مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۶، دوره ۷۲، شماره ۲، ۲۴۹-۲۴۳
Journal of Veterinary Research. 72,2:243-249, 2017
Original Article

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر بافت آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)

حسن مروتی[1*] رحیم عبدی[2] محمدمهدی شمسی[3]

۱) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲) گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خوزستان، ایران
۳) دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۱ دی ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۲۵ اسفند ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: ماهی بنی از خانواده ی کپورماهیان از گونه‌های مهم و تجاری در منطقه جنوبی ایران و خلیج فارس محسوب شده و از لحاظ تغذیه‌ای و اقتصادی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. **هدف:** با توجه به اهمیت سازگاری ماهیان با شوری‌های مختلف در محیط‌های متفاوت و قدرت تنظیم یونی و اسمزی و حفظ هموستاز بدن مطالعه اخیر صورت گرفته است. **روش کار:** برای انجام این پژوهش تعداد ۱۴۴ قطعه ماهی بنی سالم با میانگین وزنی ۲/۳۶ ± ۳۵۰ g و طول ۱/۲۵ ± ۲۵ Cm در پنج گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه اول به عنوان شاهد در آب معمولی شهری کلرزدایی شده و چهار گروه بعدی به ترتیب در غلظت‌هایی شوری ppt ۴، ۸، ۱۲و ۱۶ در شرایط یکسان نگهداری شدند. در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ از کمان آبششی دوم از سمت چپ نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۰/۵ cm تهیه و در محلول بوئن قرار داده شدند. سپس به روش استاندارد و معمول تهیه مقاطع بافتی برش‌هایی به ضخامت ۶-۵ µm تهیه و رنگ‌آمیزی H&E بر روی آن‌ها انجام گرفت. **نتایج:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که انتقال تدریجی ماهی بنی به آب با شوری بالا باعث تغییرات واضح در تعداد و نحوه توزیع سلول‌های کلراید در روزهای مختلف نمونه برداری همراه بوده است. بویژه این تغییرات در اندازه این سلول‌ها در دو موضع فیلامنتی و لاملایی مشهود بوده است. **نتیجه گیری نهایی:** با توجه به روند کاهشی منابع آب شیرین از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که ماهی بنی تا چه اندازه می‌تواند بدون تغییر در ساختار آبشش در مقابل شوری مقاومت کند. این یافته‌ها نشان داد که ماهی بنی شوری پسند بوده و غلظت ۴ g/l برای آن بهینه و غلظت‌های ۱۲ g/l و ۸ برای آن قابل تحمل می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ماهی بنی، شوری، آبشش، سلول‌های کلراید

مقدمه

ماهی بنی با نام علمی (*Barbus sharpeyi*) از خانواده کپور ماهیان و یکی از آبزیان گرمابی مهم قابل پرورش در منابع آبی است که ارزش اقتصادی وغذایی بالایی دارد. این آبزی از ذخایر ژنتیکی آبزیان درجه یک به شمار رفته و به وفور صید می‌شود (۳). موجودات آبزی باید فشار اسمزی سلول‌هایشان را بوسیله تنظیم جریان یون‌ها و آب از غشای‌سلولی و اغلب با صرف انرژی کنترل و ثابت نگه دارند (۱۴). این توانایی موجود آبزی در تحمل تغییرات وسیع شوری بدون مخاطره فرایندهای زیستی اغلب بوسیله فرایندهای پیچیده سلولی در آبشش انجام می‌پذیرد (۹). در ماهیان دریایی باید با از دست دادن آب از طریق اسمز و ورود یون‌ها از طریق انتشار به محیط داخلی بدن مقابله کنند یعنی با خوردن آب‌دریا، کاهش حجم ادرار و دفع فعال نمک از طریق آبشش و در حالی که مکانیسم‌های معکوسی در ماهیان آب شیرین رخ می‌دهد که با دفع ادرار نسبتاً رقیق، جذب فعال نمک از طریق آبشش و احتمالاً تامین مقداری نمک از غذا این فرایند انجام می‌گیرد (۱۹،۲۷). تنظیم یونی و اسمزی در ماهیان استخوانی بوسیله عملکردهای تلفیقی اندام‌های دخیل در تنظیم‌اسمزی از قبیل آبشش از مهم‌ترین، کلیه و روده صورت می‌گیرد. جابجایی و زندگی در دو محیط مختلف از نظر تغییرات شوری، ترکیبات شیمیایی و فشار اسمزی مستلزم ایجاد سازش‌های خاص و تغییرات فیزیولوژیکی و بافتی در آبزیان می‌باشد تا قادر به حفظ هومئوستازی و زندگی عادی باشند (۲۱). در این رابطه برخی مکانیسم‌های هورمونی وآنزیمی و نیز تغییرات بافتی بویژه در عملکرد آبشش جهت تنظیم اسمزی و غلبه بر استرس‌های مختلف در ماهیان متصور است (۶). با توجه به کاهش منابع آب شیرین و در پاره‌ای از موارد برگشت آب دریا به تالاب در تالاب‌های استان خوزستان درجه شوری آب‌های رودخانه‌ها با آب‌های معمولی متفاوت می‌باشد بنابراین ضرورت انجام این تحقیق بیشتر شده و با این پژوهش می‌توان به این نتیجه رسید که این نوع ماهیان تا چه اندازه می‌توانند بدون تغییر در ساختار وآسیب بافت‌ها در مقابل شوری مقاومت کنند. تغییرات شرایط محیطی مانند تغییرات ناگهانی شوری می‌توانند بر روی بافت‌های در معرض مانند آبشش اترات نا مطلوب بجا گذارند (۴،۲۹). بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر روی آبشش ماهی بنی در تحقیقات بافت‌شناسی، فیزیولوژی، آسیب شناسی و ایمنی شناسی گونه مذکور و همچنین در پیشبرد بهینه پرورش این ماهی کاربرد فراوانی دارد. از آنجاییکه گزارش‌های قابل توجهی در ارتباط با تأثیر درجات مختلف شوری آب بر روی آبشش ماهی بنی وجود ندارد. لذا با توجه به عدم وجود اطلاعات کامل در خصوص پارامترهای ذکر

