزیم‌های $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ به‌عنوان محصول فسفات غیر آلی (Pi) اندازه‌گیری شد و ارزیابی آنزیم با روش Zaugg (1982) انجام شد. اندازه‌گیری فسفات غیر آلی (معدنی) بافت آبخش طی دو مرحله: الف) هضم نمونه ب) اندازه‌گیری فسفات نمونه‌های هضم‌شده انجام گرفت (صیاد بورانی، ۱۳۹۲).

اندازه‌گیری اسمولاریته خون

برای اندازه‌گیری فشار اسمزی، از اسمومتر (مدل: Nr. 96 . Type13، ساخت شرکت Roebeling آلمان) استفاده شد (Krayushkina *et al.*, 2006).

تهیه اسلایدهای بافت آبخش

جهت تهیه برش‌های بافتی روش مقطع زدن پارافینی مورد استفاده قرار گرفت که مراحل آن عبارت بودند از: آبگیری، شفاف‌سازی، قالب‌گیری، برش‌های بافتی، رنگ‌آمیزی. از میکروتوم دوار از قالب‌ها برش‌های

بافتی به ضخامت ۵ الی ۷ میکرون تهیه شد (تاکاشیما و هایسا، ۱۹۹۴). برش‌های بافتی حاصل به روش هماتوکسین اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. اسلایدهای بافتی آبخش‌ها با میکروسکوپ‌های مجهز به مانیتور و دوربین مورد مطالعه قرار گرفتند.

اندازه‌گیری و شمارش سلول‌های کلراید آبخش

تعداد سلول‌های کلراید موجود در قاعده تیغه اولیه (فیلامنت) و بین دو تیغه ثانویه (لاملا) ۶ پایه آبخشی در ۶ مقطع از بافت آبخش عکس‌برداری شده (مجموعاً ۳۶ پایه آبخش در هر ماهی) تعیین محیط (میکرومتر) و مساحت (میکرومتر مربع) ۲۰ عدد سلول کلراید آبخش هر ماهی در هر تیمار با نرم‌افزار Image Tool (2.0) انجام شد (Ahmadnezhad *et al.*, 2016).

تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها به‌وسیله آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها به‌منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) و جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. برای مقایسه اثرات متقابل دفعات غذادهی و شوری روی شاخص‌های مختلف یون‌های خون از آزمون تحلیل چندعاملی استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های تنظیم اسمزی

یک‌طرفه و دانکن نشان داد بین میزان شاخص‌های یاد شده در تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($p < 0.05$). در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر متغیر پتاسیم بر اساس آزمون چندعاملی تعداد دفعات غذادهی بر میزان پتاسیم تأثیر نداشته است ($p > 0.05$)، اما میزان شوری و اثر متقابل آنها بر میزان پتاسیم سرم خون تأثیر داشته‌اند ($p < 0.05$). درحالی‌که دفعات غذادهی، میزان شوری و اثر متقابل آنها بر میزان سدیم غذادهی، میزان شوری و اثر متقابل آنها بر میزان آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ اثر داشته‌اند ($p < 0.05$) و دو متغیر یاد شده به‌تنهایی بر این دو شاخص تأثیرگذار نبودند ($p > 0.05$) (جدول ۲).

نتایج بیشترین میزان پتاسیم سرم خون در تیمار T-۶ و ۲٪ و کمترین در تیمار T-۴٪ دیده شد. در مقابل بالاترین مقدار سدیم سرم خون ماهیان در تیمارهای T-۱۲٪ و T-۴٪ و ۱۲٪ و کمترین در تیمار T-۶٪ و ۶٪ اندازه‌گیری شد. میزان اسمولاریته سرم خون در تیمارها هم‌زمان با افزایش شوری روند افزایشی داشت، میزان اسمولاریته در تیمار T-۶٪ به شکل معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. کمترین میزان اسمولاریته در تیمارهای T-۲٪ و T-۶٪ مشاهده شد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ در تیمارهای با شوری بیشتر دیده شد، به‌نحوی که بیشترین میزان آن در تیمار ۱۲-۶٪ و کمترین در تیمارهای T-۴٪ و T-۲٪ تا T-۱۲٪ مشاهده شد. نتایج آزمون تجزیه واریانس

