

مقاله پژوهشی

قابلیت تحمل بچه ماهی سفید (*Rutilus frisii*) به آب دریای خزر از طریق ارزیابی توان تنظیم اسمزی

محمد صیاد بورانی^{۱*}، محمود بهمنی^۲، محدثه احمدنژاد^{۳*}، عادل حسینجانی^۴، منصور شریفیان^۵

DOI: 10.22124/japb.2025.26509.1524

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۲

چکیده

در این مطالعه از بچه ماهیان سفید با میانگین وزنی $2/5 \pm 0/3$ گرمی استفاده شد که در سه تیمار آب دریای خزر با شوری ۱۱ گرم در لیتر، آب با شوری ۷ گرم در لیتر (شرایط مصبی) و آب شیرین (شرایط رودخانه با شوری کمتر از $0/5$ گرم در لیتر) و هر تیمار با سه تکرار قرار گرفتند. در فواصل زمانی ۰، ۳، ۷۲ و ۲۴۰ ساعت خونگیری با روش قطع ساقه دمی و جمع آوری خون توسط لوله های موئین هپارینه انجام شد و غلظت یون های منیزیم، کلسیم، کلر، سدیم و پتاسیم، فشار اسمزی و میزان هورمون کورتیزول پلازما اندازه گیری شدند. برای تهیه مقاطع بافت آبشش بچه ماهیان از روش بافت شناسی کلاسیک استفاده شد. از نتایج سنجش یون ها، فشار اسمزی و تعداد سلول های کلراید آبشش در روز دهم (ساعت ۲۴۰) آزمایش، می توان توانایی تنظیم اسمزی بچه ماهیان $2/5$ گرم را در محدوده شوری ۷ (شرایط مصبی) تا ۱۱ (آب دریای خزر) گرم در لیتر تایید کرد. اگر شرایط مصبی برای رهاسازی بچه ماهی سفید مناسب باشد، می توان از بچه ماهی سفید $2/5$ گرمی برای رهاسازی به مصب به منظور حفظ ذخایر استفاده کرد. اما در صورت نامساعد بودن شرایط رودخانه ای و مصبی برای رهاسازی بچه ماهی سفید، می توان بچه ماهی های $2/5$ تا ۳ گرمی را مستقیم در مناطق ساحلی (با شوری ۱۱ گرم در لیتر) رهاسازی کرد. اگرچه در صورت مناسب بودن شرایط رودخانه ای، رهاسازی بچه ماهیان در مناطق رودخانه ای شرط لازم برای سازگار شدن تدریجی بچه ماهیان است.

واژگان کلیدی: *Rutilus frisii*. تنظیم اسمزی، رهاسازی، دریای خزر.

۱- دانشیار پژوهشکده آبی پروری آب های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

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

۳- استادیار پژوهشکده آبی پروری آب های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

۴- کارشناس ارشد شیلات، پژوهشکده آبی پروری آب های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

۵- دانشیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: mohammadborani@yahoo.com، m_ahmadnezhad@yahoo.com

مقدمه

رها سازی شده بین ۱-۰/۶ گرم بود. از این رو، سعی بر آن است که درصد ضریب بقا افزایش یابد، یکی از راه های افزایش ضریب بقا بچه ماهیان، بررسی شاخص های فیزیولوژیکی و عوامل محیطی است که در بین شاخص های فیزیولوژیکی، تنظیم اسمزی از نقش و اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

تنظیم اسمزی فرایندی است که بر اثر آن الکترولیت های موجود در مایعات بدن به صورت نسبتا ثابتی نگه داشته می شود. نگه داشتن غلظت مایعات بدن در حد مناسب برای جانوران به ویژه ماهیان بسیار مهم است. چنانچه ماهی نتواند فشار اسمزی بدن خود را تنظیم کند، قطعاً تلف خواهد شد (McCormick et al., 2013).