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۱۷-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: hmorovvati@ut.ac.ir

شـده و ارتباط آن با درجات شـوری مختلف آب محیط زندگی ماهی بنی تحقیق اخیر صورت گرفته است.

مواد و روش کار

انتخـاب شـوری: بـرای انتخـاب درجه شـوری با توجه بـه این که زهکش‌های کشاورزی مانند مزارع نیشکر و مزارع پرورش میگو و ماهی به رودخانه‌ها و تالاب‌های استان خوزستان وارد شده و موجب افزایش شوری آب رودخانه‌هـا و به ویژه تالاب‌ها در حد بالایی خواهند شـد ودر بعضی از مواقـع کـه ورودی رودخانه‌ها پایین بوده و در مدخـل ورودی بعضی از زه آب‌های کشـاورزی که به تالاب‌ها سرازیر می‌شوند شوری آب گاهی تا g/l ۱۶/۲۸ افزایش می‌یابد (۲۰).

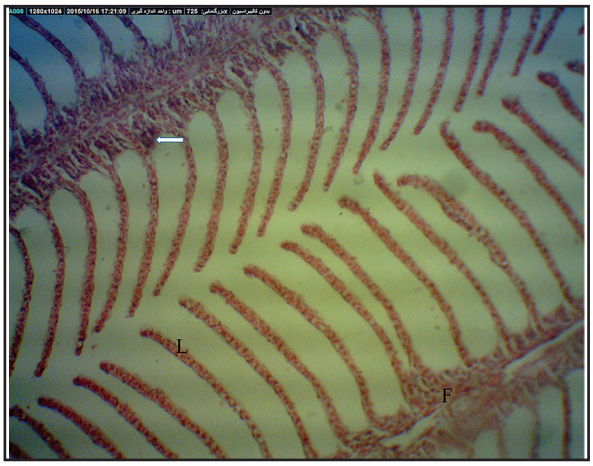
روش انجام تحقیق: در این تحقیق از آب لوله کشی شهری کلرزدایی شـده به عنوان آب شیرین و درجات مختلف شوری توسط نمک بدون ید محصول شـرکت سپید دانه به آب شـهری به دست آمد. درمطالعه حاضر تعداد ۱۴۴ قطعه ماهی بنی سـالم از مزارع پرورش ماهی دشت آزادگان با میانگین وزنی g۲/۳۶±۳۵۰ و طول cm ۱/۲۵ ± ۲۵ در ۵ گروه مورد استفاده قرار گرفت. در طول مدت سـازگاری تغذیه ماهیان با استفاده از کرم خون منجمد شده ماهیران در دو نوبت و با مقادیر برابر با ۴٪ وزن بیوماس موجود انجام گرفت. برای انجـام عملیات این تحقیق از تعداد پنج عدد اکواریوم شیشه‌ای دویست لیتری به ابعاد ۴۰cm × ۶۰ × ۱۰۰ با ارتفاع آب ۴۰cm در کنار یکدیگر و در محیط آزمایشگاه استفاده شد. در طول مدت آزمایش سـنجش خصوصیات فیزیکو شیمیایی آب از قبیل شـوری، دما، pH و با استفاده از رفرکتومتر نوری (Horiba U-۱۰، ژاپن) و بدون خطا، ترمومتر دیجیتالـی (Horiba U-۱۰، ژاپـن) و pH متر دیجیتالی (Horiba-U-۱۰، ژاپـن) انجام گرفته و در طول آزمایش مقدار اکسـیژن محلول حدود ml/g ۲ در دمـای در دمای ۲۶-۲۴ و pH ۷/۵-۷ قرار گرفته و آکواریوم‌ها مجهز به سیستم هوادهی مداوم بودند. گروه اول به عنوان گروه شاهد درآب لوله‌کشی شهری، گروه دوم در محیط با شوریppt ۴، گروه سوم در محیط با شـوری ppt۸، گروه چهارم در محیط با شـوری ppt۱۲و گروه پنجم در شوری ppt۱۶ و در شرایط یکسـان نگه‌داری شدند. جهت نمونه‌برداری از ماهیان مورد آزمایش درتیمارهای مختلف قبل از آغاز آزمایش و درسه بازه ی کوتـاه مدت، میان مدت و بلند مدت پـس از انتقال انجام گرفت. بدین ترتیب در فاصله زمانی (۲۸ و۲۱، ۱۴، ۷، ۳، ۱) روز پس از انتقال ماهیان به تیمارهای مختلف پس از ثبت میزان تلفات، تعداد ۲ عدد ماهی به تصادف از هر تیمار آب شور و شاهد انتخاب و بلافاصله در داخل وان فایبر گلاس ۲۰ لیتری حاویppm ۱۰۰ ماده بیهوشـی عصـاره میخک پس از ایجاد بیهوشـی کامل و توقف کامل حرکت سرپوش‌های آبششی طرفین سر و انجـام بیومتری (ثبت مقادیر طول کل، طول اسـتاندارد و وزن کل) کمان آبششـی دوم به طور کامل از نیمه آبششی سـمت چپ ماهی جدا گردید (۲۶). جهـت تهیه مقاطع میکروسـکوپی از نمونه‌های مـورد نظر از روش معمول تهیه مقاطع بافتی استفاده شدو برش‌هایی به ضخامت حداکثر µm ۶-۵ تهیه گردید و سپس نمونه‌ها مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) ورنگ آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف (PAS) قرار گرفت. برای مطالعه هیسـتومتری و شمارش تعداد سـلول‌های کلراید موجود در فضای بین تیغه‌ای و تیغه‌ای-رشته‌ای (در چندین مقطع از هر نمونه بافت آبشش از میکروسکوپ نوری مجهز به لنز Dino Lite و نرم افزار Dino Capture نسخه ۲/۰ استفاده گردید (۲۵). کلیه آنالیزهای آماری اطلاعات مربوط به تعداد سـلول‌های کلراید بررسـی تأثیر شوری و زمان روی تغییر تعداد سـلول‌های کلرایدو برای مقایسـه تأثیر شوری و زمان در تغییرتعداد سلول‌های کلراید و میزان بقاء توسط نرم افزار SPSS ۱۸ انجام گرفت (۳).