جدول ۲: نوسانات شاخص‌های تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان اوزون‌برون در تیمارهای شوری و دفعات غذادهی

تیمار	پتاسیم ($\mu\text{mol/l}$)	سدیم ($\mu\text{mol/l}$)	اسمولاریته (osm/lit)	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ($\mu\text{mol p/g}$)
T-۲٪	$3/03 \pm 0/12^{bcBC}$	$114 \pm 4/50^{cdABC}$	$257/03 \pm 4/93^{cB}$	$33/91 \pm 17/68^{cB}$
T-۴٪	$2/73 \pm 0/27^{cBC}$	$106/67 \pm 6/01^{deABC}$	$261/73 \pm 6/08^{bCB}$	$24/15 \pm 10/69^{cB}$
T-۶٪	$4/03 \pm 0/52^{abBC}$	$116 \pm 4/04^{bcdABC}$	$257/33 \pm 4/63^{cB}$	$20/53 \pm 6/61^{cB}$
T-۱۲٪	$5/13 \pm 0/14^{aBC}$	$125 \pm 1/15^{abcABC}$	$261 \pm 4/93^{bcB}$	$50/22 \pm 4/08^{cB}$
T-۴٪	$3/7 \pm 0/26^{bcBC}$	$127/67 \pm 6/67^{abABC}$	$267 \pm 4/72^{abB}$	$42/93 \pm 5/88^{cB}$
T-۶٪	$3/7 \pm 0/65^{bcBC}$	97 ± 2^{eABC}	$283/67 \pm 4/91^{aB}$	$88/85 \pm 16/80^{bcB}$
T-۱۲٪	$4/10 \pm 0/11^{abBC}$	$136/33 \pm 2/33^{aABC}$	$276/33 \pm 2/90^{abB}$	$139/54 \pm 18/27^{abB}$
T-۴٪	$3/7 \pm 0/58^{abBC}$	$130/67 \pm 1/76^{aABC}$	$276/66 \pm 5/24^{abB}$	$86/49 \pm 18/46^{bcB}$
T-۱۲٪	$4/73 \pm 0/23^{abBC}$	$111 \pm 3/46^{dABC}$	$275 \pm 6/24^{abB}$	$183/04 \pm 65/29^{aB}$

حروف لاتین کوچک غیر مشترک، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است ($p < 0.05$)، حرف A نشان‌دهنده اثر تعداد دفعات غذادهی ($p < 0.05$)، حرف B نشان‌دهنده اثر میزان شوری ($p < 0.05$) و حرف C نشان‌دهنده اثر متقابل تعداد دفعات غذادهی و میزان شوری ($p < 0.05$).

هیستومتری بافت آبشش

با افزایش شوری تعداد سلول‌های کلراید افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین تعداد در تیمارهای با شوری ۱۲ گرم در هزار مشاهده شد. آزمون‌های واریانس یک‌طرفه و دانکن نیز بیان‌کننده اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). ضمن اینکه دفعات غذایی در تیمارهای با شوری برابر تأثیر کمی بر تعداد سلول‌های کلراید داشت. همین وضعیت در مورد مساحت و محیط سلول‌های کلراید دیده شد، به‌نحوی‌که با افزایش

شوری میزان آنها در تیمارهای ۲T-۱۲٪ تا ۶T-۱۲٪ افزایش یافت و اختلاف‌ها نیز معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در بررسی اثر متقابل عوامل شوری و دفعات تغذیه بر سلول‌های کلراید (تعداد، مساحت و محیط) بر اساس آزمون چندعاملی، شوری بر میزان آنها تأثیر داشته است ($p < 0.05$)، اما دفعات غذایی و اثر متقابل آنها تأثیر نداشته‌اند ($p > 0.05$) (جدول ۳).

