

مقاله پژوهشی

اثر شوری زیستگاه‌های مختلف بر بافت کلیه بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii*)

انگشت‌قد

محدثه احمدنژاد^{۱*}، مهدی مرادی چافی^۲، محمود بهمنی^۳، محمد صیاد بورانی^۴، عادل حسینجانی^۵، حسین صابری^۶، کیوان عباسی^۷، فرشاد ماهی‌صفت^۸، جلیل سبک‌آرا^۹، سپیده خطیب حقیقی^۹، عظمت دادای قندی^۸، هادی بابایی^۸

DOI: 10.22124/japb.2024.25055.1505

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۲

چکیده

مهاجرت ماهیان به دریا مستلزم کسب توانایی تنظیم اسمزی در مواجهه با شوری است و تغییر در ساختار و عملکرد بسیاری از اندام‌ها از جمله کلیه در توسعه این فرایند دخیل است. در این مطالعه تغییرات کمی و کیفی بافت کلیه بچه ماهیان سفید (*Rutilus frisii*) در مواجهه با شوری آب ناحیه مصبی و ساحلی دریای خزر بررسی شد. سه گروه وزنی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم از بچه ماهیان در ناحیه ساحل کیشهر به مدت ۱۰ روز در سه محیط طبیعی رودخانه (آب شیرین)، مصب (۶-۷ در هزار) و ساحل دریای خزر (۱۱-۱۲ در هزار) تیمار شدند. در ابتدا (ساعت صفر) و انتهای آزمایش (۲۴۰ ساعت) تعداد ۶ بچه ماهی از هر گروه وزنی در هر تیمار صید شد و پس از تشریح و جداسازی بافت کلیه، مساحت و قطر گلومرول و کیپسول بومن اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ۲۴۰ ساعت پس از ورود به سه تیمار، با افزایش شوری اندازه تمام شاخص‌های بافتی کلیه به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$)، به طوری که میزان این کاهش در وزن‌های ۱ و ۱/۵ گرم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه ۰/۵ گرم بود ($P < 0.05$). تغییرات کیفی شامل کاهش وسعت لوله‌های پیچیده نزدیک و دور پس از مواجهه با شوری در هر سه گروه وزنی مشاهده شد. کاهش اندازه گلومرول در دو محیط لب‌شور مصب و ساحلی می‌تواند به این علت باشد که نوشیدن دائمی آب در این دو محیط سبب می‌شود یون‌های کافی در اختیار بدن قرار بگیرد و نیازی به گلومرول‌های وسیع برای فیلتراسیون نباشد. در مطالعه حاضر، دو وزن ۱ و ۱/۵ گرم قادر به سازش با شرایط افزایش در شوری محیط به هنگام رهاسازی و قرار گرفتن در محیط‌های مصبی و ساحلی دریای خزر هستند.

واژگان کلیدی: تنظیم اسمزی، دریای خزر، کیپسول بومن، گلومرول، ماهی سفید.

- ۱- استادیار پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۲- کارشناس ارشد شیلات، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۳- استاد موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
- ۴- دانشیار پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۵- دکتری شیمی، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۶- کارشناس آمار، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۷- کارشناس شیلات، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
- ۸- کارشناس ارشد شیمی، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

* نویسنده مسئول: m_ahmadnezhad@yahoo.com

مقدمه

ماهیان و اخیراً با مشارکت صیادان پره محلی در استخرهای ساحلی اجرا می‌شود (Abdolmaleki et al., 2015). رودخانه سفیدرود و انشعابات فرعی آن از جمله رودخانه اسکله بندر کیشهر از رودخانه‌های محل مهاجرت این ماهی در محدوده سواحل استان گیلان محسوب می‌شوند (Abbasi et al., 2016). از این رو، همواره از جمله مکان‌های منتخب برای رهاسازی بچه ماهیان به دست آمده از تکثیر مصنوعی در مراکز بازسازی ذخایر این استان بوده‌اند (Abdolmaleki et al., 2015; Ahmadnezhad et al., 2022). خشکسالی و کم شدن آب رودخانه‌ها تحت تاثیر پدیده تغییر اقلیم و نیز آلودگی آنها به دلیل فعالیت‌های انسانی، همچنین دشواری حمل و نقل بچه ماهیان به دست آمده از تکثیر طبیعی در استخرهای ساحلی تا مکان رهاسازی آنها در رودخانه‌ها سبب شد تا امکان رهاسازی مستقیم این بچه ماهیان به آب لب‌شور نواحی مصبی و یا ساحلی دریای خزر مورد بررسی قرار گیرد. آمادگی برای مهاجرت به دریا در بچه ماهیان، مستلزم تغییرات فیزیولوژیکی مهم از جمله کسب توانایی تنظیم اسمزی برای تحمل شوری دریا است (Takvam et al., 2021).

ماهی سفید (*Rutilus frisii*) مهم‌ترین گونه ماهی استخوانی سواحل ایرانی دریای خزر است که برای تولیدمثل به رودخانه‌های منتهی به این دریا مهاجرت می‌کند (Abbasi et al., 2016). از اوایل سده گذشته، عوامل مختلفی همچون اثرات پسروری و پیشروی آب دریای خزر، آلودگی شیمیایی و فیزیکی آب رودخانه، استفاده از آب رودخانه‌ها برای کشاورزی، افزایش رسوبات رودخانه و ورود فاضلاب‌های شهری و صنعتی، پساب‌های کشاورزی و غیره به داخل رودخانه‌ها باعث از بین رفتن نقاط اصلی تخم‌ریزی ماهیان رود کوچ بویژه ماهی سفید شدند. همچنین افزایش جمعیت و به دنبال آن افزایش تقاضا و نیز تغییر در شیوه صید، موجب صید بی‌رویه و غیراصولی بویژه به هنگام مهاجرت تولیدمثلی به رودخانه‌ها و تالاب انزلی و در نهایت سبب کم شدن نسل این گونه و حتی تهدید آن به انقراض شده است. وجود عوامل بازدارنده موفقیت تولیدمثل طبیعی این ماهی و کاهش میزان صید آن باعث شد تا از اوایل دهه ۶۰ تکثیر مصنوعی و رهاسازی انبوه بچه ماهیان سفید در دستور کار شیلات قرار گیرد. برنامه تکثیر و رهاسازی بچه ماهیان به رودخانه‌ها هر ساله توسط مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر

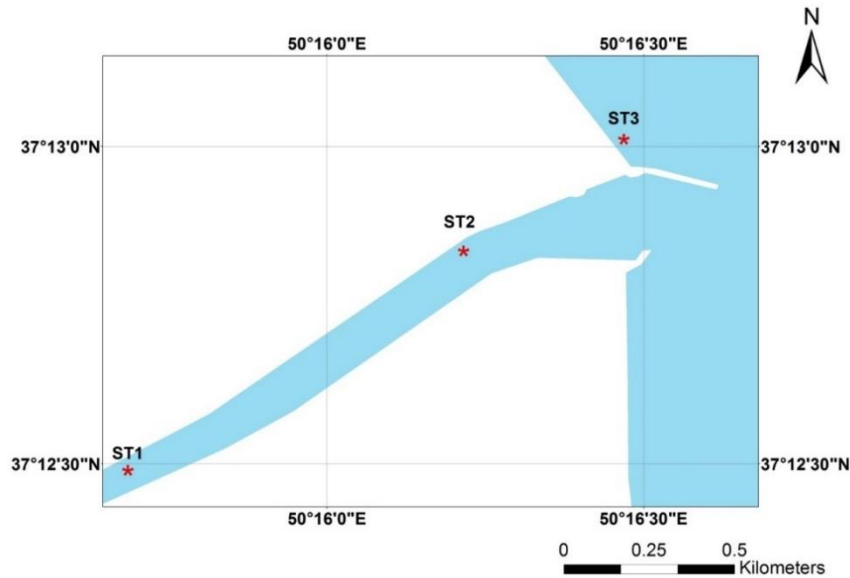
مراحل خاصی از چرخه زندگی خود بین محیط‌های آب شیرین و شور رفت و آمد می‌کنند (مثل مهاجرت بچه ماهیان از رودخانه به دریا)، قادر هستند مکانیسم تنظیم فشار اسمزی خود را از حالت تنظیم در آب شیرین به حالت تنظیمی در آب شور تبدیل کنند (Evans, 2010). تغییر در ساختار و عملکرد کلیه یکی از فرایندهای دخیل در این تبدیل وضعیت تنظیمی در ماهیان تنظیم کننده اسمزی است (Kultz et al., 2015). در لامپری‌ها که رودکوچ بوده و در چرخه زندگی خود بین محیط شور و شیرین رفت و آمد هستند، برای تنظیم اسمزی و سازگار شدن با شرایط تغییر شوری، تغییراتی در تعداد و طول لوله‌های نفرونی بویژه در لوله پیچیده دور رخ داده است (Wiener, 2023). مطالعات قابلیت تنظیم اسمزی و تحمل شوری در ماهی سفید در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که با افزایش وزن توان سازگاری بچه ماهیان به آب شور افزایش می‌یابد (Ataeimehr et al., 2009; Farabi et al., 2014; Sayad Bourani et al., 2016). همچنین نشان داده شد که در بافت کلیه بچه ماهیان سفید ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ گرمی تحت تیمار با آب لب‌شور قطر گلومرول کاهش و حفره داخلی لوله‌های پیچیده نزدیک

شوری یکی از عوامل محیطی اصلی موثر بر پراکنش آبزیان و یک نیروی انتخابی مهم در سازگار شدن به محیطی است که در آن زندگی می‌کنند (Aktas and Cavdar, 2012). تحمل ماهی در مقابل تغییر شوری، بستگی به مکانیسم تنظیم اسمزی آن دارد، که نقش کلیدی در حفظ هومئوستازی مایعات بدن برای زنده ماندن و فعالیت‌های بدنی ایفا می‌کند (Hwang and Lee, 2007). کلیه یکی از مهم‌ترین اندام‌های تنظیم کننده اسمزی است که از دست دادن یون‌های تک ظرفیتی و دو ظرفیتی مهم از طریق انتشار از آبشش‌ها و پوست را متوازن می‌کند. در ماهیان استخوانی آب شیرین، کلیه با بازجذب یون‌های اصلی در لوله‌های پیچیده دور و نزدیک و مجاری جمع کننده، حجم زیادی از ادرار رقیق شده تولید می‌کند (Takvam et al., 2021). در ماهیان استخوانی دریایی، با کاهش میزان تصفیه گلومرولی (Glomerular Filtration Rate: GFR) و دفع ادرار، قسمت عمده آب تصفیه شده، بازجذب می‌شود (Evans, 2010; Ruan et al., 2023). بنابراین در مقایسه با ماهیان آب شیرین، در ماهیان آب شور دفع ادرار تا حد قابل توجهی کاهش می‌یابد (Wedemeyer, 1996). ماهیان استخوانی مهاجر رودکوچ و دریاکوچ که در

مواد و روش‌ها

عملیات میدانی مطالعه حاضر از مرداد تا شهریور ۱۴۰۰ در سه ایستگاه واقع در رودخانه اسکله بندر کیشهر شامل ایستگاه (۱) داخل رودخانه (شاهد FW: محدوده آب شیرین درون رودخانه)، ایستگاه (۲) مصب (تیمار 7S: با میانگین شوری ۷-۶ در هزار) و ایستگاه (۳) ساحل دریای خزر (تیمار SW: با میانگین شوری ۱۱-۱۲ در هزار) بر اساس وجود اختلاف در شوری به عنوان تیمارهای این پژوهش، انجام شد (شکل ۱). قبل از عملیات میدانی، برای تعیین ایستگاه‌ها از نقاط مختلف منطقه رودخانه اسکله بندر کیشهر برای تعیین شوری و هدایت الکتریکی آب نمونه برداری شد (جدول ۱). همچنین در طول مدت آزمایش، برای بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی از آب ایستگاه‌های مورد مطالعه با استفاده از روش‌های استاندارد به طور مرتب و روزانه نمونه برداری شد و شاخص‌های دمای آب، اکسیژن محلول، pH، شوری، هدایت الکتریکی و یون کلر محلول بر اساس روش‌های استاندارد که برای آزمایش آب توسط انجمن بهداشت عمومی آمریکا ارائه شده است، اندازه‌گیری شدند (APHA, 2005).