نتایج

در مشاهدات ماکروسکوپی مشخص گردید که گروهی از ماهیان که در شوری g/l ۱۶ قرار گرفته بودند این شوری را تحمل نکرده و پس از ۱۲ سـاعت همگی تلف گردیدند. همچنین ماهیانی که در شوری ppt۱۲ قرار گرفته بودند تنها یک قطعه و در روز ۲۶ تلف گردیدند. اما سایر ماهیانی که در شـوری‌های ppt ۴، ۸ قرار گرفته بودند تـا آخر دوره هیچ گونه تلفاتی مشاهده نگردید. این تغییرات نشان داد ماهی بنی یک ماهی شوری پسند

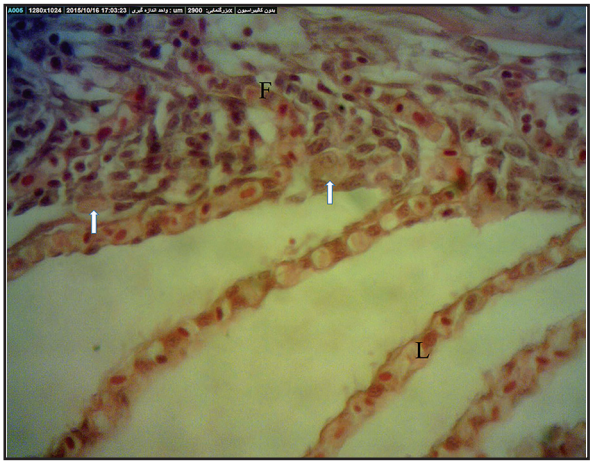
جدول ۱. تعداد و مساحت سلول‌های کلراید (Mean ± Se) موجود در دو موضع فیلامنت و لاملا در آب شیرین و شوری‌های مختلف.