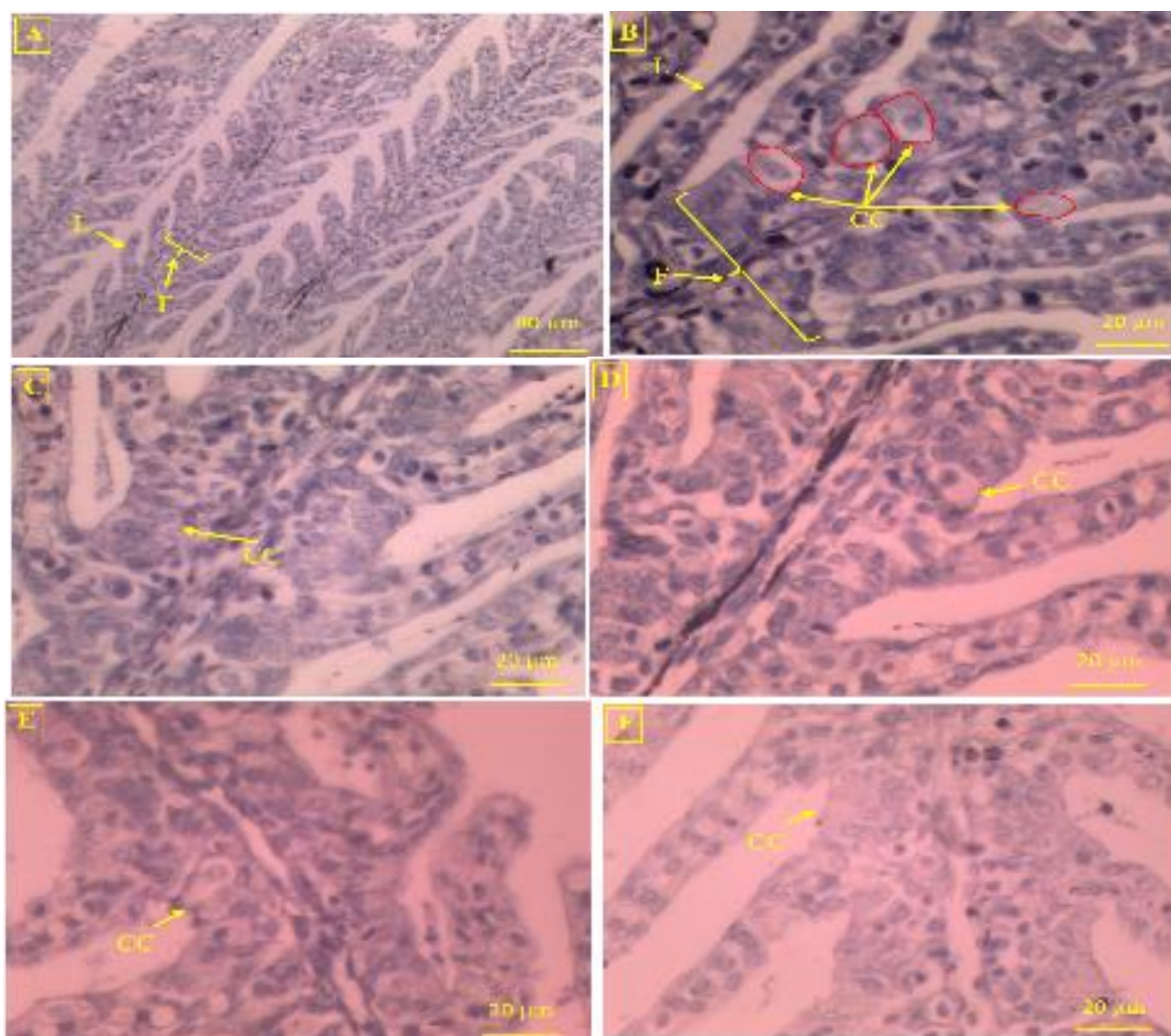
جدول ۷: تأثیر شوری و دفعات غذایی بر اندازه و تعداد سلول‌های کلراید بچه ماهیان اوزون‌برون