و دور کلیوی کاهش یافت (Behrouzi et al., 2015). این مطالعات همگی در محیط آزمایشگاه انجام شدند و تاکنون تاثیر شوری محیط طبیعی مصبی و ساحلی دریای خزر بر بچه ماهیان سفید بررسی نشده است. از این رو، مطالعه حاضر با هدف مقایسه تغییرات ساختاری بافت کلیه بچه ماهیان سفید در سه گروه وزنی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم که محدوده وزنی مرسوم در برنامه رهاسازی شیلات ایران است (Ghaninejad et al., 2001; Abdolmaleki et al., 2015)، در مواجهه با سه محیط رودخانه، مصب و ساحل دریا در طبیعت انجام شد. از آنجا که سفیدرود از رودخانه‌های اصلی مهاجرت ماهی سفید و از جمله مکان‌های اصلی رهاسازی بچه ماهیان سفید تولیدی مراکز بازسازی استان گیلان به شمار می‌رود، ولی به دلیل جریان‌های زیاد رفت و برگشتی آب دریا در دهانه و مصب رودخانه امکان کنترل قفس‌های تیمار بچه ماهیان در پژوهش حاضر وجود نداشت، از این رو، نزدیک‌ترین انشعاب فرعی سفیدرود یعنی رودخانه اسکله بندر کیشهر برای مطالعه حاضر انتخاب شد.



شکل ۱: نقشه ایستگاه‌های محل استقرار قفس‌های تیمار بچه ماهیان سفید. ST1: ایستگاه ۱؛ ST2: ایستگاه ۲؛ ST3: ایستگاه ۳.

جدول ۱: شاخص‌های شوری و هدایت الکتریکی در سه ایستگاه منتخب قبل از شروع آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	ایستگاه ۱ (داخل رودخانه)	ایستگاه ۲ (مصب)	ایستگاه ۳ (دریا)
شوری (در هزار)	$1/1 \pm 0/9$	$6/1 \pm 3/3$	$11/3 \pm 0/2$
هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	$3/9 \pm 1/2$	$10/3 \pm 5/4$	$18/6 \pm 0/2$

آمریکا) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری اکسیژن محلول به روش وینکلر و همچنین کلر به روش تیتراسیون با واکنشگر نیترات نقره در مجاورت شناساگر دی‌کرومات پتاسیم انجام شد (ASTM, 2018).

اندازه‌گیری pH و هدایت الکتریکی به روش الکترومتری به وسیله دستگاه مولتی‌متر (multi 340i, WTW، آلمان) و اندازه‌گیری دما با دماسنج جیوه‌ای در محل نمونه‌برداری انجام شد. شوری آب ایستگاه‌ها به وسیله دستگاه شوری‌سنج (Beckman, Portable, Rs-7B).

هر یک از مخازن در هر قفس رهاسازی شدند. بچه ماهیان با تراکم ۰/۵ گرم در لیتر در هر یک از مخازن (تعداد ۰/۵ گرمی‌ها در هر مخزن: ۳۵۰ قطعه، تعداد ۱ گرمی‌ها در هر مخزن: ۱۷۵ قطعه و تعداد ۱/۵ گرمی‌ها در هر مخزن: ۱۱۷ قطعه) رها و به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. بچه ماهیان با غذای پودری استارتر (SFK، فرادانه، ایران) و به میزان ۴ درصد وزن بدن و سه بار در روز تغذیه شدند. ترکیب تقریبی غذای SFK شامل پروتئین خام (۴۱ درصد)، خاکستر (۸ درصد)، چربی خام (۸/۵ درصد)، عصاره فاقد ازت (۳۶ درصد)، فیبر خام (۱/۵ درصد)، رطوبت (۶ درصد) و انرژی ناخالص (۱۹ مگاژول در کیلوگرم) بود.

مطالعات بافت‌شناسی

برای بررسی‌های بافت‌شناسی، در زمان‌های ۰ و ۲۴۰ ساعت، ۶ قطعه ماهی از هر گروه وزنی در هر تیمار توسط ساچوک به طور تصادفی صید شد. پس از بیهوشی توسط اسانس گل میخک، تشریح و جداسازی بافت کلیه انجام شد. نمونه‌های بافت کلیه به مدت ۴۸ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند. سپس، بعد از چندین مرتبه شستشو با الکل اتانول ۷۰ درصد، عملیات آگیری توسط درجات بالارونده اتانول به مدت

قبل از شروع آزمایش، طراحی، ساخت و استقرار قفس‌های تیمار انجام شد. ابعاد هر قفس ۱×۱×۱/۵ متر بود. برای هر قفس سه مخزن برای جداسازی سه گروه وزنی تعبیه شد. برای پوشش دیواره‌های هر قفس از توری با چشمه ۴ میلی‌متر استفاده شد. هر قفس در عمق ۱ متری آب هر ایستگاه با استفاده از لنگر طوری مستقر شد که ۸۰ سانتی‌متر از دیواره قفس داخل آب و ۲۰ سانتی‌متر بالای آن بیرون از آب بود و به صورت معلق در آب قرار می‌گرفت و کف قفس به زمین برخورد نمی‌کرد. بچه ماهیان، از جمعیت بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii*) دریای خزر، حاصل تولید مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی دکتر یوسف‌پور سیاهکل، ابتدا به وسیله کولیس و ترازوی دیجیتال زیست‌سنجی شدند، سپس بر اساس وزن در سه گروه وزنی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرمی جداسازی شدند و با استفاده از کیسه‌های نایلونی که توسط مخزن اکسیژن پر شده و درب آن محکم بسته شده بود، به مکان استقرار قفس‌ها انتقال یافتند. پس از انتقال بچه ماهیان به مکان آزمایش، برای تطابق‌پذیری با دمای محیط جدید، ابتدا کیسه‌های نایلونی حاوی بچه ماهیان، برای مدتی درون آب مجاور هر قفس نگهداری شد و سپس بچه ماهیان به آرامی درون

Shikano and Fujio, 1999; Sayad) ۱/۵ ساعت و نهایتاً ۱- بوتانول به مدت ۲ ساعت انجام شد. نمونه‌ها سپس به مدت ۳

(Bourani et al., 2016).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی شد. سپس مقایسه میانگین هر یک از شاخص‌های بافتی در هر یک از وزن‌ها، بین سه تیمار و نیز در هر شوری و زمان‌های مختلف، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و تعیین تفاوت بین گروه‌ها به وسیله آزمون مقایسه‌ای توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) انجام شد. در هر گروه وزنی، برای مقایسه داده‌ها بین تیمارهای مختلف شوری در فواصل زمانی مختلف از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. مقایسه شاخص‌های بافتی در هر گروه وزنی و هر تیمار، بین دو زمان ۰ و ۲۴۰ ساعت توسط آزمون T (T-test) انجام شد (Zar, 2010). برای بررسی رابطه هر یک از متغیرهای وزن و شوری با شاخص‌های بافتی کلیه در ابتدا و انتهای آزمایش، از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و رسم جدول‌ها و نمودارها با نرم‌افزار Microsoft

۱/۵ ساعت و نهایتاً ۱- بوتانول به مدت ۲ ساعت انجام شد. نمونه‌ها سپس به مدت ۳ ساعت در کلروفرم شفاف‌سازی شدند. برای پارافینه کردن، نمونه‌ها در داخل آون (دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد) در پارافین مایع قرار داده شدند و سپس با پارافین (Merck، آلمان) قالب‌گیری شدند. از قالب‌های بافت برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرومتر توسط میکروتوم روتاری (JNOEC، استرالیا) تهیه و روی لام آزمایشگاهی قرار داده شد. لام‌ها پس از نگهداری در داخل آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پس از آن پارافین‌زدایی توسط گزین، به روش هماتوکسیلین-انئوزین رنگ‌آمیزی شدند (Bancroft and Gamble, 2008) و توسط میکروسکوپ نوری (BEL, BIO2T, Photonic، ایتالیا) مجهز به دوربین دیجیتال در آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی (بندرانزلی) مورد مطالعه و عکس‌برداری قرار گرفتند. از ۶ لام تهیه شده از کلیه هر ماهی ($n=6$) تصویر بافتی تهیه شد و در تعداد ۱۰۸ کپسول بومن و محتویات آن از هر تیمار، مساحت، محیط و قطر گلمرول، مساحت، محیط و قطر کپسول بومن با استفاده از نرم‌افزار Image Tool (2,0) اندازه‌گیری شد

Excel 2019 انجام شد. مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده‌اند.

آب در ایستگاه ۳ کمتر از دو ایستگاه دیگر بود.

میانگین شوری سه ایستگاه در مدت آزمایش با

یگدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۲).

کمترین میزان شوری به ایستگاه ۱ با ۳/۱۹ در

هزار و بیشترین شوری به ایستگاه ۳ با ۱۲/۵۳

در هزار تعلق داشت.

نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکوشیمیایی در طول ۱۰ روز آزمایش نشان داد میانگین دمای

نتایج

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکوشیمیایی در

طول ۱۰ روز آزمایش نشان داد میانگین دمای

جدول ۲: میانگین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی ایستگاه‌ها در طول مدت آزمایش

شاخص	کمیت	ایستگاه ۱ (داخل رودخانه)	ایستگاه ۲ (مصب)	ایستگاه ۳ (دریا)
دما (درجه سانتی‌گراد)	میانگین \pm خطای استاندارد	۳۰/۲ \pm ۱/۵ ^a	۳۰/۵ \pm ۱/۵ ^a	۲۸/۵ \pm ۰/۹ ^a
	کمترین	۲۸	۲۹	۲۷
	بیشترین	۳۲	۳۲	۲۹/۵
شوری (در هزار)	میانگین \pm خطای استاندارد	۴/۵ \pm ۱/۰ ^a	۷/۰ \pm ۱/۶ ^b	۱۱/۶ \pm ۰/۵ ^c
	کمترین	۳/۱۹	۴/۸۹	۱۱/۰۱
	بیشترین	۵/۸۵	۹/۷۴	۱۲/۵۳
هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	میانگین \pm خطای استاندارد	۷/۹ \pm ۱/۶ ^a	۱۱/۸ \pm ۲/۶ ^b	۱۸/۹ \pm ۰/۶ ^c
	کمترین	۵/۷۴	۸/۵۲	۱۸/۰۸
	بیشترین	۱۰/۰۷	۱۶/۱۳	۱۹/۸۱
pH	میانگین \pm خطای استاندارد	۸/۱ \pm ۰/۱ ^a	۸/۰ \pm ۰/۳ ^a	۸/۲ \pm ۰/۱ ^a
	کمترین	۷/۹۷	۷/۱۸	۸/۱۵
	بیشترین	۸/۱۸	۸/۱۲	۸/۳۴
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	میانگین \pm خطای استاندارد	۷/۰۶ \pm ۲/۵ ^a	۷/۰۷ \pm ۲/۹ ^{ab}	۱۰/۵۸ \pm ۱/۰ ^b
	کمترین	۵/۴	۴/۲	۹/۱
	بیشترین	۸/۶	۹/۶	۱۱/۸
Cl ⁻ (میلی‌گرم در لیتر)	میانگین \pm خطای استاندارد	۲۷۹۵/۸ \pm ۱۲۳۷/۸ ^a	۴۹۳۴/۹ \pm ۲۲۳۶/۱ ^b	۷۰۷۲/۶ \pm ۳۷۳۴/۶ ^c
	کمترین	۲۵۷۴/۱	۳۹۰۵/۲	۶۵۶۷/۵
	بیشترین	۳۰۱۷/۵	۵۹۶۴/۵	۷۴۷۵/۰

که در ایستگاه یک به میزان ۷۷/۳ درصد، در ایستگاه دو ۸۷/۷ درصد و در ایستگاه سه ۹۱/۶ درصد ترکیب یونی را به خود اختصاص داده بود (جدول ۲).