روز موضع	۱	۳	۷	۱۴	۲۱	۲۸
تعداد فیلامنت و لاملا (آب شیرین)	۱/۲۳±۵/۲۱	۱/۲۳±۵/۲۱	۱/۲۳±۵/۲۱	۱/۲۳±۵/۲۱	۱/۲۳±۵/۲۱	۱/۲۳±۵/۲۱
مساحت فیلامنت و لاملا (آب شیرین)	۰/۱۳±۱۰/۲۲	۰/۱۳±۱۰/۲۲	۰/۱۳±۱۰/۲۲	۰/۱۳±۱۰/۲۲	۰/۱۳±۱۰/۲۲	۰/۱۹±۱۱/۲۱
تعداد فیلامنت و لاملا(ppt ۴)	۵/۳۷±۱۱	۱/۲۷±۱۱	۵/۰۷±۱۲	۱/۱۱±۱۳	۱/۱۳±۱۴	۱/۱۷±۱۳
مساحت فیلامنت و لاملا (ppt ۴)	۰/۳۳±۶/۵۳	۱/۲۵±۷/۵۰	۰/۴۵±۸/۵۱	۰/۲۲±۸/۵۰	۰/۲۸±۱۰/۲۲	۰/۰۵±۹/۵۲
تعداد فیلامنت و لاملا(ppt ۸)	۱/۱۲±۱۵/۹۳	۲/۱۴±۱۶/۹۰	۳/۹۴±۱۸/۲۳	۳/۰۴±۱۸/۹۳	۳/۱۱±۲۰/۳۳	۲/۱۴±۱۹/۹۳
مساحت فیلامنت و لاملا (ppt ۸)	۱/۳۱±۹/۲۰	۰/۳۶±۱۰/۲۰	۰/۹۱±۱۰/۲۳	۰/۳۶±۱۱/۲۰	۰/۱۱±۱۳/۰۲	۰/۳۳±۱۲/۰۲
تعداد فیلامنت و لاملا(ppt ۱۲)	۱/۰۹±۲۰/۳۳	۳/۷۰±۲۰/۲۲	۴/۷۱±۲۱/۱۱	۶/۷۰±۲۲/۰۰	۴/۷۱±۲۴/۰۱	۲/۷۲±۲۳/۰۰
مساحت فیلامنت و لاملا (ppt ۱۲)	۷/۱۷±۹/۳۳	۰/۹۹±۹/۴۱	۰/۶۶±۱۰/۴۳	۰/۱۹±۱۰/۴۳	۰/۱۶±۱۲/۱۱	۰/۱۳±۱۱/۴۱



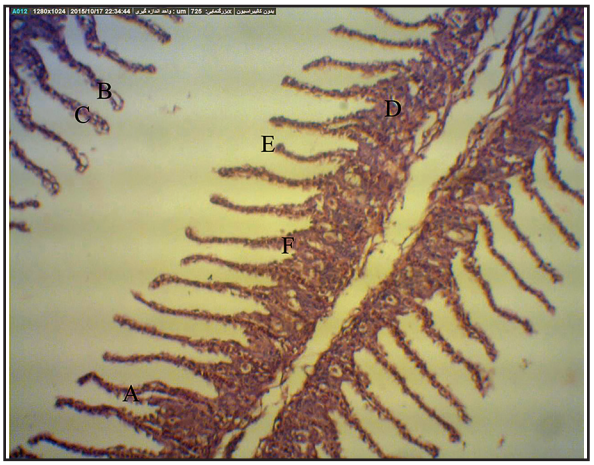
تصویر۱. نمونه آبشش شاهد، فیلامنت (F)، لاملا (L)، سلول کلراید (پیکان)، (H&E, x۷۲۵).

تصویر۲. نمونه آبشش شوری ppt ۴ در روز ۱۴، فیلامنت (F)، لاملا (L)، سلول کلراید (پیکان)، (H&E, x۲۹۰۰).



تصویر۳. نمونه آبشش شوری ppt ۸ در روز ۱۴، فیلامنت (F)، لاملا (L)، سلول‌های کلراید (پیکان‌ها)، (H&E, x۲۹۰۰).

تصویر ۴. نمونه آبشش شوری ppt ۱۲ در روز ۱۴، فیلامنت (F)، لاملا (L)، سلول‌های کلراید (پیکان‌ها)، (H&E, x۲۹۰۰).



تصویر ۵. نمونه آبشش شوری ppt ۱۶ در ساعت ۱۲ به همراه ضایعات: کنده شده لایه اپیتلیال (A)، هیپرپلازی لاملا (B)، چماقی شدن (C)، هیپرتروفی (D)، کوتاه شدن لاملا (E) و پرخونی (H&E, x۲۹۰۰) ،(F).

تا غلظت ۸g/l می‌باشد و حتی می‌تواند غلظت‌های تا ۱۲g/l را نیز تحمل کند. آبشش‌های ماهی بنی از چهار زوج کمان آبششی و در طرفین سر قرار گرفته بودند بطوریکه هر کمان از فضایی پشتی شکمی گسترش یافته و از سقف دهان تا کف حفره دهانی امتداد یافته بودند. همچنین از لبه قدامی هر کمان دو هولوبرانش آبششی بوجود آمده بودند. در مطالعات میکروسکوپی فیلامنت‌ها ساختار غضروفی مرکزی، شریانچه‌های آوران و وابران و بافت پوششی یکپارچه ظریف مشاهده گردید. ساختار لاملاهای ثانویه بصورت واحدهایی عمود بر فیلامنت‌ها و از ناحیه ی فوقانی وتحتانی لاملاهای اولیه نشـات گرفته بودند. بافت پوششی آن بروی غشا پایه قرار گرفته و توسط سلول‌های پیلار حمایت می‌شـدند. همچنین سلول‌های کلراید در مقاطع میکروسکوپی بدلیل رنگ اسیدوفیل از سایر سلول‌های بافت پوششی قابل تشخیص بودند بطوریکه مرفولوژی عمومی این سلول به طور مستقیم تحت تأثیر شوری آب قرار گرفته بود. در این مطالعه دو دسته عمده از سلول‌های کلراید در بافت پوششـی آبشش ماهی بنی قابل تشخیص بودند یکدسته دارای اشکال کروی و در فیلامنت آبششی و دسته دیگر در موضع لاملایی قرار گرفته اند و عموماً به صورت سـلول‌هایی اسـتوانه‌ای متمایز بودند. با انتقال تدریجی ماهی بنی به آب با درجات شوری مختلف شور با تغییرات عمده‌ای در تعداد، مسـاحت و نحوه توزیع سلول‌های کلراید همراه گردید. در مجموع تعداد سـلول‌های کلراید فیلامنتی با افزایش شـوری تا شوری