بر اساس بررسی های McCormick و Saunders (۱۹۸۷)، سطوح اسمولاریته پلاسما در ماهیان استخوانی به طور طبیعی بین ۲۹۰ تا ۳۴۰ میلی اسمول در لیتر قرار دارد. یافته های Sayyad Bourani (۲۰۰۷) نشان داد که دامنه اسمولاریته چهار گروه وزنی بچه ماهیان آزاد دریای خزر *Salmo caspius* در آب با شوری ۷ گرم در لیتر بین ۲۷۹ تا ۳۳۹ میلی اسمول در لیتر و در تیمار آب دریای خزر، این دامنه در

ماهی سفید با نام علمی *Rutilus frisii*، یک ماهی استخوانی نیمه مهاجر رودکوچ بوده که به زندگی در آب لبشور دریای خزر و تالاب های اطراف آن سازگار شده است. این ماهی از مهم ترین ماهیان اقتصادی در بخش جنوبی دریای خزر یعنی سواحل شمالی ایران بوده و از دیر باز با زندگی ساحل نشینان مانوس شده است. سالیانه به طور متوسط بیش از ۱۵ هزار تن از انواع ماهیان استخوانی از سواحل ایرانی دریای خزر استحصال می شود که ماهی سفید بیش از ۷۰ درصد صید را به خود اختصاص می دهد (Iranian Fisheries Organization, 2015) و از این طریق در اقتصاد مردم شهرهای ساحلی استان گیلان و مازندران نقش به سزایی را ایفا می کند.

بر اساس مطالعات صورت پذیرفته، روی ضریب بازگشت ماهی سفید مربوط به نسل سال ۱۳۷۰ میزان ضریب بازگشت این ماهی ۸/۴ درصد محاسبه شده است که نسبت به سال ۱۳۶۵ و ۱۳۶۶ (حدوداً ۱۶ درصد) کاهش نشان داد (Sayyad Bourani et al., 2002). البته این میزان در ماهیان سفید نسل ۱۳۷۳ به ۷/۳ درصد رسید (Ghaniejad et al., 2001) و این در حالی است که دامنه وزنی بچه ماهیان سفید

تولیدمثلی و در اندام‌های مختلف درگیر در مکانیسم‌های تکاملی و فیزیولوژیکی شوند (Bahmani, 2002; Bahmani et al., 2007; Bodinier et al., 2010).

ماهیان مهاجر رودکوچ پس از مهاجرت به آب شیرین هیپراسموتیک و در آب دریا هیپواسموتیک هستند. شروع رشد این ماهیان ابتدا در آب شیرین و سیستم اسمزی در آنان در این محیط شکل می‌گیرد (Krayushkina, 1999). از این رو، اطلاع از چگونگی انجام این عمل در ماهی و زمان تشکیل و تکمیل اندام‌های تنظیم‌کننده اسمزی می‌تواند تعیین‌کننده باشد. در این راستا و با توجه به تولید بچه‌ماهیان در مراکز تکثیر مصنوعی کشور به نظر می‌رسد آگاهی از چگونگی تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان سفید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. این پژوهش با هدف معرفی اندازه مناسب ماهی سفید برای رویارویی با آب لب‌شور دریای خزر صورت گرفت و از آنجا که اندازه ماهی با قابلیت سازگاری ماهی با آب دریا در ارتباط است، بنابراین انجام این پژوهش ضروری به نظر می‌رسد. هر ساله صدها میلیون قطعه بچه‌ماهی سفید به رودخانه‌های منتهی به دریای خزر برای حفظ و افزایش ذخایر این ماهی رهاسازی می‌شوند و در پاره‌ای مواقع به‌ویژه اواسط

مورد بچه‌ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در محدوده ۳۰۱ تا ۳۴۴ میلی‌اسمول در لیتر قرار داشت، اما در بچه‌ماهیان ۵ گرمی بین ۳۰۷ تا ۳۶۰ میلی‌اسمول در لیتر بود که از حد طبیعی فراتر رفت.