بافت‌شناسی

کلیه در بچه ماهی سفید دریای خزر، در ناحیه پشتی دیواره بدن زیر ستون مهره‌ها کشیده شده بود و به صورت اندامی باریک، طویل، کشیده و به رنگ قرمز تیره مشخص بود. در بافت‌شناسی این اندام مشخص شد که از قسمت‌های قدامی، میانی و خلفی تشکیل شده است. بخش قدامی محل تجمع بافت خونساز است که تا قسمت‌های میانی و خلفی کشیده شده است، ولی وسعت آن در این بخش‌ها کمتر است. بخش‌های مختلف لوله‌های نفرونی در تمام قسمت‌های کلیه مشاهده شد، اما تراکم آنها در قسمت خلفی بیشتر بود. این بخش‌ها شامل کپسول بومن حاوی شبکه گلومرولی، لوله پیچیده نزدیک شامل بخش اول لوله پروکسیمال با سلول‌های ستونی بلند با حاشیه پرزدار، هسته‌های کروی بزرگ کم‌رنگ در بخش قاعده و بخش دوم لوله پروکسیمال با سلول‌های ستونی بلندتر از بخش اول پروکسیمال با هسته‌های بیضی‌شکل تا گرد در مرکز، پرزهای

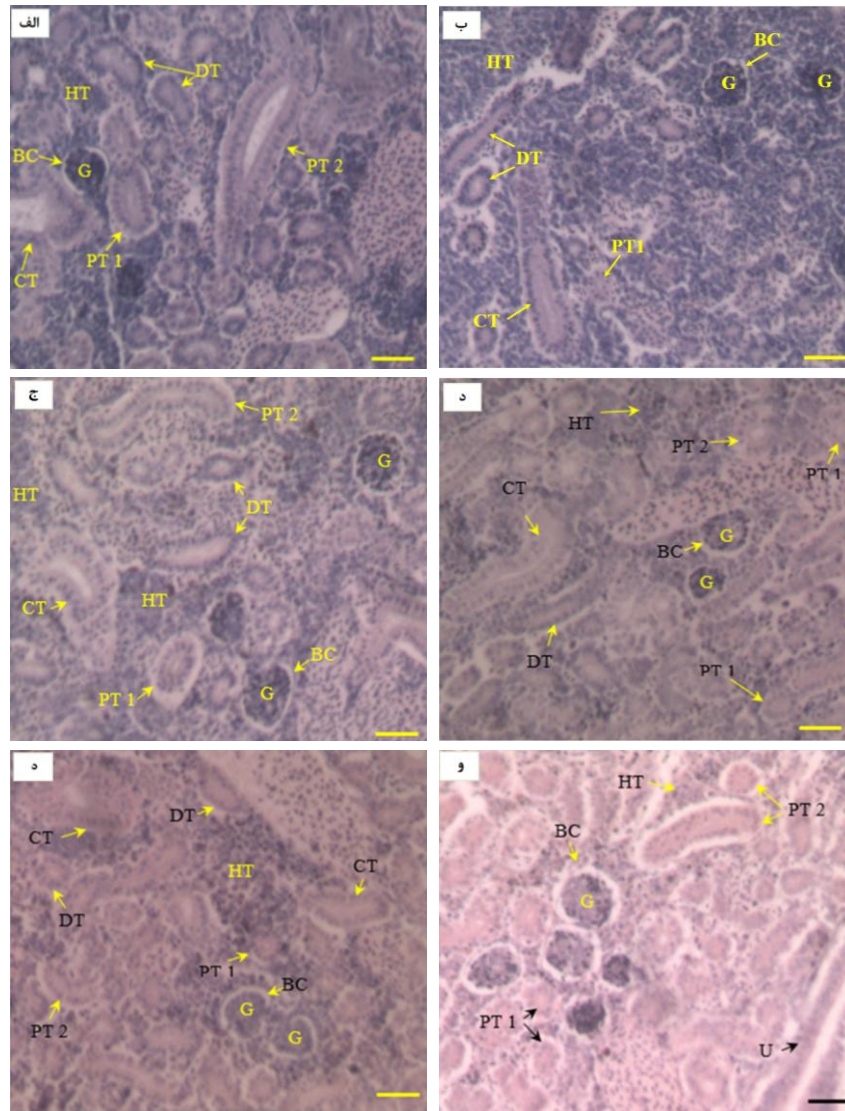
روند تغییرات شوری در ایستگاه‌های مورد مطالعه در طول مدت آزمایش نشان داد که ایستگاه ۳ (دریا) کمترین محدوده تغییرات را داشت به طوری که می‌توان برای آن روند تقریباً ثابتی در نظر گرفت. بیشترین محدوده تغییرات مربوط به ایستگاه ۲ یعنی ناحیه مصبی بود. کمترین شوری در این ایستگاه ۴/۸۹ در هزار و بیشترین شوری ۹/۷۴ در هزار بود.

کمترین میزان هدایت الکتریکی متعلق به ایستگاه ۱ با ۵/۷۴ میکروزیمنس در سانتی‌متر و بیشترین آن به ایستگاه ۳ با ۱۹/۸۱ میکروزیمنس در سانتی‌متر تعلق داشت. میانگین هدایت الکتریکی ایستگاه‌ها با یکدیگر اختلاف داشت و مانند شوری، ایستگاه ۱ دارای کمترین میانگین و ایستگاه ۳ دارای بیشترین میانگین مربوط به این شاخص‌ها بود. این موضوع به رابطه مستقیم هدایت الکتریکی با شوری، مربوط می‌شود (جدول ۲).

میانگین pH در هر سه ایستگاه در محدوده ۸ قرار داشت. میانگین اکسیژن محلول در ایستگاه ۳ ($10/58 \pm 1$) میلی‌گرم در لیتر) بیشتر از دو ایستگاه دیگر بود و ایستگاه‌های ۱ و ۲ اکسیژن محلول حدود ۷ میلی‌گرم در لیتر داشته و اختلاف زیادی با هم نداشتند. یون کلر در مصب و دریا بیشترین میزان را داشت به طوری

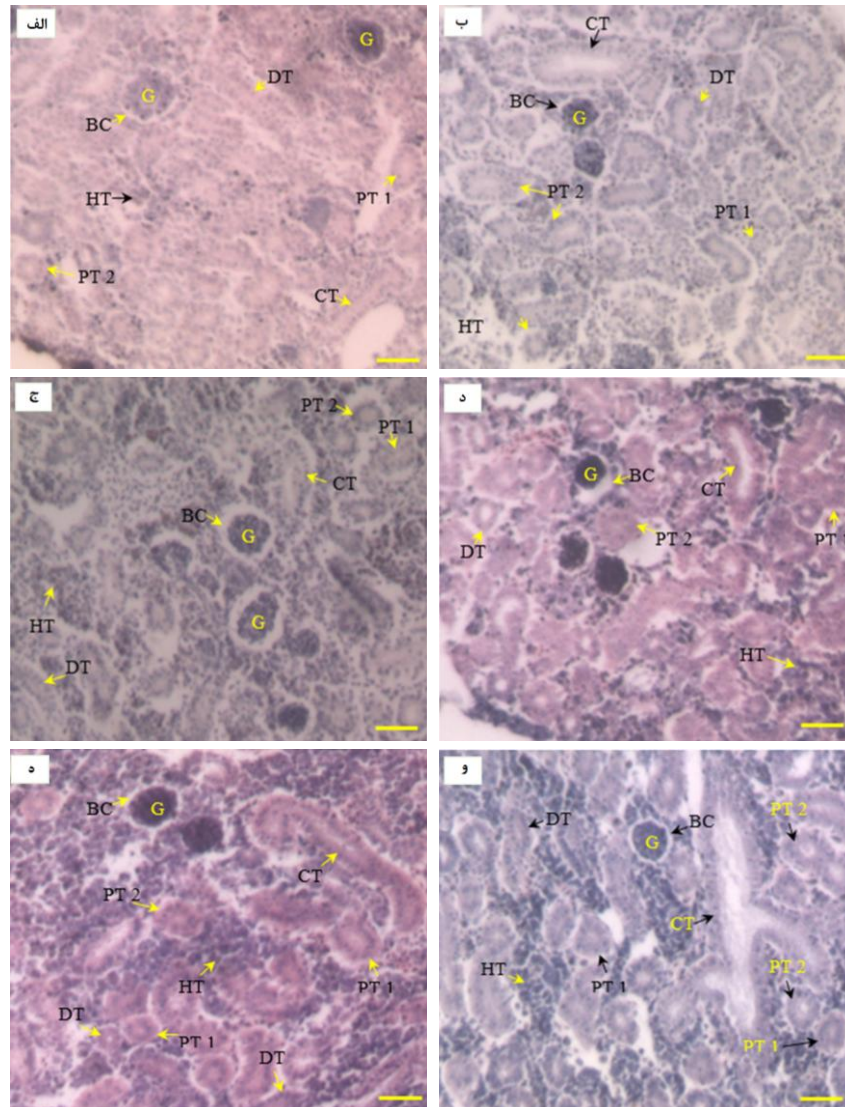
بین لوله‌های مزونفریک تکامل یافته کلیه قابل تشخیص بود. در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافت کلیه تعداد ۶ بچه ماهی نمونه‌برداری شده از هر گروه وزنی و در هر تیمار، در شروع آزمایش (زمان صفر) لوله‌های کلیوی جنینی (Embryonic or New Nephron) در بافت کلیه ۵ بچه ماهی ۰/۵ گرمی در آب شیرین رودخانه، مصب و ساحل دریا با شدت حضور متوسط مشاهده شد. همچنین مشخص شد که در انتهای آزمایش (۲۴۰ ساعت)، در محیط رودخانه (FW) لوله‌های کلیوی جنینی در ۵ بچه ماهی ۰/۵ گرمی وجود داشت، در حالی که در ۱ گرمی‌ها در ۳ بچه ماهی و در ۱/۵ گرمی‌ها در ۲ بچه ماهی مشاهده شد. در محیط 7S، ۳ بچه ماهی ۰/۵ و ۱ گرم و ۲ بچه ماهی ۱/۵ گرمی دارای این لوله‌های جنینی در بافت کلیه خود بودند که شدت حضور آنها در بافت کلیه کم بود. اما در محیط SW، تعداد بچه ماهی‌های دارای لوله‌های جنینی در ۰/۵ و ۱ گرمی‌ها ۲ عدد و در ۱/۵ گرمی‌ها ۵ عدد با شدت کم مشاهده شد (شکل ۴).