۱۲ppt افزایش یافت. بیشترین تعداد سلول‌های کلراید لاملایی متعلق به شوری ۴ppt و کمترین تعداد متعلق به شوری ۸ppt بدست آمد. همچنین بزرگترین سطح سلول‌های کلراید فیلامنتی متعلق به شوری ۱۲ppt و کوچکترین اندازه متعلق به شوری۴ppt بدست آمد. در صورتیکه بزرگترین سطح سلول‌های کلراید لاملایی متعلق به شوری ۱۲ppt و کوچکترین اندازه متعلق به شوری ۸ppt گزارش گردید (تصاویر ۱ الی ۵ و جداول ۱).

بحث

میزان بقاء و تلفات: بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش مشخص گردید که ماهی بنی شوری در حد ۴g/l را با کمترین تغییرات در ساختار می‌پسندد. و نیز می‌تواند غلظت‌های شوری در حد ۱۲g/l و ۸ را با اعمال تغییراتی در ساختار تحمل کند اما غلظت‌های شوری بالاتر از ۱۲g/l برای ماهی بنی غیرقابل تحمل می‌باشد بطوریکه که در این غلظت همه ماهیان درمدت کمتر از چند ساعت تلف گردیدند. زیرا محققین بر این باورند که مساله تنظیم اسمزی در ماهیان به عنوان یک پروسه چند متغیره مطرح و بازتابی از فاکتورهای درگیر در این دسته از موجودات می‌باشد (۲). سازگاری با درجات متنوع شوری شامل هماهنگی پاسخ‌های فیزیولوژیکی در عملکرد چندین ارگان تنظیم کننده اسمزی می‌باشد که تنظیم آب و یون‌ها را در آبشش‌ها، سیستم ادراری، روده و پوست بر عهده دارند (۲۴). در یک تحقیق پس از انتقال تدریجی ماهی تیلاپیا از آب شیرین به شوری تا ۳۵ ppt تلفاتی مشاهده نگردید در حالی که در انتقال مستقیم به شوری۲۵ppt در عرض کمتر از یک ساعت مرگ و میر حاصل گردید که دلیل آنرا در کاهش اندازه سلول‌های کلراید، دهیدراته شدن و نیز کاهش فعالیت Na-K ATPase گزارش کردند (۵). همچنین در پرورش یک ماهه ماهی گامبوزیای بالغ پس از انتقال مستقیم به شوری‌های ۵ppt تا ۳۰ppt با میزان تلفات ۲۰ درصدی مواجه گردیدند (۱۱). در یک مطالعه بر روی استورژن‌های جوان، همه ماهیان در اندازه‌های مختلف در عرض ۲۰-۱۰ ساعت پس از انتقال مستقیم از آب شیرین به آب شور با غلظت ۳۰ppt تلف شده و در شوری ۳۰ppt ، ۵۰٪ از ماهیان بزرگ و ۶۷٪ از ماهیان با اندازه متوسط از بین رفتند این در حالی است که که در انتقال تدریجی و آداپتاسیون این ماهیان طی دو هفته، در شوری ۲۰ppt و سپس انتقال به شوری ۳۴ppt هیچ تلفاتی در هیچ اندازه‌ای گزارش نگردید (۵). همچنین با بررسی میزان بقاء گونه‌های مختلف آزاد ماهیان (۲۳) پس از انتقال مستقیم به شوری‌های مختلف دلایل عمده‌ای همانند تغییر میزان نسبت سطح به حجم در ماهی و با افزایش سن ماهی احتمالاً با افزایش ضخامت پوست و آبشش و کاهش میزان نفوذ پذیری این اندام‌ها همراه خواهد شد (۲۰). در این حالت دفع آب بدن از غشاهای نفوذ پذیری همچون آبشش و پوست با شدت کمتری صورت خواهد پذیرفت. در نهایت یا افزایش سن، مکانیسم‌های دخیل در تنظیم اسمزی از قبیل افزایش تعداد سلول‌های کلراید می‌تواند تقویت گردد (۲۷).