تغییرات اسمولاریته سرم خون ماهیان در معارضه با شوری‌های دریایی طی دو مرحله رخ می‌دهد. در مرحله نخست، اسمولاریته سرم خون در روزهای ابتدایی (پس از انتقال به آب دریا) افزایش می‌یابد تا تقریباً با محیط دریا هم‌غلظت شود. در مرحله دوم اسمولاریته سرم خون پس از چند روز به سطح نزدیک به اسمولاریته ماهی در آب شیرین کاهش می‌یابد (Krayushkina et al., 1999; McCormick et al., 2013).

غده هیپوفیز با ترشح هورمون ACTH، غده فوق کلیوی را برای ترشح هورمون کورتیزول تحریک می‌کند. اندام‌هایی مانند کلیه، آبشش و روده تحت تاثیر این هورمون قرار می‌گیرند. همچنین هورمون‌های کورتیکوستروئیدی و به‌ویژه کورتیزول قادر هستند با فعال‌سازی یکسری واکنش‌های آنزیمی وابسته به گروه کاسپازها (Caspase) و تحت تاثیر فعالیت‌های سیتوکرومی موجب بروز پدیده آپوپتوز در مراحل رشد و نمو ماهیان از مرحله لاروی تا

تابستان بسیاری از رودخانه‌ها از شرایط مناسب رهاسازی برخوردار نیستند، بنابراین توجه به رهاسازی مستقیم به مناطق مصبی و ساحلی از دیر باز مطرح بوده که این پژوهش از نظر برخی از جنبه‌های فیزیولوژیکی موضوع را مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۵۰۰ قطعه از بچه‌ماهیان سفید (*Rutilus frisii*) با میانگین وزن $2/5 \pm 0/3$ گرم که حاصل تولید مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید انصاری رشت بودند، برای انجام آزمایش‌ها در شرایط استاندارد به ایستگاه تخصصی تغذیه و غذای زنده آبزیان ساحل غازیان انزلی منتقل شدند. بچه‌ماهیان پس از سازگاری با محیط، به مدت ۱۰ روز (۲۴۰ ساعت) در سه تیمار با سطوح شوری مختلف شامل آب شیرین (شوری کمتر از ۰/۵ گرم در لیتر)، آب لب‌شور مصبی (شوری ۷ گرم در لیتر) و آب دریای خزر (شوری ۱۱ گرم در لیتر) با سه تکرار و در مجموع در ۹ وان ۱۰۰ لیتری قرار گرفتند (Krayushkina, 1999). وان‌ها به صورت طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی طبق مطالعات Naiman و McCormick (۱۹۸۴)، چیده شدند. در تیمار آب شیرین از آب چاه

ایستگاه و در تیمار آب دریای خزر (شوری ۱۱ گرم در لیتر) از آب دریای خزر در ناحیه ساحلی ایستگاه استفاده شد. برای تهیه آب با شوری ۷ گرم در لیتر، آب شیرین چاه به اندازه‌ای با آب دریای خزر (شوری ۱۱ در هزار) مخلوط شد که میزان شوری نمایش داده شده در شوری‌سنج (ATAGO، ژاپن) به ۷ در هزار برسد. ۲۰ درصد آب موجود در هر یک از وان‌ها هر روز تعویض شد. شوری تمام تیمارها هر روز توسط شوری‌سنج اندازه‌گیری و کنترل شد. همچنین مقادیر pH، اکسیژن، نیتريت (NO_2^-)، یون آمونیوم (NH_4^+) و میزان یون‌های سدیم و کلر آب در تیمارهای آزمایش بر اساس روش استاندارد که برای آزمایش آب توسط انجمن بهداشت عمومی آمریکا (APHA) ارائه شده است، اندازه‌گیری شد (APHA, 2017). در طول مدت آزمایش، غذادهی بچه‌ماهیان با غذای کنسانتره SFK (فرادانه، ایران) به میزان ۲ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز انجام شد. ۱۲ ساعت قبل از هر نمونه‌برداری غذادهی قطع شد. پس از قرار گرفتن بچه‌ماهیان در وان‌ها، در فواصل زمانی ۰، ۳، ۷۲ و ۲۴۰ ساعت، خون‌گیری از طریق قطع ساقه دم و به وسیله لوله‌های مویین‌هپارینه انجام شد و خون جمع‌آوری شده به ظروف اپندورف ۱/۵