تیمار	تعداد سلول کلراید (عدد)	مساحت سلول‌های کلراید (میکرومتر مربع)
۲T-۰٪	5 ± 0.1^{abB}	$165/4 \pm 12/5^{aB}$
۴T-۰٪	5 ± 0.1^{abB}	$168/7 \pm 6/8^{abB}$
۶T-۰٪	5 ± 0.1^{aB}	$154/7 \pm 1/7^{aB}$
۲T-۰۰۶٪	8 ± 0.1^{abcB}	$191/8 \pm 2/1^{bcB}$
۴T-۰۰۶٪	7 ± 0.1^{abB}	$190/6 \pm 1/9^{bcB}$
۶T-۰۰۶٪	7 ± 0.1^{bcB}	$192/9 \pm 1/4^{cB}$
۲T-۱۲٪	10 ± 0.2^{dB}	$233/7 \pm 4/1^{dB}$
۴T-۱۲٪	10 ± 0.1^{cdB}	$230/2 \pm 2/4^{dB}$
۶T-۱۲٪	10 ± 0.1^{dB}	$245/1 \pm 4/8^{dB}$

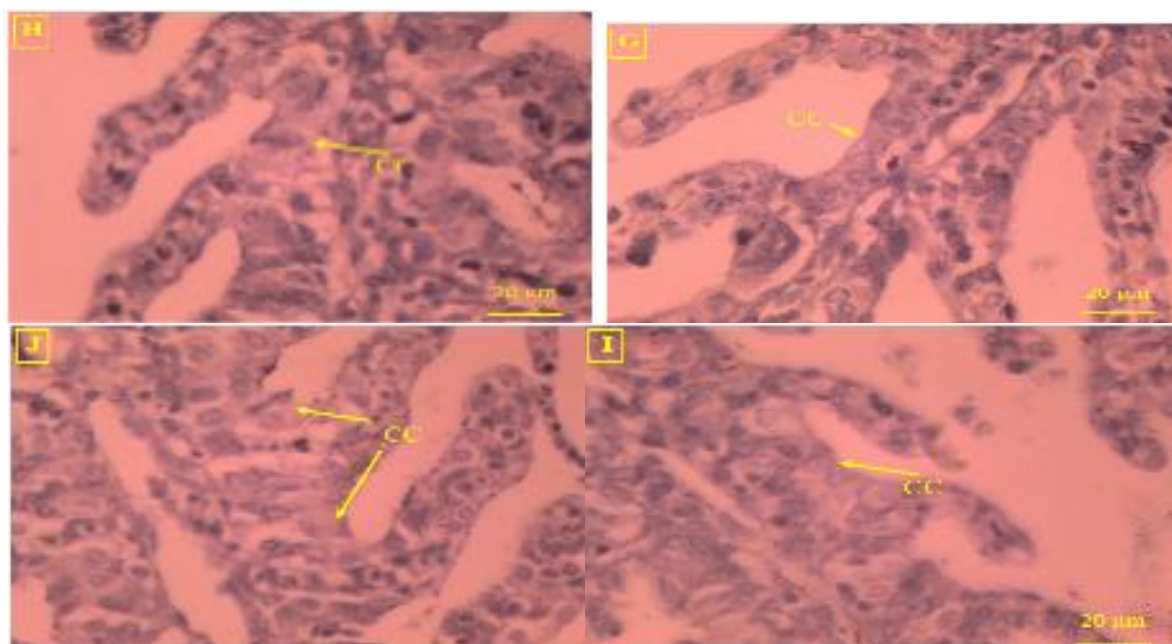
حروف لاتین کوچک غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است ($P < 0.05$)، حرف A نشان‌دهنده اثر تعداد دفعات غذایی ($P < 0.05$)، حرف B نشان‌دهنده اثر میزان شوری ($p < 0.05$) و حرف C نشان‌دهنده اثر متقابل تعداد دفعات غذایی و میزان شوری ($p < 0.05$).

در بررسی بافت رنگ آمیزی شده سلول‌های کلراید با ویژگی هسته درشت و سیتوپلاسم یکنواخت رنگ گرفته‌شده توسط اتوزین در بخش فیلامنتی آبشش به‌ویژه در ناحیه قاعده لاملاها قابل تشخیص بودند. تغییر معنی‌دار در تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبشش فیلامنتی پس از دو ماه پرورش با ۲، ۴ و ۶ بار غذایی

در روز در آب لب‌شور با شوری ۱۲ هزار مشاهده شد. تعداد اندکی از سلول‌های کلراید نیز در لاملا مشاهده شدند، اما بیشتر سلول‌ها روی فیلامنت قرار داشتند (شکل ۱).