متراکم در راس و سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک شدید، لوله پیچیده دور یا دیستال با سلول‌های میله‌ای کوتاه با هسته‌های بیضی‌شکل در پایه، فاقد پرز در راس سلول و رنگ پذیری با شدت کمتر از لوله‌های پروکسیمال، مجاری جمع کننده ادراری با سلول‌های میله‌ای بلند، هسته‌های واقع در پایه، فاقد پرز در راس سلول و دارای لایه نازکی از ماهیچه صاف و بافت همبند بودند (شکل ۲). مطالعه کیفی تصاویر میکروسکوپی مقاطع بافت کلیه بچه ماهیان سفید نشان داد که در هر سه گروه وزنی اندازه لوله‌های پیچیده نزدیک (بخش اول و دوم پروکسیمال) و لوله پیچیده دور (لوله دیستال) ۲۴۰ ساعت پس از مواجهه با شوری‌های 7S و SW کاهش یافت. همچنین در این تصاویر کاهش اندازه گلومرول و کپسول بومن، در مواجهه با شوری محیط به وضوح مشخص بود (شکل ۳). در بافت کلیه بچه ماهیان نمونه‌برداری شده از تیمارهای مختلف لوله‌های نفرونی اولیه جدید نیز مشاهده شد. مقاطع این لوله‌های در حال شکل‌گیری جدید، به صورت تیره‌تر و با رنگ‌پذیری بازوفیلیک شدیدتر در



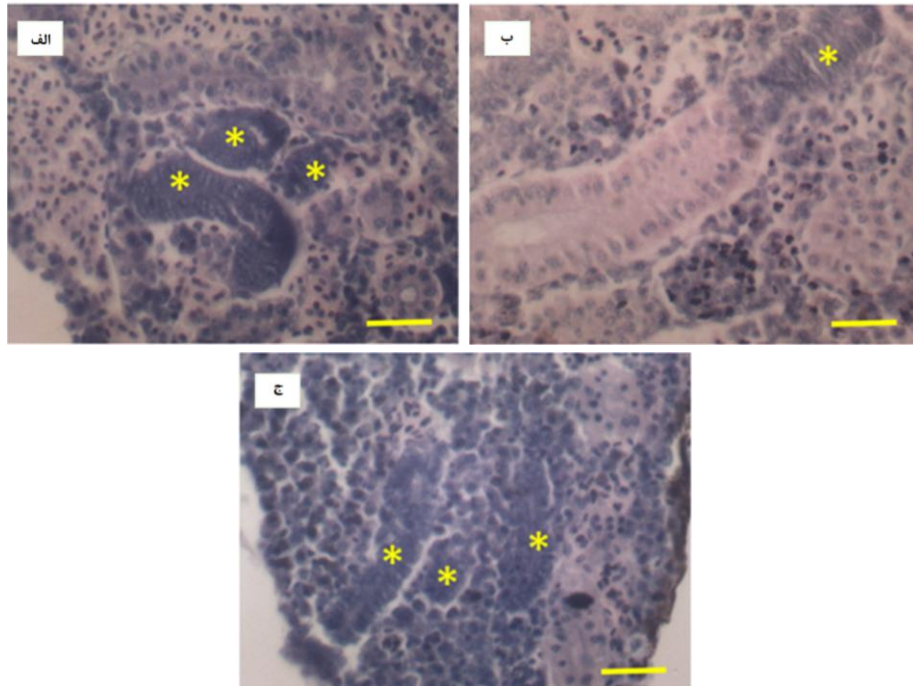
شکل ۲: مقطع بافت کلیه بچه ماهیان سفید در وزن‌های مختلف در محیط آب شیرین (FW) در دو زمان ۰ و ۲۴۰ ساعت. تغییر در اندازه گلومرول با زیاد شدن وزن قابل مشاهده است، الف) ۰/۵ گرم در ساعت صفر. ب) ۱ گرم در ساعت صفر. ج) ۱/۵ گرم در ساعت صفر. د) ۰/۵ گرم در ۲۴۰ ساعت. ه) ۱ گرم در ۲۴۰ ساعت. و) ۱/۵ گرم در ۲۴۰ ساعت. BC: کیسول بومن (Bowman's Capsule); CT: لوله جمع کننده (Collecting Tubule); DT: لوله دیستال (Distal Tubule); G: گلومرول (Glomerulus); HT: بافت هماتوپوئیتیک

بخش اول لوله پروکسیمال (Proximal Tubule 1): PT1؛ (Heamatopoitic Tissue): PT2؛ بخش دوم لوله پروکسیمال (Proximal Tubule 2): U؛ میزنای (Ureter). رنگ آمیزی آنوزین-هماتوکسیلین. خط مقیاس: ۳۰ میکرومتر.



شکل ۳: مقطع بافت کلیه بچه ماهیان سفید در وزن‌های مختلف، ۲۴۰ ساعت پس از فرار گرفتن در معرض دو محیط مصب (7S) و ساحل دریای خزر (SW) که کوچک تر شدن گلمرول، کپسول بومن و لوله‌های کلیوی

در تیمارهای 7S و SW را نسبت به آب شیرین (شکل ۲) نشان می‌دهد. الف) ۰/۵ گرم در تیمار 7S. ب) ۱ گرم در تیمار 7S. ج) ۱/۵ گرم در تیمار 7S. د) ۰/۵ گرم در تیمار SW. ه) ۱ گرم در تیمار SW. و) ۱/۵ گرم در تیمار SW. BC: کپسول بومن (Bowman's Capsule); CT: لوله جمع‌کننده (Collecting Tubule); DT: لوله دیستال (Distal Tubule); G: گلومرول (Glomerulus); HT: بافت هماتوپوئیتیک (Heamatopoitic Tissue); PT1: بخش اول لوله پروکسیمال (Proximal Tubule 1); PT2: بخش دوم لوله پروکسیمال (Proximal Tubule 2); U: میزنای (Ureter). رنگ آمیزی اتوزین - هماتوکسیلین. خط مقیاس: ۳۰ میکرومتر.



شکل ۴: تصویر میکروسکوپی از نئوزنز نفرون (Nephron Neogenesis) در بافت کلیه بچه ماهیان سفید. الف) بچه ماهیان ۰/۵ گرمی در شروع آزمایش در تیمار FW. ب) بچه ماهیان ۰/۵ گرمی در زمان ۲۴۰ ساعت پس از قرار گرفتن در تیمار FW. ج) بچه ماهیان ۱/۵ گرمی در زمان ۲۴۰ ساعت پس از قرار گرفتن در تیمار SW. رنگ آمیزی اتوزین - هماتوکسیلین. خط مقیاس: ۲۰ میکرومتر.

تغییرات مساحت، محیط و قطر گلومرول
 در هر سه گروه وزنی در زمان صفر، از نظر
 اختلاف معنی‌دار آماری بین سه تیمار مشاهده
 نشد ($P > 0.05$ ؛ جدول ۳).
 میانگین اندازه مساحت، محیط و قطر گلومرول

جدول ۳: تغییرات شاخص‌های گلومرولی در کلیه بچه ماهیان سفید در گروه‌های وزنی مختلف در
 ایستگاه‌های مطالعاتی در فواصل زمانی ۰ و ۲۴۰ ساعت (میانگین \pm خطای استاندارد)

وزن	شوری	مساحت گلومرول (μm^2)		محیط گلومرول (μm)		قطر گلومرول (μm)	
		زمان (ساعت)	زمان (ساعت)	زمان (ساعت)	زمان (ساعت)	زمان (ساعت)	زمان (ساعت)
		۰	۲۴۰	۰	۲۴۰	۰	۲۴۰
۰/۵ گرم	FW	۷۹۴/۸۸ $\pm 15/17$ aA	۸۳۵/۱۴ $\pm 16/92$ aA	۱۱۰/۷۴ $\pm 1/33$ aA	۱۱۷/۰۳ $\pm 1/39$ bB	۳۵/۲۷ $\pm 0/43$ aA	۳۶/۲۵ $\pm 0/41$ aB
	7S	۷۹۴/۸۸ $\pm 15/17$ aA	۶۹۷/۹۳ $\pm 18/48$ bB	۱۱۰/۷۴ $\pm 1/33$ aA	۱۰۳/۵۰ $\pm 1/46$ bA	۳۵/۲۷ $\pm 0/43$ aA	۳۳/۴۰ $\pm 0/50$ bA
	SW	۷۹۴/۸۸ $\pm 15/17$ aA	۶۶۳/۸۹ $\pm 15/28$ bB	۱۱۰/۷۴ $\pm 1/33$ aA	۱۰۱/۵۶ $\pm 1/37$ bA	۳۵/۲۷ $\pm 0/43$ aA	۳۱/۹۷ $\pm 0/40$ bA
۱ گرم	FW	۹۰۵/۸۵ $\pm 18/58$ aA	۸۱۳/۶۳ $\pm 16/02$ bA	۱۲۰/۱۶ $\pm 1/35$ aA	۱۱۲/۵۹ $\pm 1/17$ bB	۳۷/۱۸ $\pm 0/46$ aA	۲۶/۰۴ $\pm 0/41$ aB
	7S	۹۰۵/۸۵ $\pm 18/58$ aA	۷۱۴/۱۶ $\pm 17/16$ bB	۱۲۰/۱۶ $\pm 1/35$ aA	۱۰۲/۱۱ $\pm 1/29$ bA	۳۷/۱۸ $\pm 0/46$ aA	۳۲/۸۳ $\pm 0/41$ bA
	SW	۹۰۵/۸۵ $\pm 18/58$ aA	۷۳۸/۰۱ $\pm 12/58$ bB	۱۲۰/۱۶ $\pm 1/35$ aA	۱۰۵/۶۵ $\pm 0/97$ bA	۳۷/۱۸ $\pm 0/46$ aA	۳۳/۹۰ $\pm 0/32$ bA
۱/۵ گرم	FW	۱۰۳۹/۴۴ $\pm 21/20$ aA	۸۸۲/۴۲ $\pm 18/70$ bA	۱۲۷/۳۹ $\pm 1/42$ aA	۱۱۸/۰۷ $\pm 1/38$ bC	۴۰/۵۱ $\pm 0/48$ aA	۳۷/۳۸ $\pm 0/45$ bC
	7S	۱۰۳۹/۴۴ $\pm 21/20$ aA	۸۲۵/۷۵ $\pm 15/60$ bB	۱۲۷/۳۹ $\pm 1/42$ aA	۱۱۲/۶۳ $\pm 1/15$ bB	۴۰/۵۱ $\pm 0/48$ aA	۳۵/۶۵ $\pm 0/37$ bB
	SW	۱۰۳۹/۴۴ $\pm 21/20$ aA	۶۹۶/۵۲ $\pm 14/38$ bC	۱۲۷/۳۹ $\pm 1/42$ aA	۱۰۲/۶۱ $\pm 1/12$ bA	۴۰/۵۱ $\pm 0/48$ aA	۳۳/۴۵ $\pm 0/46$ bA

FW: آب رودخانه؛ 7S: آب مصب؛ SW: آب دریای خزر.