تغییر تعداد سلول‌های کلراید: در این مطالعه سلول‌های کلراید در ساختار آبشش در دو موضع فیلامنتی و لاملایی به طور کامل قابل تشخیص بوده‌اند بطوریکه سلول‌های کلراید فیلامنتی در فضای بین لاملایی و بیشتر در قسمت قاعده‌ای با ساختارهای تقریباً کروی در تمامی شوری‌ها و به تعداد بیشتری در شوری‌های بالاتر و و سلول‌های کلراید لاملایی در قسمت لاملای آبششی و به شکل تقریباً استوانه‌ای و در تمامی شوری‌ها با تفاوت جزئی در شوری‌های پایین‌تر قابل مشاهده بوده‌اند. این سلول‌ها در رنگ آمیزی‌های معمول بافت شناسی دارای اندازه بزرگتری نسبت به سایر سلول‌ها و سیتوپلاسم دانه دار می‌باشند (۷،۱۶). بررسی‌های انجام شده بر روی آبشش سایر ماهیان حاکی از حضور مکانیسم‌های مشابه متفاوت در گونه‌های مختلف می‌باشد برای مثال در ماهی خاویاری (*Huso huso*) در محیط‌های‌هایپر اسموتیک تعداد و مساحت سلول‌های کلراید افزایش یافته در حالی که در گونه (*Adriatic nacarii*) کاهش در فاکتورهای فوق در سلول‌های کلراید گزارش گردید (۸،۱۷) که با یافته‌های تحقیق اخیر مطابقت دارد. اما در یک تحقیق تعداد سلول‌های کلراید در ماهی قزل آلای آداپته شده با آب شیرین بیشتر از قزل آلای آداپته شده در آب شور گزارش گردید بطوریکه در مطالعه حاضر همانطوری که Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۰۲ در مورد استورژن‌های جوانی که در محیط‌های ایزو اسموتیک وهایپر اسموتیک قرار گرفته بودند گزارش کردند که یک‌هایپرتروفی در مساحت و افزایش فعالیت پمپ Na^{+}-K^{+} ATPase سلول‌های کلراید دیده شد و تحمل شوری را در این گونه ماهی‌ها افزایش داده است (۲۳). در یک مطالعه بر روی تغییرات فیزیولوژیکی آبشش ماهی تیلاپیا در انتقال تدریجی ماهیان از شوری‌های ۵ppt تا ۳۶ سطح و تعداد سلول‌ها به طور قابل توجهی با افزایش شوری افزایش یافته و بیشترین مساحت مربوط به شوری ۳۶ppt گزارش گردید این درحالی است که بیشترین تعداد این سلولها در شوری ۱۵ppt و کمترین آن در شوری ۳۶ppt دیده شده است (۲۸). همچنین محققین اختلاف معنی‌داری در تعداد سلول‌های کلراید مشاهده شده در تیلاپیای آداپته شده با آب شیرین و شور مشاهده ننمودند اما اندازه سلول‌های کلراید در تیلاپیای آداپته شده در آب شور را دو برابر بزرگتر از تیلاپیای آداپته شده در آب شیرین گزارش کردند (۱۲،۱۸). در مطالعات ما نیز اندازه سلول‌های کلراید با افزایش شوری افزایش معنی‌داری را نشان داد که نظرات سایر محققین تأییدکننده این مطالعات بوده است. .بررسی تأثیر تغییرات شوری بر روی تغییرات سلول‌های کلراید آبششی ماهی سرخو (*Pagrus auratus*) حاکی از تفاوت تعداد سلول‌های کلراید کروی و استوانه‌ای موجود در فضای بین لاملایی و فیلامنتی در شوری‌های مختلف بود. به طوریکه انتقال مستقیم ماهیان از شوری ۳۰ppt به شوری ۴۵ppt با عدم تغییر در تعداد سلول‌های کلراید لاملایی و فیلامنتی همراه بوده است. در صورتیکه انتقال مستقیم ماهی سرخو از شوری ۳۰ppt به

شوری ۱۵ppt با کاهش تعداد و مساحت سلول‌های کلراید لاملایی همراه گردید. اما هیچ گونه تغییری در تعداد سلول‌های کلراید فیلامنتی مشاهده نگردید (۱۳). در مطالعه انجام شـده توسـط kaneko و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ماهیان سـازش یافته killifish با آب شـیرین پس از انتقال به آب شور مشـاهده کردند که تعداد سلول‌های کلراید بشدت افزایش یافته است (۱۵). در مطالعه اخیر با انتقال مستقیم ماهی بنی از آب شیرین به آب شور نتایج متفاوتی را در تغییر تعداد و مساحت سلول‌های کلراید در مواضع فیلامنتی نسـبت به مواضع لاملایی در برداشته است. به نحویکه افزایش شـدید در تعداد سـلول‌های کلراید این ناحیه در طـول ۲۱ روز اول دوره سازگاری در تمام شوری‌ها، الگوی تغییر تعداد سلول‌های کلراید را در این ناحیه، به طرحی کاملاً متفاوت با ناحیه تیغه‌ای تبدیل نموده است. بطوریکه با گذشـت زمان و پس از طی دوره سازگاری، میتوان الگوی متفاوتی را در تغییر تعداد سلول‌های کلراید انتظار داشت. در مطالعه حاضر پس از انتقال ماهیان به شوری‌های بالاتر در دراز مدت تغییرات قابل ملاحظه‌ای در تعداد سـلول‌های کلراید لاملایی رویت نگردیده و تمایل سـلول‌های کلراید به حفظ تعادل در یک تراکم بالاتر امری مشهود به نظر میرسید. در مجموع با توجه به این که ماهی بنی، از ماهیان آب‌های شیرین ایران بوده و از ذخایر ژنتیکی درجه یک و بسیار ارزشمند کشور محسوب شده و از جایگاه خاصی از لحاظ خوراکی در میان مردم و هم در بین آبزیان منطقه به منظور پرورش و تولید برخوردار می‌باشد. نظر به واکنش‌های هیستولوژیکی ماهی در ایجاد حالت تطابق زیسـتی به منظور کاهش شرایط استرس‌زای محیطی مانند افزایش درجه شـوری، ماهی بنی یک ماهی شوری‌پسند بوده و در صورت تغییر شـرایط فعلی آب شیرین به سمت آب شـور می‌تواند در محدوده‌ی غلظت‌های شوری ۴g/l الی ۱۲ مورد تکثیر و پرورش قرار گیرد.