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپی (بزرگنمایی 40X) از مقطع عرضی بافت آبشش بچه‌ماهی اوزون‌برون (۱۲ گرم) پس از دو ماه پرورش در آب شیرین با ۲ بار غذاهای در روز (A و B)، آب شیرین با ۴ بار غذاهای در روز (C)، آب شیرین با ۶ بار غذاهای در روز (D)، آب شور ۶ در هزار با ۲ بار غذاهای در روز (E)، آب شور ۶ در هزار با ۴ بار غذاهای در روز (F)، آب شور ۶ در هزار با ۶ بار غذاهای در روز (G)، آب شور ۱۲ در هزار با ۲ بار غذاهای در روز (H)، آب شور ۱۲ در هزار با ۴ بار غذاهای در روز (I)، آب شور ۱۲ در هزار با ۶ بار غذاهای در روز (J)، که نشان‌دهنده افزایش در اندازه و تعداد سلول‌های کلراید در تیمارهای با شوری ۱۲ در هزار است. علامت‌های اختصاری - CC: سلول کلراید (Chloride Cell)، F: رشته آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella). رنگ آمیزی اتوزین - هماتوکسیلین.



ادامه شکل ۱:

بحث

تاثیر شوری و تواتر تغذیه برای گونه‌های مختلف تاس ماهیان را به طور مقایسه‌ای از دیدگاه سازگاری فیزیولوژیک در محیط‌های پرورشی نشان داده شده است (Lee و همکاران (Andrei et al., 2017) (۲۰۱۶) گزارش دادند که تغییر وضعیت تغذیه‌ای تاس ماهیان سفید (*Acipenser transmontanus*) تحمل شوری تاس ماهیان جوان را کاهش می‌دهد.

یافته‌های اسمولاریته سرم خون در پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شوری از ۲T-۰% به ۱۲- T ۰۶% افزایش یافت، درحالی که دفعات تغذیه تأثیری بر اسمولاریته نداشت. این وضعیت در میزان فعالیت آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ نیز مشاهده شد. مقدار Na^+ و K^+ در خون نیز به همین ترتیب افزایش یافت. از آنجا که تنظیم یونی و اسمزی در ماهی‌های استخوانی ناشی از عملکرد یکپارچه اندام‌هایی مانند آبشش، کلیه و روده

است (Foyle et al., 2020). براساس گزارش Chen و همکاران (۲۰۲۳) علت این تغییرات به هنگام سازش بچه ماهیان با آب شور، آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ (پمپ سدیم) موجود در اپتلیوم آبشش است که انرژی شیمیایی انتقال یون‌ها را تامین و دفع یا جذب یون‌های ضروری را هدایت می‌کنند. فراوانی آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ در اپتلیوم آبشش بسیاری از ماهیان یوری هالین همگام با تغییر شوری محیط، تغییر می‌کند و این نوسانات جهت سازگاری ماهی با محیط شورتر به وقوع می‌پیوندد (Chen et al., 2023).

طی فرایند سازگاری با شوری، تعداد زیادی آنزیم در فرایند بازبایی فشار اسمزی ماهی دخیل هستند که از جمله مهم‌ترین آنها برای تنظیم اسمزی $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ است. (NKA)، به طور غیرمستقیم تعدادی از فرآیندهای انتقال را هدایت می‌کند و همچنین به عنوان

محیط‌های پرورشی و طول دوره پرورش تأثیر بسزایی بر میزان اسمولاریته خون دارند، توسعه نسبی سلول‌های تنظیم‌کننده اسمولاریته بر اساس سن ماهیان متغیر است. پرورش ماهی اوزون‌برون در آب شیرین باعث بروز مشکلات در تنظیم اسمزی آنها می‌شود، حال آنکه با پرورش این ماهیان در محیط‌های نزدیک به محیط طبیعی و استخرهای پرورشی آب لب‌شور می‌توان شاهد رشد بالاتر این ماهیان بود. بررسی‌های Krayushkina و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که سیستم تنظیم یونی - اسمزی در تاس‌ماهیان علاوه بر تفاوت بین گونه‌ای، دارای تمایزات درون‌گونه‌ای نیز است. این تفاوت‌ها تحت تأثیر پارامترهای سن، اندازه و درجات شوری مختلف است. Vaz و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که تاس‌ماهی سبز (*A. medirostris*) در مقایسه با تاس‌ماهی سفید (*A. transmontanus*) تحمل کمتری نسبت به محدودیت تغذیه‌ای در شوری‌های مختلف داشتند.