- Krayushkina et al., 2005; ASTM, (2018).
- هورمون کورتیزول با استفاده از روش رادیوایمونواسی انجام شد (Avella et al., 1990).
- برای مطالعه بافت‌شناسی آبشش، در زمان ۲۴۰ ساعت، ۶ قطعه بچه ماهی برداشت شد و پس از توزین و تشریح، کمان دوم آبشش از سمت چپ هر ماهی جداسازی و به مدت ۴۸ ساعت در محلول بوئن تثبیت شد. پس از آن، نمونه‌ها چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰ درصد مورد شستشو قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها از مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، پرافینه کردن، قالب‌گیری، برش با استفاده از میکروتوم، رنگ‌آمیزی و چسباندن لامل روی بافت با استفاده از چسب کانادا بالزام گذشتند (Posti and Sedigh Marvdasti, 1999; Kazemi and Bahmani, 1998). برای تشخیص بهتر سلول‌های کلراید آبشش از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین استفاده شد (Krayushkina, 1999). اسلایدهای بافتی آماده شده با کمک میکروسکوپ نوری (E600, Nikon، ژاپن) مجهز به نمایشگر مورد مطالعه و عکس‌برداری قرار گرفت. از عکس‌های به دست آمده از ۶ برش طولی از آبشش هر ماهی، میلی‌لیتری انتقال یافت (Sayyad Bourani, 2007).
- نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری (حدود ۰/۸ تا ۱/۵ میلی‌لیتر)، در سانتریفوژ (Combi 514R، Hanil Scientific Inc، کره جنوبی) با ۵۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند (McCormick and Naiman, 1984) و پلاسما جداسازی شد.
- برای تعیین فشار اسمزی پلاسما از دستگاه اسمومتر (Robelling، آلمان) استفاده شد که این دستگاه بر اساس نقطه انجماد مایع، فشار اسمزی را تعیین می‌کند (این سنسور در پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، بندر انزلی، انجام گرفت). برای این منظور از ۱۰ قطعه بچه ماهی استفاده شد (Krayushkina et al., 1996; Cataldi et al., 1999).
- برای اندازه‌گیری یون‌های منیزیم (Mg^{2+})، کلسیم (Ca^{2+}) و کلر (Cl^-) از روش طیف‌سنجی با دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-2100، UNICO، آمریکا) (Krayushkina et al., 1996) و یون‌های سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) از روش طیف‌سنجی انتشار اتمی شعله یا فلیم‌فتومتری (Clem, Fc 180، برزیل) استفاده شد (McCormick and Naiman, 1984).

با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند و در جداسازی گروه‌های همگن بر حسب کلاسه‌های شوری و مدت زمان قرارگیری از پس‌آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ استفاده شد.

نتایج

مقادیر pH، اکسیژن، نیتريت و یون آمونیوم در سه تیمار اختلاف معنی‌دار آماری نداشت ($P > 0.05$) و تعادل شیمیایی در وان‌ها برقرار بود. غلظت یون‌های سدیم و کلر در ترکیب آب دریای خزر و آب لب‌شور به طور معنی‌داری بالاتر از آب شیرین بود ($P < 0.05$; جدول ۱).

شمارش سلول‌های کلراید انجام شد و مساحت حداقل ۹۰ سلول کلراید در هر برش اندازه‌گیری شد. تعداد و اندازه سلول‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image Tool (2,0) در ۱ میلی‌متر مربع از اپی‌تلیوم محاسبه شد (Shikano and Fujio, 1999; Ahmadnezhad et al., 2012).