تشکروقدردانی

نویسـندگان این مقاله مراتب تشـکر و قدردانی خویش را از پرسـنل ایسـتگاه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی دشت آزادگان و معاونت محترم پژوهشی دا نشگاه تهران بخاطر مساعدت‌ها و حمایت‌هایشان در انجام این تحقیق اعلام می‌دارند.

References

1. Barot, J., Bahadur, A. (2013) Behavioral and histopathological effects of azo dye on kidney and gills of Labeo rohita fingerlings. J Environ Biol. 34: 147- 152.
2. Boutet, I., Longky, C.L., Bonhomme, F. (2006) A transcriptomic approach of salinity response in the euryhaline teleost., Dicentrarchus labrax. Gene. 379: 40-50.
3. Bowden, A., Gardiner, N., Couturier, C., Stecyk, J., Nilsson, G. (2014) Alterations in gill structure in tropical reef fishes as a result of elevated temperatures. Comp Biochem Physiol. 175: 64-71.
4. Butchiram, M.S., Vijaykumar, M., Tilak, K.S. (2013) Studies on the histopathological changes in selected tissues of fish Labeo rohita exposed to phenol. J Environ Biol. 34: 247-51.
5. Carmona, R., Garcia-Gallego, M., Sanz, A., Domezain, A., Ostos-Garrido, M.V. (2004) Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of Acipenser naccarii: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. J Fish Biol. 64: 553-566.
6. Chen, C.N., Lin, L.-Y. and Lee, T.-H. (2004) Ionocyte Distribution in Gills of the Euryhaline Milkfish, Chanos chanos (Forsskål, 1775). Zool Studies. 43: 773-777.
7. Denson, M.,Stuart, K.and Smith, T. (2003) Effects of salinity survival, growth and hematological parameters of juvenile cobia Rachycentron canadum. J World Aqua Society. 34: 496-504.
8. Evans, D.H. (2008) Teleost fish osmoregulation: what have we learned since August Krogh,Homer Smith, and Ancel Keys. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 295: R704-R713.
9. Evans, D.H., Claiborne, J.B. (2006) The physiology of fishes (3rd ed.). CRC press. New York, USA.
10. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P. (2005) The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. Physiol Rev. 85: 97-177.
11. Fielder, D.S., Allan, G., Pepperall, D., Pankhurst, P.M. (2007) The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. Aqua. 272:656-666.
12. Hiroi, J., Mc Cormick, S. (2007) Variation in salinity tolerance, gill Na+/K+-ATPase, Na +/K+/2Cl− cotransporter and mitochondria-rich cell distribution in three salmonids Salvelinus namaycush, Salvelinus fontinalis and Salmo salar. J Exp Biol. 210: 1015-1024.