در پژوهش حاضر تعداد، مساحت و محیط سلول‌های کلراید با بالارفتن شوری افزایش یافت. به‌طور کلی سلول‌های سنگ‌فرشی و سلول‌های کلراید (سلول‌های غنی از میتوکندری) به ترتیب بیش از ۹۰٪ و کمتر از ۱۰٪ سطح پوششی آبشش را به خود اختصاص می‌دهند. برخلاف سلول‌های سنگ‌فرشی، اگر چه سلول‌های کلراید بخش کوچکی از لایه پوششی آبششی را اشغال کرده، اما مهم‌ترین عملکردهای فیزیولوژیک آبشش توسط آنها صورت می‌گیرد (Foyle et al., 2020). اینکه با افزایش شوری مقدار سلول‌های کلراید افزایش می‌یابد، پدیده‌ای است که در فرایند تنظیم اسمزی در بسیاری از ماهیان به دلیل تغییر وضعیت شوری آب رخ می‌دهد. البته تعداد اینها در

پمپ Na^+/K^+ شناخته می‌شود، منبع اصلی مصرف ATP در سلول‌ها است (Zhang et al., 2019).

در ماهیان، افزایش فعالیت آنزیم $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ آبشش به‌عنوان یک سازگاری جهت تنظیم اسمزی در محیط‌های پیرتونیک به طور گسترده گزارش شده است. در سطح سلول‌های کلراید ماهی، این آنزیم در کنار کانال $\text{Na}/\text{K}/\text{Cl}$ دفع فعال یون‌های سدیم و کلر را در آب‌شور برعهده دارد (Chen et al., 2023). بنابراین افزایش میزان فعالیت آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ آبشش در تیمارهای با شوری ۱۲ گرم در هزار در ماهی اوزون‌برون قابل توجیه است. اسمولاریته کل در دو گونه *Acanthopagrus latus* و *Lates calcarifer* به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر شوری قرار گرفته بود (Torfi Moazenazadeh et al., 2021). چالش حاد شوری هیچ تغییر قابل توجهی در سطح یون خون سیم دریایی زردباله ایجاد نکرد و عدم تغییر در اسمولاریته پلاسما، Na^+ و Cl^- ممکن است به این دلیل افزایش سطح فعالیت $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ به‌اندازه کافی برای مقابله با شوری‌های محیطی باشد (Farshadian et al., 2019). سطوح شوری محیط بیرونی آب ارتباط مستقیمی با فشار اسمزی سیال در آبزیان دارد. آبزیان باید فشار اسمزی خود را برای حفظ تعادل رطوبت و نمک‌های خاص در بافت‌های بدن، تنظیم کنند. در پاسخ به تغییرات شوری محیطی، موجودات آبزی به طور غیرفعال آب را از دست می‌دهند یا جذب می‌کنند و باعث تغییر فشار اسمزی می‌شوند تغییرات متابولیسم فیزیکی که $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ را قادر می‌سازند تا زمانی که فشار اسمزی به تعادل برسد فعال شود (Gao et al., 2017).