داده‌های به دست آمده با روش‌های عمومی آمار توصیفی مورد پردازش و میانگین‌گیری قرار گرفتند. داده‌های مربوط به تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبشش با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و داده‌های به دست آمده از سنجش اسمولاریته، غلظت یون‌ها و مقادیر کورتیزول با استفاده از تحلیل واریانس دو طرفه

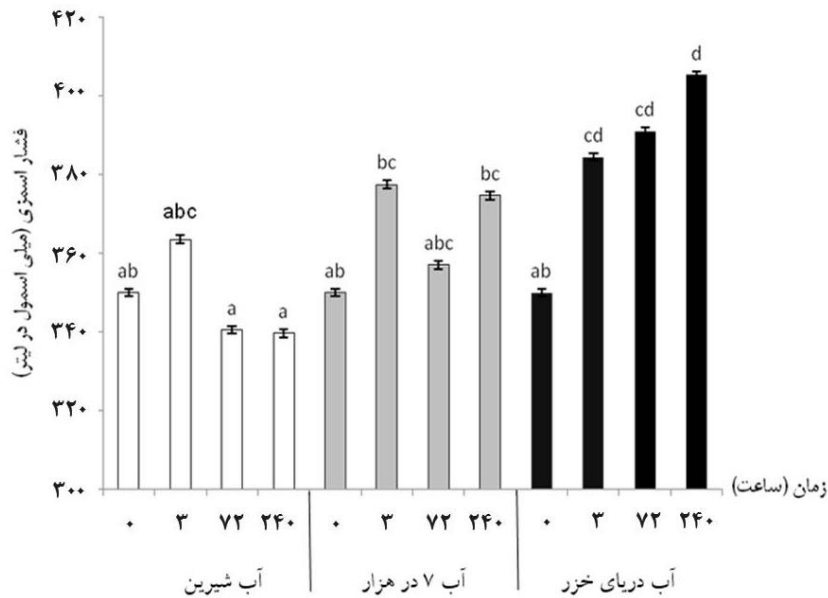
جدول ۱: شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب در تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

تیمار	شوری (g/L)	pH	O ₂ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	Na ⁺ (mEq/L)	Cl ⁻ (mEq/L)
آب شیرین	۰/۳۲	۸/۲۰	۹/۳۶	۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	۱۰/۰۴	۹/۰۱
	$\pm 0.03^a$	$\pm 0.12^a$	$\pm 1.27^a$	$\pm 0.02^a$	$\pm 0.06^a$	$\pm 0.03^a$	$\pm 0.02^a$
آب لب‌شور مصبی	۷/۱۰	۸/۱۰	۹/۲۰	۰/۰۰۸	۰/۰۱۱	۸۲/۵۷	۸۸/۳۰
	$\pm 0.94^b$	$\pm 0.09^a$	$\pm 0.05^a$	$\pm 0.02^a$	$\pm 0.01^a$	$\pm 0.50^b$	$\pm 0.58^b$
آب دریای خزر	۱۱/۷۰	۸/۰۱	۸/۲۵	۰/۰۰۶	۰/۰۱۰	۱۳۰/۰۰	۱۲۰/۰۰
	$\pm 0.90^c$	$\pm 0.08^a$	$\pm 0.80^a$	$\pm 0.17^a$	$\pm 0.03^a$	$\pm 1.00^c$	$\pm 0.90^c$

در هر ستون، حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

در آب شیرین و آب لب شور مصبی (۷ گرم در لیتر)، بین ساعت‌های مختلف مورد بررسی از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما در آب دریای خزر، بین ساعت‌های مختلف از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). ولی شاخص‌های دیگر دارای تفاوت‌های معنی‌دار بودند ($P < 0.05$ ؛ جدول ۲).