13. Hirose, S., Kaneko , T., Naito , N., Takei, Y. (2003) Molecular biology of major components of chloride cells. J Com Biochem Physiol. Part B. 136: 593-620.
14. Inoue, K., Takei, Y. (2003) Diverse adaptability in Oryzias species to high environmental salinity. Zool Sci. 11: 35-41.
15. Kaneko, T., Shiraishi, K., Katoh, F., Hasegawa, S., Hiroi, J. (2008) Chloride cells during early life stages of fish and their functional differentiation. Fisheries Sci. 68: 1 -9.
16. Kevin, M.P., Alan, T.H., Paul, L.K., Paul, L.L. (2008) Adaptation as a potential response to sea-level rise: a genetic basis for salinity tolerance in populations of a coastal marsh fish. Evol Appl. 1: 155-160.
17. Khodabandeh, S., Khoshnood, Z., Mosafer, S. (2009b) Immunolocalization of Na+, K+-ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, Acipenser persicus, fry. Aquaculture Res. 40: 329 -336.
18. Lin, H.C., Sung, W.T. (2003) The distribution of mitochondria-rich cells in the gills of air-breathing fishes. Physiol Biochem Zool. 76: 215-228.
19. Lin, Y.M., Chen, C.N., Lee, T.H. (2003) The expression of gill Na,K-ATPase in milkfish, Chanos chanos, acclimated to seawater, brackish water and freshwater. Comp Biochem Physiol A. 135: 489-497.
20. Dehghan Madiseh, S., Savary, A., Parham, H., Sabzalizadeh, S. (2009) Determination of the levels of contamination in Khuzestan coastal waters by using an ecological risk index. Environ Monit Assess. 159: 521-530.
21. Palstra, A., Planas, J. (2012) Swimming Physiology of Fish: Towards Using Exercise to Farm a Fit Fish in Sustainable. Aqua. 61: 101-108.
22. Perry, S.F., Lopez, L.R., McNeill, B., Wilson, J. (2006) Fooling a freshwater fish: how dietary salt transforms the rainbow trout gill into a seawater gill phenotype. J Exp Biology. 209: 4591-4596
23. Rodriguez, A., Gallardo, M.A., Gisbert, E., Santilari, S., Ibarz, A., Sanchez, J., Castello, O. (2002) Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon Acipenser baerii. Fish Physiol Biochem. 26: 345-354.
24. Tang, C.H., Wu, W.Y., Tsai, S.C., Yoshinaga, T., Lee, T.H. (2010) Elevated Na+, K+-ATPase responses and its potential role in triggering ion reabsorption in kidneys for homeostasis of marine euryhaline milkfish Chanos chanos when acclimated to hypotonic fresh water. J Comp Physiol. 180: 813 -824.
25. Tsuzuki, M.Y., Cerqueira, V.R., Teles, A., Doneda, S. (2007) Salinity tolerance of laboratory reared juveniles of the fat snook centropomus parallelus. Brazilian J Oceanography. 55: 97-102.
26. Wang, P., Lin, C., Hwang, L., Huang, C., Lee, T., Hwang, P. (2013) Differential responses in gills of euryhaline tilapia, Oreochromis mossambicus, to various hyperosmotic shocks. Comparative Biochem and Physiol. 152 : 544-551.
27. Wang, P., Lin, C., Hwang, L., Huang, C., Lee, T., Hwang, P. (2009) Differential responses in gills of euryhaline tilapia, Oreochromis mossambicus, to various hyperosmotic shocks. Comparative Biochem and Physiol. 152: 544-551.
28. Wegner, N.C., Sepulveda, C.A., Bull, K.B., Graham, J.B. (2010) Gill morphometrics in relation to gas transfer and ram ventilation in high-energy demand teleosts: Scombrids and billfishes. J Morphol. 271: 36-49.
29. Wilson, J.M., D.J., Randall, M., Donowitz, A.W., Vogl, A. (2000) Immunolocalization of ion-transport proteins to branchial epithelium mitochondria-rich cells in the mudskipper Periophthalmodon schlosseri. J Exp Biol. 203: 2297-2310.

Effect of different salinity concentration on gill of benni *Barbus sharpeyi*

Morovvati, H.[1*], Abdi, R.[2], Shamsi, M.M.[3]

[1]*Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

[2]*Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Khozestan, Iran*

[3]*Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

(Received 31 December 2016, Accepted 15 March 2017)

Abstract:

BACKGROUND: Benni of cyprinidae family is important for nutrition and economic and commercial species in the south of Iran and the Persian Gulf region. **OBJECTVES:** To investigate the importance of compatibility of fishes with different salinity in different areas and ability of osmoregulation along with maintenance of homeostasis. **METHODS:** For this study, 144 healthy *Barbus sharpeyi* with an average weight of 350±2.36 grams and length 25±1.25 cm in five groups were studied. The first group as control was located in municipal dechlorinated water and the next four groups respectively were kept in salinity 4ppt, 8ppt, 12 ppt and 16ppt in the same condition. On days 1, 3, 7, 14, 21 and 28 the second gill arch with maximum thickness of 0.5 cm from the left were prepared and placed in Bouin's solution.Then the standard method of paraffin sections was done and tissue sections, 5-6 micrometer thick were prepared and stained with H&E methods. **RESULT:** Results showed the gradual transfer of fish to water with high salinity caused obvious changes in the number and distribution of chloride cells on different days. In particular, the changes in the size of these cells in two positions, filament and Lamella were evident. **CONCLUSIONS:** Due to the decrease of freshwater resources, from this research it can be concluded that the *Barbus sharpeyi* can resist the salinity without tissue changing. These findings suggest that *Barbus sharpeyi* is compatible with salinity and the concentration of 4ppt was optimum and concentrations of 8ppt and 12 ppt were tolerable.

Keyword: *Barbus sharpeyi*, salinity, gill, chloride cell

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Number and area of chloride cells (Mean ± Se) in lamella and filament of fresh water and different salinity.

Figure 1. Gill of control group, Filament (F), Lamella (L), Chloride cell (Arrow), (H&E, x725).

Figure 2. Gill of 4ppt salinity in 14 days, Filament (F), Lamella (L), Chloride cell (Arrow), (H&E, x2900).

Figure 3. Gill of 8ppt salinity in 14 days, Filament (F), Lamella (L), Chloride cells (Arrows), (H&E, x2900).

Figure 4. Gill of 12ppt salinity in 14 days, Filament (F), Lamella (L), Chloride cells (Arrows), (H&E, x2900).

Figure 5. Gill of 16ppt salinity in 12 hours with histopathology: Epithelial lifting (A), Lamella hyperplasia (B), Clubbing (C), Hypertrophy (D), Shorten lamella (E),Hyperemia (F), (H&E, x2900).

***Corresponding author's email: hmorovvati@ut.ac.ir, Tel: 021-61117117, Fax: 021-66933222**