مقابل شوری و تغییر دفعات غذادهی بر شاخص‌های تعداد و اندازه سلول‌های کلراید مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

بیشترین شاخص‌های تنظیم اسمزی در تیمارهای با شوری بالاتر مشاهده شد، بنابراین تنش کمتری برای اوزون‌برون در پرورش با شوری نزدیک به دریای خزر انتظار می‌رود. این گونه را می‌توان در شوری‌های کمتر از ۱۲ ppt پرورش داد و افزایش دفعات تغذیه به این ماهی کمک می‌کند تا شرایط محیطی مختلف را تحمل کند. شاخص‌های مهم‌تری از جمله رشد و تغییرات آنزیم‌های گوارشی جهت تصمیم‌گیری و اتخاذ استراتژی برای پرورش تجاری باید به‌عنوان معیار در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همکاری کارکنان ایستگاه تحقیقات تاس‌ماهیان گیلان و سرکار خانم دکتر محدثه احمدنژاد به دلیل کمک در تهیه اسلایدهای بافت شناسی آبشش سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

۱. احمدی، س.م.، وهابزاده، ح.، خارا، ح.، پژند، ذ.، صیاد بورانی، م.، ۱۴۰۱. تأثیر دفعات غذادهی و شوری بر فاکتورهای خونی، ایمنی و شاخص‌های استرس بچه‌ماهی اوزون‌برون (*Acipenser stellatus*). محیط‌زیست جانوری، ۱۴(۱)، ۱۹۰-۱۷۹.

گونه‌های مختلف و در شرایط محیطی مختلف متفاوت است (Ahmadnezhad et al., 2014).

دفعات تغذیه بهینه برای ماهی‌ها از تغذیه ثابت برای لارو گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) تا فقط یک وعده‌گذاری در روز در میان برای ماهی باس (*Dicentrarchus labrax*) متغیر است (Aderolu et al., 2010). تعداد دفعات تغذیه تاس‌ماهیان تأثیر بسزایی بر توانایی تنظیم اسمزی آنها دارد. تاس‌ماهیان برای تأمین رشد به پروتئین بالایی نیاز دارند، اما تغذیه بیش از حد می‌تواند منجر به تولید بیش از حد مواد زائد نیتروژنی مانند آمونیاک شود. این می‌تواند منجر به تجمع سموم در ماهی شود و تنظیم اسمز و سلامت کلی آنها را مختل کند. با این حال، تغذیه بسیار کم به تاس‌ماهیان می‌تواند بر تنظیم اسمزی تأثیر منفی بگذارد، زیرا ماهی‌ها برای حفظ فرایندهای متابولیکی خود به تغذیه مداوم نیاز دارند (Ahmadnezhad et al., 2014)؛ بنابراین، یافتن تغذیه بهینه برای تاس‌ماهیان برای تنظیم اسمزی و سلامت کلی آنها در سیستم‌های آبی بسیار مهم است.

قابلیت تنظیم اسمزی در تاس‌ماهیان و آزادماهیان با افزایش اندازه بدن ماهی، افزایش می‌یابد (Krayushkina and Semenova, 2006). تعداد سلول‌های کلراید ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* نیز پس از قرار گرفتن در مدت زمان طولانی در آب شور افزایش یافت (Ahmadnezhad et al., 2016). تعداد و اندازه سلول کلراید در تاس‌ماهی ایرانی با افزایش شوری و زمان افزایش یافتند (Kazemi et al., 2006). در پژوهش شاخص‌های تنظیم اسمزی تحت تأثیر شوری محیط پرورش بود؛ اما تأثیر مستقیم تعداد دفعات غذادهی مشاهده نشد با این حال تأثیر