برای هر یک از شاخص‌های کلیوی، حروف کوچک غیرهمنام نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در هر گروه وزنی و هر تیمار، بین دو زمان ۰ و ۲۴۰ ساعت در یک ردیف هستند (آزمون T-test، $P < 0.05$). حروف بزرگ غیرهمنام تفاوت معنی‌دار بین سه تیمار را در هر زمان و هر گروه وزنی در یک ستون نشان می‌دهند (آزمون ANOVA و پس‌آزمون توکی، $P < 0.05$).

SW به طور معنی‌داری کمتر از 7S و FW بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۳).

میانگین قطر گلومرول در دو گروه وزنی ۰/۵ و ۱ گرم ۲۴۰ ساعت پس از ورود به تیمار FW تفاوت معنی‌داری نسبت به زمان صفر نداشت ($P > 0/05$). اما در 7S و SW پس از ۲۴۰ ساعت، کاهش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$) و نیز به طور معنی‌داری کمتر از گروه FW بود ($P < 0/05$). در گروه وزنی ۱/۵ گرم، در تمام تیمارها قطر گلومرول پس از ۲۴۰ ساعت، کاهش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$). در زمان ۲۴۰ ساعت، قطر گلومرول در تیمارهای 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW بود ($P < 0/05$) و نیز در تیمار SW به طور معنی‌داری کمتر از 7S و FW بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۳).

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در مورد مساحت، محیط و قطر گلومرول در بچه ماهیان هر سه گروه وزنی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم، نشان داد که بین دو متغیر زمان و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/01$). همچنین نشان داده شد برای این شاخص‌های در زمان صفر آزمایش بین دو متغیر وزن و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0/05$)، در حالی که ۲۴۰ ساعت پس از قرار

میانگین مساحت گلومرول، در گروه وزنی ۰/۵ گرم، ۲۴۰ ساعت پس از قرار گرفتن در تیمارهای 7S و SW نسبت به زمان صفر، کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) و در این دو تیمار به طور معنی‌داری کمتر از تیمار FW بود ($P < 0/05$). در دو گروه وزنی ۱ و ۱/۵ گرم، در تمام تیمارها مساحت گلومرول پس از ۲۴۰ ساعت، کاهش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$). و در محیط‌های 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۳).

میانگین محیط گلومرول در گروه وزنی ۰/۵ گرم ۲۴۰ ساعت پس از ورود به تیمار FW، افزایش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$) در حالی که در 7S و SW پس از ۲۴۰ ساعت، کاهش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$) و نیز به طور معنی‌داری کمتر از گروه FW بود ($P < 0/05$). در دو گروه وزنی ۱ و ۱/۵ گرم، در تمام تیمارها محیط گلومرول پس از ۲۴۰ ساعت، کاهش معنی‌داری نسبت به زمان صفر داشت ($P < 0/05$) و در تیمارهای 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW بود ($P < 0/05$). همچنین در ۱/۵ گرمی‌ها در زمان ۲۴۰ ساعت، محیط گلومرول در تیمار

در حالی که در تیمارهای 7S و SW، ۰/۵ گرمی‌ها و هر سه تیمار دو گروه وزنی ۱ و ۱/۵ گرمی، در زمان ۲۴۰ ساعت به طور معنی‌داری کمتر از زمان صفر بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

میانگین قطر کپسول بومن در تیمار FW ۰/۵ گرمی‌ها، در زمان ۲۴۰ ساعت به طور معنی‌داری بیشتر از زمان صفر بود ($P < 0/05$ ، در حالی که در تیمارهای 7S و SW ۰/۵ گرمی‌ها و هر سه تیمار دو گروه وزنی ۱ و ۱/۵ گرمی، در زمان ۲۴۰ ساعت کمتر از زمان صفر بود که بجز تیمار 7S گروه ۰/۵ گرم، در بقیه موارد این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

در مقایسه بین تیمارها، در زمان صفر آزمایش در هر سه گروه وزنی از نظر میانگین اندازه مساحت، محیط و قطر کپسول بومن اختلاف معنی‌دار آماری بین سه تیمار مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما در زمان ۲۴۰ ساعت، در ۰/۵ گرمی‌ها، میانگین مساحت، محیط و قطر کپسول بومن در 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW ($P < 0/05$) و در SW به طور معنی‌داری کمتر از دو تیمار FW و 7S بودند ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

گرفتن در معرض تیمارهای شوری مختلف بین دو متغیر وزن و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/01$).

تغییرات مساحت، محیط و قطر کپسول بومن
در هر سه گروه وزنی در زمان صفر، از نظر میانگین اندازه مساحت، محیط و قطر کپسول بومن اختلاف معنی‌دار آماری بین سه تیمار مشاهده نشد ($P > 0/05$ ؛ جدول ۴).

در مقایسه بین دو زمان ۰ و ۲۴۰ ساعت، میانگین مساحت کپسول بومن در ۰/۵ گرمی‌ها ۲۴۰ ساعت پس از ورود به FW، نسبت به زمان صفر بیشتر بود، ولی تفاوت معنی‌داری با آن نداشت ($P > 0/05$) در حالی که در ۱ و ۱/۵ گرمی‌ها به طور معنی‌داری کمتر از زمان صفر بود ($P < 0/05$). میانگین مساحت کپسول بومن، در هر سه گروه وزنی، ۲۴۰ ساعت پس از قرار گرفتن در تیمارهای 7S و SW نسبت به زمان صفر، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

میانگین محیط کپسول بومن در تیمار FW ۰/۵ گرمی‌ها، در زمان ۲۴۰ ساعت به طور معنی‌داری بیشتر از زمان صفر بود ($P < 0/05$ ،

جدول ۴: تغییرات شاخص‌های کپسول بومن در کلیه بچه ماهیان سفید در گروه‌های وزنی مختلف در ایستگاه‌های مطالعاتی در فواصل زمانی ۰ و ۲۴۰ ساعت (میانگین \pm خطای استاندارد)

وزن	شوری	مساحت کپسول بومن (μm^2)		محیط کپسول بومن (μm)		قطر کپسول بومن (μm)	
		زمان (ساعت)		زمان (ساعت)		زمان (ساعت)	
		۰	۲۴۰	۰	۲۴۰	۰	۲۴۰
۰/۵ گرم	FW	۱۰۴۷/۶۶	۱۰۹۲/۶۷	۱۲۳/۷۸	۱۲۸/۳۰	۴۰/۴۹	۴۲/۲۷
		$\pm 21/45$ aA	$\pm 23/12$ aC	$\pm 1/37$ aA	$\pm 1/51$ bC	$\pm 0/50$ aA	$\pm 0/51$ bC
	7S	۱۰۴۷/۶۶	۹۴۶/۱۶	۱۲۳/۷۸	۱۱۸/۷۰	۴۰/۴۹	۳۹/۵۴
		$\pm 21/45$ aA	$\pm 24/52$ bB	$\pm 1/37$ aA	$\pm 1/65$ bB	$\pm 0/50$ aA	$\pm 0/57$ aB
	SW	۱۰۴۷/۶۶	۸۴۰/۰۷	۱۲۳/۷۸	۱۱۲/۶۴	۴۰/۴۹	۲۶/۱۹
		$\pm 21/45$ aA	$\pm 19/65$ bA	$\pm 1/37$ aA	$\pm 1/36$ bA	$\pm 0/50$ aA	$\pm 0/43$ bA
۱ گرم	FW	۱۱۴۱/۸۸	۱۰۳۶/۸۱	۱۳۰/۸۴	۱۲۳/۹۷	۴۲/۶۶	۴۱/۴۳
		$\pm 22/70$ aA	$\pm 21/18$ bB	$\pm 1/39$ aA	$\pm 1/31$ bB	$\pm 0/52$ aA	$\pm 0/45$ aB
	7S	۱۱۴۱/۸۸	۹۷۱/۶۳	۱۳۰/۸۴	۱۱۸/۷۵	۴۲/۶۶	۳۹/۲۹
		$\pm 22/70$ aA	$\pm 24/24$ bAB	$\pm 1/39$ aA	$\pm 1/53$ bA	$\pm 0/52$ aA	$\pm 0/52$ bA
	SW	۱۱۴۱/۸۸	۹۵۴/۶۶	۱۳۰/۸۴	۱۲۰/۳۲	۴۲/۶۶	۳۹/۰۵
		$\pm 22/70$ aA	$\pm 17/20$ bA	$\pm 1/39$ aA	$\pm 1/30$ bAB	$\pm 0/52$ aA	$\pm 0/43$ bA
۱/۵ گرم	FW	۱۳۶۹/۰۵	۱۱۹۲/۲۳	۱۴۰/۹۱	۱۳۲/۷۵	۴۷/۳۵	۴۴/۲۳
		$\pm 28/61$ aA	$\pm 25/57$ bB	$\pm 1/46$ aA	$\pm 1/45$ bB	$\pm 0/56$ aA	$\pm 0/53$ bC
	7S	۱۳۶۹/۰۵	۱۱۳۸/۱۵	۱۴۰/۹۱	۱۳۳/۳۴	۴۷/۳۵	۴۲/۲۸
		$\pm 28/61$ aA	$\pm 22/15$ bB	$\pm 1/46$ aA	$\pm 1/44$ bB	$\pm 0/56$ aA	$\pm 0/44$ bB
	SW	۱۳۶۹/۰۵	۸۸۳/۵۶	۱۴۰/۹۱	۱۱۴/۳۷	۴۷/۳۵	۳۷/۹۷
		$\pm 28/61$ aA	$\pm 17/16$ bA	$\pm 1/46$ aA	$\pm 1/17$ bA	$\pm 0/56$ aA	$\pm 0/46$ bA

FW: آب رودخانه؛ 7S: آب مصب؛ SW: آب دریای خزر.

برای هر یک از شاخص‌های کلیوی، حروف کوچک غیرهمنام نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در هر گروه وزنی و هر تیمار، بین دو زمان ۰ و ۲۴۰ ساعت در یک ردیف هستند (آزمون T-test، $P < 0/05$). حروف بزرگ غیرهمنام تفاوت معنی‌دار بین سه تیمار را در هر زمان و هر گروه وزنی در یک ستون نشان می‌دهند (آزمون ANOVA و پس‌آزمون توکی، $P < 0/05$).

در زمان ۲۴۰ ساعت، در دو گروه ۱ و ۱/۵ به طور معنی‌داری کمتر از هر دو تیمار 7S و گرمی کمترین مساحت کپسول بومن متعلق به تیمار SW بود که در ۱ گرمی‌ها به طور معنی‌داری کمتر از تیمار FW و در ۱/۵ گرمی‌ها SW بود. همچنین در زمان ۲۴۰ ساعت، میانگین شاخص محیط کپسول بومن، در دو گروه وزنی ۰/۵ و ۱ گرم در تیمار 7S به طور

۲۴۰ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض تیمارهای شوری مختلف نشان داده شد که بین دو متغیر وزن و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود دارد ($P < 0/05$).