در آب شیرین و آب لب شور مصبی (۷ گرم در لیتر)، بین ساعت‌های مختلف مورد بررسی از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما در آب دریای خزر، بین ساعت‌های مختلف از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). به طوری که پس از قرارگیری بچه ماهیان در آب دریای خزر، فشار اسمزی در ساعت‌های مختلف روند صعودی را طی کرد و در زمان ۲۴۰ ساعت به بیشترین مقدار ($405/33 \pm 3/51$) میلی‌اسمول



شکل ۱: مقادیر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان در ساعت‌ها و شوری‌های مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های پلاسماي خون بچه ماهیان سفید در ساعت‌ها و شوری‌های مختلف (میانگین ± خطای استاندارد)

کورتیزول (ng/mL)	Mg (mg/dL)	Ca (mg/dL)	K (mEq/L)	Na (mEq/L)	Cl (mEq/L)	تیمار	
						زمان (ساعت)	شوری
۸۳۴/۳ ±۱۹۷/۸ ^a	۳/۶۷ ±۰/۵۰ ^{ab}	۹/۱۳ ±۱/۱۷ ^a	۴/۸۷ ±۱/۲۹ ^a	۱۴۲/۰۰ ±۳/۰۰ ^{ab}	۱۲۲/۰۰ ±۷/۵۵ ^a	۰	آب شیرین
۱۱۴۲/۵ ±۱۳۳/۴ ^a	۳/۸۵ ±۰/۷۸ ^{ab}	۱۰/۴۵ ±۰/۲۱ ^{abc}	۲/۸۰ ±۰/۰۰ ^a	۱۳۶/۵۰ ±۲/۱۲ ^{ab}	۱۱۰/۰۰ ±۱/۴۱ ^a	۳	
۱۰۲۰/۵ ±۳۷/۵ ^a	۳/۲۵ ±۰/۰۷ ^a	۱۰/۱۵ ±۰/۳۵ ^{abc}	۳/۰۰ ±۰/۱۴ ^{ab}	۱۱۸/۰۰ ±۱۱/۳۱ ^a	۱۱۷/۵۰ ±۲/۱۲ ^a	۷۲	
۸۳۹/۰ ±۲۸/۵ ^a	۳/۱۳ ±۰/۰۶ ^a	۹/۵۳ ±۰/۷۸ ^{ab}	۶/۳۳ ±۱/۰۷ ^b	۱۲۷/۰۰ ±۳/۰۰ ^{ab}	۱۰۸/۳۳ ±۵/۰۳ ^a	۲۴۰	
۸۳۴/۳ ±۱۹۷/۸ ^a	۳/۶۷ ±۰/۵۰ ^{ab}	۹/۱۳ ±۱/۱۷ ^a	۴/۸۷ ±۱/۲۹ ^{ab}	۱۴۲/۰۰ ±۳/۰۰ ^{ab}	۱۲۲/۰۰ ±۷/۵۵ ^a	۰	آب لب‌شور مصبی
۸۱۰/۵ ±۱۳۳/۶ ^a	۵/۶۵ ±۰/۶۴ ^{cd}	۱۲/۱۵ ±۰/۰۷ ^{bc}	۲/۰۵ ±۰/۰۷ ^a	۱۰۹/۰۰ ±۵/۶۶ ^a	۱۱۶/۰۰ ±۱/۴۱ ^a	۳	
۸۸۶/۰ ±۴۲/۴ ^a	۳/۹۵ ±۰/۵۰ ^{abc}	۱۰/۴۵ ±۰/۳۵ ^{abc}	۳/۲۰ ±۰/۱۴ ^{ab}	۱۲۹/۰۰ ±۱۵/۵۶ ^{ab}	۱۲۷/۰۰ ±۴/۲۴ ^a	۷۲	
۹۹۸/۳ ±۷۱/۹ ^a	۴/۳۷ ±۰/۴۶ ^{abc}	۱۰/۸۷ ±۰/۷۱ ^{bc}	۴/۷۷ ±۱/۱۸ ^{ab}	۱۵۳/۰۰ ±۴/۳۶ ^{ab}	۱۱۵/۳۳ ±۹/۰۲ ^a	۲۴۰	
۸۳۴/۳ ±۱۹۷/۸ ^a	۳/۶۷ ±۰/۵۰ ^{ab}	۹/۱۳ ±۱/۱۷ ^a	۴/۸۷ ±۱/۲۹ ^{ab}	۱۴۲/۰۰ ±۳/۰۰ ^{ab}	۱۲۲/۰۰ ±۷/۵۵ ^a	۰	آب دریای خزر
۶۵۲/۵ ±۱۳۷/۹ ^a	۶/۸۵ ±۰/۰۷ ^d	۱۲/۴۵ ±۰/۲۱ ^c	۲/۳۵ ±۰/۶۴ ^a	۱۳۰/۰۰ ±۱۸/۳۹ ^{ab}	۱۱۰/۵۰ ±۱۲/۰۲ ^a	۳	
۸۳۹/۰ ±۲۹/۷ ^a	۴/۵۰ ±۰/۴۲ ^{abc}	۱۱/۵۰ ±۰/۷۱ ^{bc}	۲/۶۵ ±۰/۶۴ ^a	۱۵۰/۵۰ ±۳۴/۶۵ ^b	۱۲۷/۵۰ ±۶/۳۶ ^a	۷۲	
۹۴۶/۰ ±۱۴۶/۰ ^a	۴/۹۳ ±۰/۶۰ ^{bc}	۱۱/۸۳ ±۰/۵۵ ^{bc}	۳/۳۷ ±۰/۸۵ ^{ab}	۱۳۸/۵۷ ±۱۷/۹۹ ^b	۱۲۴/۳۳ ±۴/۱۶ ^a	۲۴۰	