- Behaviour and Physiology, 51:5, 313-325, 1573638.
10. Ghorbani Vaghei, R., Yousefi Jourdehi, A., Pajand, Z., Monsef Shokri, M., and Mohseni, M., 2023. Effects of Different Feeding Regimes on Growth Performance, Survival Rate, Carcass Composition, Fatty Acids Profile, and Digestive Enzyme Activities of Great Sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) Larvae. Aquaculture Research, Publish Online, 1-14.
 11. Jafari, F., Noori, F., Agh, N., Estevez, A., Ghasemi, A., Alcaraz, C., Gisbert, E., 2021. Phospholipids improve the performance, physiological, antioxidative responses and, lpl and igf1 gene expressions in juvenile stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). Aquaculture, 541(3), 736809.
 12. Foyle, K.L., Hess, S., Powell, M.D., Herbert, N.A., 2020. What Is Gill Health and What Is Its Role in Marine Finfish Aquaculture in the Face of a Changing Climate? Frontiers Marine Science, 7(400), 1-16.
 13. Gao, X., Li, Y., Li, X., Wu, F., Song, Ch., Liu, X., 2017. The response and osmotic pressure regulation mechanism of *Haliotis discus hannai* (*Mollusca, Gastropoda*) to sudden salinity changes. Hydrobiologia, 795(1), 181-198.
 14. Kazemi, R., Bahmani, M., Hallajian, A., Yarmohammadi, M., 2006. Blood serum osmotic and ionic regulation of wild adults and reared juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. Iranian journal of fisheries sciences, 6(1) 43-56.
 15. Krayushkina, L.S., Semenova, O.G., 2006. Osmotic and ion regulation in different species of acipenserids (*Acipenseriformes, Acipenseridae*). Journal of Ichthyology, 46, 108-119.
 16. Lee, S., Haller, L.Y., Fangue, N.A., Fadel, J.G., Hung, S.S.O., 2016. Effects of feeding rate on growth performance and nutrient partitioning of young-of-the-year white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquaculture Nutrition, 22(2), 400-409.
 17. Torfi Mozanzadeh, M., Safari, O., Oosooli, R., Mehrjooyan, S., Najafabadi, M.Z., Hoseini, S.J., Saghavi, H., Monem, J., 2021. The effect of salinity on growth Behaviour and Physiology, 51:5, 313-325, 1573638.
 ۲. تاکاشیما، ف.، و هابیما، ت.، ۱۳۸۰. اطلس بافت‌شناسی ماهیان. ترجمه پوستی و صدیق مروستی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.
 ۳. صیاد بورانی، م.، ۱۳۹۲. بررسی قابلیت تحمل به آب دریا و فعالیت آنزیم $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ در طی مراحل مختلف رشد (پار و اسمولت) بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۶(۴)، ۴۲۴-۴۱۴.
 4. Aderolu, A.Z., Seriki, B.M., Apatira, A.L. and Ajaegbo, C.U., 2010. Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and economic viability of rearing African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerlings and juveniles. African Journal of Food Science, 4(5), 286-290.
 5. Ahmadnezhad, M., Oryan, S., Bahmani, M., Sayad Bourani, M., 2014. Osmoregulatory capabilities of Zander (*Sander lucioperca*) fingerlings in different salinities of the Caspian Sea. Iranian journal of fisheries sciences, 13 (2), 247-261.
 6. Ahmadnezhad, M., Oryan, S., Bahmani, M., Sayad Bourani, M., 2016. Comparative analysis of branchial ionocytes in Caspian Sea zander, *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) using $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ immunolocalisation at different salinities. Indian Journal of Fisheries, 63(4), 66-74.
 7. Andrei, R.C., Cristea, V., Dediu, L., Crețu, M., Docan, A. I., 2017. Morphometric characteristics and length-weight relationship of Russian sturgeon juveniles fed with different ratio. Bulletin UASVM. Animal Science and Biotechnologies, 74(2), 119-126.
 8. Chen, X., Liu, S., Ding, Q., Teame, T., Yang, Y. Ran, C. Zhang, Z., Zhou, Z., 2023. Research advances in the structure, function, and regulation of the gill barrier in teleost fish. Water Biology and Security, 2, 2, 100139.
 9. Farshadian, R., Salati, A., Keyvanshokooh, S., Pasha-Zanoosi, H., 2019. Physiological responses of Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) to acute salinity challenge. Marine and Freshwater

- performance, digestive and antioxidant enzymes, humoral immunity and stress indices in two euryhaline fish species: yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 534, 736329.
18. Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G., 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 141 (4), 401–429.
 19. Vaz, P.G., Kebreab, E.O., Hung, S.S., Fadel, J.G., Lee, S., Fangue, N.A., 2015. Impact of Nutrition and Salinity Changes on Biological Performances of Green and White Sturgeon. *PLOS ONE*, 10(4), e0122029.
 20. Zhang, X., Wen, H., Qi, X., Zhang, K., Liu, Y., Fan, H., Yu, P., Tian, Y., Li, Y., 2019. Na^+/K^+ -ATPase and NKA genes in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and their involvement in salinity adaptation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 235, 69–81.