از آزمون همبستگی پیرسون برای بررسی رابطه متغیر وزن، شوری و شاخص‌های گلومرول و کپسول بومن استفاده شد. نتایج آزمون همبستگی نشان داد که به طور کلی تمام اندازه‌های گلومرولی و کپسول بومن شامل مساحت، محیط و قطر با وزن بچه ماهیان سفید به طور معنی‌داری رابطه مثبت داشتند (جدول ۵؛ $P < 0/01$). همچنین نتایج این آزمون نشان داد که در هر یک از تیمارها و در هر یک از زمان‌های صفر و ۲۴۰ ساعت نیز به طور جداگانه، تمام اندازه‌های گلومرولی و کپسول بومن با وزن بچه ماهیان سفید به طور معنی‌داری رابطه مثبت داشتند ($P < 0/01$). به عنوان مثال، در بچه ماهیان سفید با افزایش وزن، مساحت گلومرول کلیه افزایش یافت. همچنین در هر یک از تیمارهای شوری FW، 7S و SW در بچه ماهیان سفید با افزایش وزن، مساحت گلومرول کلیه افزایش یافت. این موضوع در زمان صفر و نیز ۲۴۰ ساعت پس از ورود به تیمارهای شوری نیز صدق می‌کند.

معنی‌داری کمتر از FW بود ($P < 0/05$). همچنین در گروه ۱ گرم محیط کپسول بومن کمتر از FW بود، ولی تفاوت معنی‌داری با آن نداشت ($P > 0/05$). اما در گروه ۱/۵ گرم محیط کپسول بومن در تیمار SW به طور معنی‌داری کمتر از 7S و FW بود ($P < 0/05$). در مورد شاخص قطر کپسول بومن در زمان ۲۴۰ ساعت، در دو گروه ۰/۵ و ۱/۵ گرم میانگین این شاخص در 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW ($P < 0/05$) و در SW به طور معنی‌داری کمتر از دو تیمار FW و 7S بود ($P < 0/05$). در گروه وزنی ۱ گرم هم قطر کپسول بومن در 7S و SW به طور معنی‌داری کمتر از FW بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که در مورد اندازه میانگین مساحت و محیط کپسول بومن در بچه ماهیان ۰/۵ و ۱/۵ گرم و در مورد قطر کپسول بومن در بچه ماهیان تمام وزن‌ها بین دو متغیر زمان و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود دارد ($P < 0/01$). همچنین در مورد اندازه میانگین مساحت، محیط و قطر کپسول بومن در زمان صفر بین دو متغیر وزن و تیمار شوری اثر متقابل معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0/05$)، در حالی که در زمان

جدول ۵: همبستگی بین هریک از شاخص‌های وزن و شوری با مساحت، محیط و قطر گلومرول و کیسول بومن در کلیه بچه ماهیان سفید

مقدار P	ضریب همبستگی	شاخص
۰/۰۰	۰/۳	وزن و مساحت گلومرول
۰/۰۰	۰/۲۵۸	وزن و محیط گلومرول
۰/۰۰	۰/۲۷۰	وزن و قطر گلومرول
۰/۰۰	۰/۳۱۱	وزن و مساحت کیسول بومن
۰/۰۰	۰/۲۹۱	وزن و محیط کیسول بومن
۰/۰۰	۰/۳۰۲	وزن و قطر کیسول بومن
۰/۰۰	-۰/۱۴۰	شوری و مساحت گلومرول
۰/۰۰	-۰/۱۶۴	شوری و محیط گلومرول
۰/۰۰	-۰/۱۳۹	شوری و قطر گلومرول
۰/۰۰	-۰/۱۵۲	شوری و مساحت کیسول بومن
۰/۰۰	-۰/۱۴۹	شوری و محیط کیسول بومن
۰/۰۰	-۰/۱۶۳	شوری و قطر کیسول بومن

در زمان ۰ ساعت رابطه‌ای بین شوری و اندازه شاخص‌های بافت کلیه وجود نداشت. در حالی که ۲۴۰ ساعت پس از مواجهه با هر یک از تیمارهای شوری FW، 7S و SW در هر یک از وزن‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم، بین شوری و اندازه شاخص‌های بافت کلیه رابطه منفی معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/01$)، به طوری که در هر یک از وزن‌ها طی ۲۴۰ ساعت پس از ورود به سه محیط با شوری‌های مختلف، با افزایش شوری اندازه هر یک از شاخص‌های بافتی کلیه به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/01$).

در هر یک از تیمارهای شوری و هر یک از زمان‌ها (به عنوان مثال در تیمار FW و زمان ۰ ساعت)، بین مساحت گلومرول با وزن رابطه مثبت معنی‌دار برقرار بود ($P < 0/01$). نتایج آزمون همبستگی نشان داد که به طور کلی تمام اندازه‌های گلومرولی و کیسول بومن شامل مساحت، محیط و قطر، با شوری محیط به طور معنی‌داری رابطه منفی داشتند (جدول ۵؛ $P < 0/01$). به عبارت دیگر با افزایش شوری اندازه شاخص‌های یاد شده به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/01$). در بدو ورود بچه ماهیان سه گروه وزنی به سه تیمار شوری یعنی

بحث

شاخص‌ها در وزن‌ها ۱ و ۱/۵ گرم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه ۰/۵ گرم بود و نیز این کاهش در محیط مصبی و ساحلی بیشتر از آب رودخانه بود. این موضوع نشان می‌دهد که بافت کلیه بچه ماهیان بزرگ‌تر نسبت به تغییرات کم شوری محیط در محدوده رودخانه (میانگین ۴/۴۸ در هزار) نیز واکنش نشان دادند که می‌تواند بیان‌کننده این باشد که تکامل عملکردی و ساختاری کلیه در دو وزن بالاتر، نسبت به ماهیان ۰/۵ گرمی بیشتر بوده است. Sayad Bourani و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی بافت کلیه بچه آزادماهیان دریای خزر تحت تاثیر شوری محیط، گزارش کردند که سطح مقطع گلومرول‌های کلیه وزن‌های مختلف بچه ماهیان پس از سه روز انتقال به آب دریای خزر و آب ۷ در هزار کاهش یافت و این کاهش در آب دریای خزر بیشتر از آب ۷ در هزار بود. Ghahramanzadeh و همکاران (۲۰۱۴) با مقایسه شاخص‌های بافت کلیه مولدین ماهی سفید در دو محیط لب‌شور (دریای خزر) و آب شیرین (رودخانه خشک‌رود) به این نتیجه رسیدند که میانگین اندازه لوله‌های دیستال، جمع‌کننده و شبکه گلومرولی در آب شیرین به طور معنی‌داری بزرگ‌تر از آب لب‌شور بود. Heidari و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثرات

در مطالعه بافت کلیه ماهیان در مواجهه با تغییرات شاخص‌های محیطی، بررسی گلومرول از اهمیت قابل توجهی برخوردار است که نشان‌دهنده نقش مهم آن در فرایند تنظیم اسمزی است. در مورد تاثیر شوری به عنوان یکی از عوامل محیطی اصلی تاثیرگذار بر تعادل محیط داخلی بدن ماهیان و شیوه‌های سازش‌پذیری آنها در مقابله با افزایش یا کاهش شوری مطالعات فراوانی انجام شده است (Aktas and Cavdar, 2012). طبق نتایج بررسی حاضر ۲۴۰ ساعت قرار گرفتن وزن‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم از بچه ماهیان سفید در معرض میانگین شوری‌های ۴/۴۸، ۷ و ۱۱/۶ در هزار از سه محیط رودخانه، مصب و ساحل دریای خزر سبب ایجاد تغییرات مشخص هیستومتری در گلومرول و کپسول بومن بافت کلیه شد. اندازه گلومرول و کپسول بومن بچه ماهیان ۰/۵ گرم ۲۴۰ ساعت پس از مواجهه با محیط رودخانه کمی افزایش نشان داد در حالی که در مواجهه با محیط مصب و ساحل کاهش معنی‌داری داشت. در مورد بچه ماهیان ۱ و ۱/۵ گرمی اندازه گلومرول و کپسول بومن پس از ۲۴۰ ساعت قرار گرفتن در هر سه محیط کاهش معنی‌داری داشت به طوری که این کاهش در اندازه

لوله‌های دیستال و جمع‌کننده ادراری تفاوت معنی‌داری بین دو محیط آب شور و شیرین وجود داشت به طوری که کاهش چشمگیری را در محیط دریایی نشان دادند. این پژوهشگران بیان کردند که تغییر در اندازه لوله‌های اصلی کلیوی این ماهی نتیجه عملکردهای متفاوت تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی یوری‌هالین در دو محیط آب دریا و آب شیرین است (Hwang and Wu, 2006).

در مطالعه حاضر مشخص شد که اثر میزان شوری بر مساحت، محیط و قطر گلومرول و کپسول بومن کلیه در بچه ماهیان سفید تحت تاثیر وزن بچه ماهیان و مدت زمان آزمایش قرار داشت. به عبارت دیگر میزان وزن بچه ماهیان، میزان شوری محیط و مدت زمانی که در معرض شوری محیط قرار گرفتند بر مساحت، محیط و قطر گلومرول و کپسول بومن کلیه آنها تاثیرگذار بود. همچنین وجود رابطه منفی بین میزان شوری و شاخص‌های گلومرولی و کپسول بومن نشان داد که در هر یک از وزن‌های ۲۴۰ ساعت پس از ورود به سه محیط با شوری‌های مختلف با افزایش شوری اندازه هر یک از شاخص‌های بافتی کلیه به طور معنی‌داری کاهش یافت. بررسی‌ها در مورد کلیه ماهیان نشان داده‌اند که بر خلاف ماهیان استخوانی آب

شوری بر گلومرول‌های کلیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان دادند که شوری ۱۰ در هزار تاثیر قابل توجهی بر کاهش اندازه گلومرول داشت. طبق نتایج Behrouzi و همکاران (۲۰۱۵) در بچه ماهیان سفید سه گروه وزنی ۴۰۰-۲۰۰، ۶۰۰-۴۰۰ و ۱۰۰۰-۶۰۰ گرمی، ۱۶۸ ساعت پس از انتقال از آب شیرین رودخانه تجن (۳/۲ در هزار) به آب لب‌شور دریای خزر (۱۲/۴ در هزار) در محیط آزمایشگاه، میانگین قطر گلومرول کلیه کاهش یافت و میزان این کاهش در گروه وزنی ۱۰۰۰-۶۰۰ گرمی بیشتر از دو گروه وزنی دیگر بود. نتایج به دست آمده از بررسی Woo و Wonge (۲۰۰۶) بر تغییرات ایجاد شده در اندازه و تعداد مجاری جمع‌کننده ادرار و گلومرول‌های ماهی سیم دریایی (*Sparus sarba*) در مواجهه با شوری‌های مختلف نشان داد که تعداد و اندازه گلومرول‌ها و مجاری جمع‌کننده ادرار در شوری بالا کاهش یافت. در مطالعه تاثیرات شوری محیط بر اندازه گلومرول و دیگر مجاری کلیوی در ماهی تیلاپپای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) که توسط Hwang و Wu (۲۰۰۶) انجام شد، از نظر مساحت گلومرول و لوله‌های کلیوی از جمله بخش‌های اول و دوم لوله پروکسیمال،

شیرین، ماهیان دریایی با انتشار آب و جذب نمک مواجه هستند. در این شرایط نقش شبکه‌های گلومرولی و لوله‌های دیستال که دفع آب است کم‌رنگ می‌شود. میزان تصفیه گلومرولی در ماهیان استخوانی آب شیرین بالا است و تنها نسبت کمی از آب تصفیه شده در لوله‌های کلیوی جذب می‌شود (Brown et al., 1993; Takvam et al., 2021). بنابراین گلومرول در نفرون‌های کلیوی ماهیان آب شیرین توسعه یافته‌تر و بزرگ‌تر از گلومرول‌های ماهیان دریایی است (Sales-Ribeiro et al., 2023). بر عکس میزان تصفیه گلومرولی در ماهیان استخوانی دریایی بسیار پایین‌تر است (Charmi et al., 2009) و لوله‌های نفرونی آب را دوباره جذب می‌کنند در حالی که یون‌های دوظرفیتی را به طور فعال دفع می‌کنند (Takvam et al., 2021). با توجه به نقش فعال کلیه در تولید ادرار رقیق در آب شیرین تعداد و اندازه لوله‌های کلیوی نسبت به آب دریا متفاوت است (Beyenbach, 2004). یکی از راهبردهای تنظیم اسمزی در ماهیان یوری‌هالین، تغییر در ساختار کلیه است. مطالعات نشان دادند که عملکرد و ساختار لوله‌های کلیه وابسته به شوری محیط است و با تغییر شوری تغییر می‌کند. اولین مرحله تنظیم

اسمزی فیلتراسیون پلازما به وسیله شبکه گلومرولی است (Baldisserotto et al., 2007). اندازه گلومرول یکی از عوامل دخیل در میزان تصفیه‌کنندگی کلیه است که در کنار دو عامل تعداد گلومرول و میزان انشعابات مویرگی داخل آن ارتباط مستقیم با میزان کل تصفیه کلیوی دارد (Nash, 1931; Wiener, 2023). Colvil و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود بر روی کلیه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان دادند که اندازه گلومرول در ماهیان دریایی به مراتب کوچک‌تر از ماهیان آب شیرین است. Basir و Peyghan (۲۰۲۰) گزارش کردند که ۲ هفته پس از انتقال کپور معمولی به شوری‌های ۴، ۸ و ۱۲ در هزار، میانگین اندازه گلومرول در بافت کلیه تیمار ۱۲ در هزار به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد (آب شیرین) بود. کاهش اندازه گلومرول‌های کلیوی پس از قرار گرفتن در معرض شوری در مطالعه Chenari و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی زروک (*Scatophagus argus*) نیز بیان شده است. در مطالعه آنها مشخص شد ماهیانی که در شوری ۳۰ در هزار بودند، میانگین قطر گلومرول کلیه آنها به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای ۵، ۱۰ و ۲۰ در هزار بود و نیز هر چقدر شوری بیشتر می‌شد

داده‌اند که در قزل‌آلای رنگین‌کمان فیلتراسیون گلومرولی کل در ماهیان سازگار شده به آب شیرین ۱۰ برابر بیشتر از ماهیان سازگار شده با آب دریا بود، در حالی که فیلتراسیون گلومرولی یک نفرون در کلیه ماهی سازگار شده با آب شیرین حدود یک‌سوم فیلتراسیون گلومرولی یک نفرون تک در کلیه ماهی سازگار شده با آب شور دریا بود. این نشان داد که علاوه بر این که اندازه گلومرول در آب شیرین بیشتر بود تعداد آنها نیز بیشتر بود.

در مطالعه حاضر، حضور لوله‌های کلیوی جنینی در بچه ماهیان ۰/۵ گرمی و عدم حضور آنها در بچه ماهیان ۱ و ۱/۵ گرمی، در شروع آزمایش و قبل از مواجهه با شرایط آزمایش چالش شوری، می‌تواند بیان کند که در بچه ماهیان ۰/۵ گرم هنوز لوله‌های جنینی حضور دارند که در حال ساخته شدن و تکامل هستند، به طوری که حتی پس از ۲۴۰ ساعت از حضور آنها در محیط رودخانه که شوری کمتری نسبت به دو محیط دیگر آزمایش داشت در بافت کلیه تعداد ۵ عدد از ۶ بچه ماهی نمونه‌برداری شده برای مطالعات بافتی، این لوله‌های با شدت متوسط مشاهده شدند. در حالی که در شروع آزمایش و قبل از مواجهه شدن با شوری‌های آزمایش هیچکدام از بچه ماهیان ۱ و ۱/۵ گرم

قطر گلومرول کمتر می‌شد. آنها همچنین نشان دادند که قطر گلومرول در زمان‌های ۲، ۱۰ و ۱۵ روز پس از شروع چالش‌های شوری، به طور معنی‌داری کمتر از روزهای ۰ و ۱ بود و با افزایش زمان قرار گرفتن در معرض شوری‌های مختلف، قطر گلومرول کمتر می‌شد (Chenari et al., 2011). در مطالعه دیگری که نوزادان ۵ و ۱۵ روزه تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) ۶۰ روز در معرض شوری‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ در هزار قرار داده شده بودند، در بررسی بافت کلیه آنها مشخص شد که با افزایش شوری اختلالات بافتی کلیوی از جمله کوچک شدن اندازه گلومرول در تیمارهای شوری مشاهده شد (Ali et al., 2024). نتیجه این گزارش و دیگر نتایج گزارش شده در بالا با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت داشت. زیرا مدت زمان ماندگاری در آب شور نیز در کاهش اندازه گلومرول و کپسول بومن در بچه ماهیان تاثیرگذار بود. اولین و اصلی‌ترین فعالیت کلیه در آب شیرین، دفع آب اضافه از بدن، بازجذب یون‌های فیلتر شده و تولید ادرار بسیار رقیق است که می‌تواند دلیلی بر مساحت بیشتر گلومرول‌ها در شوری پایین و یا تیمار آب شیرین باشد (MosaferKhorjestan et al., 2008). همچنین Brown و همکاران (۱۹۸۰) نشان

ادامه می‌دهند، این موضوع احتمالاً برای اطمینان از همگام شدن عملکرد کلیه با افزایش توده بدن اتفاق می‌افتد. سیگنال‌هایی که سرعت این نفونفروژنز را تنظیم می‌کنند به خوبی مشخص نشده‌اند، اما ممکن است با توانایی ماهی در احساس تغییرات در تعادل نمک یا مایعات مرتبط باشند. به دنبال آسیب حاد کلیه، نفونفروژنز به طور چشمگیری افزایش می‌یابد و به ماهی اجازه می‌دهد تا به سرعت نفرون‌های از دست رفته را بازسازی کند (Davidson, 2014).

در مجموع، با توجه به نتایج مطالعه حاضر، قرار گرفتن در محیط لب‌شور مصب و ساحل دریای خزر با املاح بیشتر و نوشیدن دائمی بچه ماهی‌ها، یون‌ها به اندازه کافی در اختیار بدن قرار گرفت و نیازی به فیلتراسیون گلومرولی و به دنبال آن گلومرول‌های وسیع نبود. در حالی که در شوری پایین‌تر یعنی در محیط رودخانه برای جذب یون‌های مورد نیاز گلومرول‌های وسیع‌تر و فعال‌تر بودند. همچنین این سازگاری با افزایش وزن بچه ماهیان بیشتر نمایان شد. به عبارتی هرچه وزن بچه ماهیان سفید بیشتر می‌شد، تغییر بیشتری در کاهش اندازه گلومرول و به دنبال آن کاهش فعالیت گلومرولی کلیه در مواجهه با شوری محیط مشاهده می‌شد. بنابراین

این لوله‌ها را در بافت کلیه خود نداشتند که می‌تواند نشان دهنده این موضوع باشد که لوله‌های کلیوی مزونفریک در این وزن‌ها کاملاً شکل گرفته‌اند. از طرف دیگر در تعدادی از بچه ماهیان ۱ و ۱/۵ گرمی در محیط‌های 7S و SW و بویژه در بچه ماهیان ۱ و ۱/۵ گرمی در محیط SW (تعداد ۵ عدد) حضور این لوله‌های نوپا نمایان شد. ظهور این لوله‌ها می‌تواند نشانه‌ای از نفونفروژنز در کلیه این ماهیان به دنبال بهم خوردن تعادل آب و نمک در بدن آنها در مواجهه با شرایط شوری جدید باشد (Davidson, 2014). مطالعات نشان می‌دهد که اجداد نفرون مزونفریک ماهی در مرحله لاروی ظاهر می‌شوند و به صورت خوشه‌هایی در بالای لوله‌های پرونفریک توده‌های متحدی را تشکیل می‌دهند. سلول‌های این خوشه‌ها بیان تنظیم‌کننده‌های کلیوی را فعال می‌کنند و به نفرون‌های نوپا تبدیل می‌شوند که با لوله کلیوی زیرین خود ترکیب می‌شوند. این فرآیند هم از نظر ریخت‌شناختی و هم در سطح مولکولی شبیه نفروژنز در پستانداران است که نشان می‌دهد مسیرهای فعال در ماهی در انسان حفظ می‌شوند. با این حال، بر خلاف پستانداران، اجداد نفرون ماهی در کلیه بالغ باقی می‌مانند و با رشد ماهی به اضافه کردن نفرون‌های جدید

تشکر و قدردانی

تغییرات ساختاری در بافت کلیه بچه ماهیان سفید که همسو با سازگاری به شرایط افزایش در شوری محیط در هنگام رهاسازی و قرار گرفتن در محیط‌های مصبی و ساحلی دریای خزر در مطالعه حاضر گزارش شد، نشان داد که سازش‌پذیری ساختار کلیه بچه ماهیان سفید با وزن ۱ گرم به بالا نسبت به مواجه شدن با شوری محدوده ۴ تا ۱۲ در هزار در نواحی ساحلی نزدیک به رودخانه‌ها از بچه ماهیان ۰/۵ گرم بیشتر بود.

بدین وسیله از جناب آقای مهندس عظیم مدبری ریاست وقت اداره کل شیلات گیلان، جناب آقای صمد درویشی معاون محترم وقت اداره کل شیلات گیلان و جناب آقای مهندس اسحاق رسولی ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ماهیان خاویاری شهید بهشتی به جهت حمایت‌های ارزشمندشان در اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

- Abbasi K., Abdolmaleki S., Kimaram F., Parafkandeh F., Moradi M., Fadaei B., Sarpanah A.N., Sabkara J., Makaremi M., Khatib S., Ghane A., Abedini A., Daghiq Rouhi J., Yousefzadeh A., Zhamtekesh Y.A., Khedmati K., Mirzajani A.R., Babaei H., Asgharnia M., Mahisefat F., Darvishi S., Sayad-Rahim M., Nikpour M., Norouzi H.A., Sedaghatkish A., Khoshal J., Rastin R., Iranpour M., Mehdizadeh G.R., Saberi H. and Mohsenpour H. 2016.** Study of the biological status of *Rutilus frisii kutum* fingerlings released in the Sefid Rud River (Giulan Province) (In Persian). Research Project Report, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Inland Water Aquaculture Research Center (Bandar Anzali), Iran. 154P.
- Abdolmaleki S. and Ghaninejad D. 2015.** Bony fishes of the Caspian Sea (biology, distribution, fishing and fishery, stock restoration, strengths and weaknesses) (In Persian). Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Iran. 424P.
- Ahmadnezhad M., Owfi F., Hosseinjani A., Bahmani M., Hafezieh M., Sayad Bourani M., Pourgholami A., Fazli H., Abdolmalaki S. and Khara H. 2022.** Application of SWOT-FAHP model for assessment of the restoration trend of Caspian kutum (*Rutilus kutum*) stocks in Iranian waters of the Caspian Sea. Journal of Aquaculture Sciences, 10(1): 22–33.
- Aktas M. and Cavdar N. 2012.** The combined effects of salinity and temperature on the egg hatching rate, incubation time, and survival until protozoal stages of *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) (Decapoda: Penaeidae). Turkish Journal Zoology, 36: 249–253. doi: 10.3906/zoo-1003-144
- Ali A., Azom M.G., Sarker B.S., Rani H., Alam M.S. and Islam M.S. 2024.** Repercussion of salinity on hematological parameters and tissue morphology of gill and kidney at early life of tilapia. Aquaculture and Fisheries, 9(2): 256–264. doi: 10.1016/j.aaf.2022.04.006
- APHA. 2005.** Standard methods for examining water and wastewater, Method 507, USA. 531P.
- ASTM. 2018.** Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials. USA. 14P.
- Ataimehr B. 2009.** Study of changes in some physiological indices effective in regulating the osmotic pressure of Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*, fry against salinity (In Persian). Ph.D. Thesis, University of Tehran, Iran. 178P.

- Baldisserotto B., Mancera J.M. and Kapoor B.G. 2007.** Fish Osmoregulation. CRC Press, USA. 540P.
- Bancroft J.D. and Gamble M. 2008.** Theory and Practice of Histological Techniques. Elsevier, Netherlands. 744P.
- Basir Z. and Peyghan R. 2020.** Histomorphology of excretory kidney of, common carp, *Cyprinus carpio* during different salinity adaptation. Iranian Veterinary Journal, 16(2): 22–28. doi: 10.22055/ivj.2019.191816.2158
- Behrouzi S., Farabi S.M.V., Hedayatifard M. and Sharifian M. 2015.** The survey effect of salinity performed on survival rate and histological changes in kidney tissues of *Rutilus frisii kutum* juvenile. Veterinary Research and Biological Products, 28(2): 31–37. doi: 10.22092/vj.2015.101268
- Beyenbach K.W. 2004.** Kidney sans glomeruli. American Journal of Physiology, 286(5): 811–827. doi: 10.1152/ajprenal.00351.2003
- Brown J.A., Oliver J.A. and Henderson I.W. 1980.** Angiotensin and single nephron glomerular function in the trout *Salmo gairdneri*. American Journal of Physiology, 239(5): 509–514. doi: 10.1152/ajpregu.1980.239.5.R509
- Brown J.A., Rankin J.C. and Yokota S.D. 1993.** Glomerular hemodynamics of filtration in single nephrons of nonmammalian vertebrates. P: 1–44. In: Brown J.A., Balment R.J. and Rankin J.C. (Eds.). New Insights in Vertebrate Kidney Function. Cambridge University Press, UK. doi: 10.1093/icb/34.2.300
- Charmi A., Bahmani M., Sajjadi M.M. and Kazemi R. 2009.** Morpho-histological study of kidney in farmed juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Pakistan Journal of Biological Sciences, 12: 11–18. doi: 10.3923/pjbs.2009.11.18
- Chenari F. Morovvati H. Ghazilou A. Savari A. and Ronagh M.T. 2011.** Rapid variation in kidney histology in spotted scat *Scatophagus argus* on exposed to abrupt salinity changes. Iranian Journal of Veterinary Research, 12(3): 256–261. doi: 10.22099/ijvr.2011.75
- Colvil T.P., Richards R.H. and Dobbie J.W. 2006.** Variations in renal corpuscular morphology with adaptation to sea water in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson 1836. Journal of Fish Biology, 23: 451–456. doi: 10.1111/j.1095-8649.1983.tb02925.x
- Davidson A.J. 2014.** Kidney regeneration in fish. Nephron Experimental Nephrology, 126(2): 45–49. doi: 10.1159/000360660
- Evans T.G. 2010.** Co-ordination of osmotic stress responses through osmosensing and signal

- transduction events in fishes. *Journal of Fish Biology*, 76(8): 1903–1925. doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02590.x
- Farabi S.M.O., Behrouzi S., Ghanei Tehrani M., Ramezani H., Azari Takami A.H., Shakuri M., Najafpour S., Vahedi F., Nasrollah Tabar A., Mollaei H., Alavi A. and Moazedi J. 2014.** The percentage determination of *Rutilus frisii kutum* (200, 500 and 1000 mg) resistance to salinity, turbidity and decrease of oxygen by usage of the river water at the releasing meantime (In Persian). Research Project Report, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Caspian Sea Ecological Research Center (Sari), Iran. 71P.
- Ghahramanzadeh Z., Bani A., Imanpour Namin J. and Hallajian A. 2014.** Comparison investigation of kidney tubules of kutum, *Rutilus frisii kutum*, in brackish water (Caspian Sea) and freshwater (Khoshkrood River). *Journal of Animal Research (Journal of Iranian Biology)*, 27(1): 134–142.
- Ghaninejad D., Moghim M. and Abdolmaleki S. 2001.** Stock assessment of Caspian Sea bony fish in 1999-2000 (In Persian). Research Project Report, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Inland Water Aquaculture Research Center (Bandar Anzali), Iran. 98P.
- Heidari B., Avarjeh S. and Taghavi Jelodar H. 2014.** Effects of salinity and temperature on glomeruli of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 2(2): 79–95. doi: 20.1001.1.23453966.1393.2.2.6.1
- Hwang P.P. and Lee T.H. 2007.** New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 148(3): 479–497. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.06.416
- Hwang P.P. and Wu S. 2006.** Salinity effect on cytometrical parameters of the kidney in the euryhaline teleost *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Biology*, 33(1): 89–95. doi: 10.1111/j.1095-8649.1988.tb05450.x
- Kultz D., Stillman J.H., Podrabsky J.E. and Tomanek L. 2015.** Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. *Journal of Experimental Biology*, 218(12): 1907–1914. doi: 10.1242/jeb.118695
- Mosafer Khorjestan Y., Khodabandeh S. and Khoshnood Z. 2008.** Mitochondria rich cells localization and effect of salinity on their distribution in kidney tubules of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Yakhteh Medical Journal*, 10(4): 280–287.
- Nash J. 1931.** The number and size of glomeruli in the kidneys of fishes with observations on the

- morphology of the renal tubules of fishes. *American Journal of Anatomy*, 47(2): 425–445. doi: 10.1002/aja.1000470209
- Ruan S., Lu Z., Huang W., Zhang Y., Shan X., Song W. and Ji C. 2023.** Renal metabolomic profiling of large yellow croaker *Larimichthys crocea* acclimated in low salinity waters. *Comparative Biochemistry and Physiology (D)*, 46: 1–10 (101083). doi: 10.1016/j.cbd.2023.101083
- Sales-Ribeiro C., Pisano S.R.R., Diserens N., Hoby S. and Schmidt-Posthaus H. 2023.** Glomerulocystic kidney in two red piranhas *Pygocentrus nattereri*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 155: 73–78. doi: 10.3354/dao03738
- Sayad Bourani M., Abtahi B., Bahmani M., Halajian A., Yousefi A. and Amiri A. 2009.** Study of kidney and gill tissue activity of Caspian salmon fry in Caspian Sea water salinity. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(4): 113–124.
- Sayad Bourani M., Bahmani M., Abdolhai H.A., Sharifian M., Ahmadnezhad M., Hosseinjani A., Amiri A., Maghsoudieh Kohan H., Saberi H., Khedmati K., Kazemi R.A., Parvaneh Moghadam D., Babaei H., Daghig Rouhi J., Abdolmaleki S., Mahisefat F., Darvishi S., Valipour A.R., Ladani R., Dejjandian S. and Chakmedooz F. 2016.** Determination of suitable size of *Rutilus frisii kutum* for releasing by evaluation of osmotic regulating ability (In Persian). Research Project Report, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Inland Water Aquaculture Research Center (Bandar Anzali), Iran. 50P.
- Shikano T. and Fujio Y. 1999.** Changes in salinity tolerance and branchial chloride cells of newborn guppy during freshwater and seawater adaptation. *Journal of Experimental Zoology*, 284(2): 137–146. doi: 10.1002/(SICI)1097-010X(19990701)284:2<137::AID-JEZ3>3.0.CO;2-2
- Takvam M., Wood C.M., Kryvi H. and Nilsen T.O. 2021.** Ion transporters and osmoregulation in the kidney of teleost fishes as a function of salinity. *Frontier Physiology*, 12: 1–25 (664588). doi: 10.3389/fphys.2021.664588
- Wedemeyer G.A. 1996.** *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman and Hall, USA. 232P. doi: 10.1007/978-1-4615-6011-1
- Wiener S.V. 2023.** Effects of the environment on the evolution of the vertebrate urinary tract. *Nature Reviews Urology*, 20(12): 719–738. doi: 10.1038/s41585-023-00794-3
- Wonge M.K.S. and Woo N.Y.S. 2006.** Rapid changes in renal morphometrics in silver sea bream *Sparus sarba* on exposure to

different salinities. *Journal of Fish Biology*, 69: 770–782. doi: 10.1111/j.1095-8649.2006.01148.x

Zar J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Upper USA. 946P.



Research Paper

The effect of salinity of different habitats on the kidney tissue of Caspian kutum (*Rutilus frisii*) fingerlings

Mohaddeseh Ahmadnezhad^{1*}, Mehdi Moradi Chafi², Mahmoud Bahmani³, Mohammad Sayad Bourani⁴, Adel Hosseini⁵, Hossein Saberi⁵, Keyvan Abbasi⁴, Farshad Mahisefat⁶, Jalil Sabkara⁷, Sepideh Khatib Haghighi⁷, Azemat Dadaye Ghandi⁸, Hadi Babayi⁸

DOI: 10.22124/japb.2024.25055.1505

Received: July 2023

Accepted: January 2024

Abstract

The migration of fish to the sea requires the ability of osmoregulation to exposure to salinity, and changes in the structure and function of many organs, including the kidney, are involved in the developing this process. In this study, quantitative and qualitative changes in the kidney tissue of Caspian kutum (*Rutilus frisii*) fingerlings exposed to water salinity in the coastal and estuarine areas of the Caspian Sea were investigated. Three weighing groups 0.5, 1, and 1.5g were treated for 10 days in the three natural environments of the river (freshwater), the estuary (6-7‰), and the coast of the Caspian Sea (11-12‰) in the Kiasher beach area. At the beginning (0h) and end of the experiment (240h), 6 individuals from each weight group in each treatment were caught. After dissecting and separating the kidney tissue, the area and diameter of the glomerulus and Bowman's capsule were measured. The results showed that at the end of the experiment, the size of the kidney tissue indices significantly decreased ($P<0.05$) with the increase in salinity in all treatments. So that, the extent of this decrease in 1 and 1.5g weight groups was significantly more than the 0.5g group ($P<0.05$). Qualitative changes, including a decrease in the width of the proximal and distal convoluted tubule after exposure to salinity, were observed in all weight groups. The decrease in the size of the glomerulus in the estuary and coastal environments can be because constant drinking of water in these environments causes enough ions to be provided to the body and there is no need for large glomeruli for filtration. In the present research, two weights of 1 and 1.5g can compromise with the conditions of increased salinity of the environment when released and placed in the estuary and coastal environments of the Caspian Sea.

Key words: *Osmoregulation, Caspian Sea, Bowman's Capsule, Glomerulus, Kutum.*

1- Assistant Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

2- M.Sc. in Fisheries, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

3- Professor in Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

4- Associate Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

5- Ph.D. in Chemistry, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

6- M.Sc. in Statistics, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

7- B.Sc. in Fisheries, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

8- M.Sc. in Chemistry, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

*Corresponding Author: m_ahmadnezhad@yahoo.com