در هر ستون، حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

یون سدیم پلاسما در ساعت‌های مختلف هر تیمار شوری دارای تفاوت معنی‌دار نبود، ولی مقادیر این یون در زمان‌های انتهایی قرارگیری در آب دریای خزر (۷۲ و ۲۴۰ ساعت) در مقایسه با زمان‌های ابتدایی (۳ ساعت اول) تیمارهای آب لب‌شور (۷ گرم در لیتر) و آب

شیرین (۷۲ ساعت) دارای تفاوت معنی دار بود (جدول ۲).

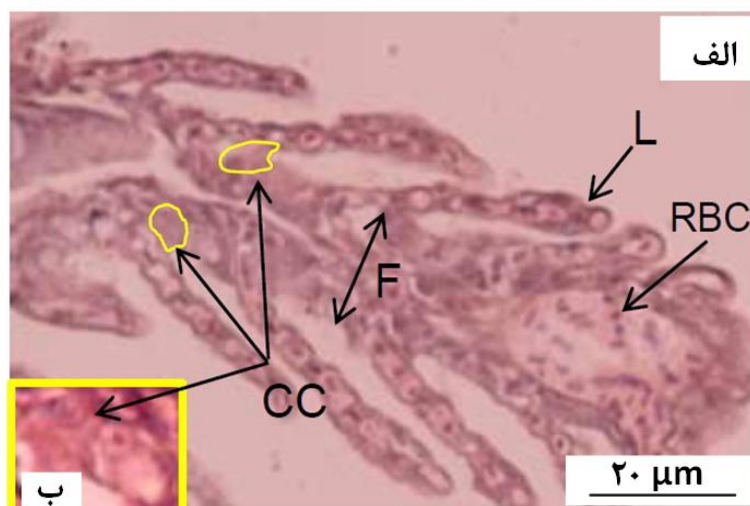
غلظت یون پتاسیم پلاسما در محیط آب شیرین اگرچه از زمان صفر تا ۲۴۰ ساعت دارای نوسان‌هایی بود، اما در مقدار آن در پایان دوره افزایش یافت، به طوری که از $4/87 \pm 1/29$ میلی‌اکی‌والان در لیتر (ساعت صفر) به $6/33 \pm 1/07$ میلی‌اکی‌والان در لیتر (ساعت ۲۴۰) رسید. نوسان‌های این شاخص در آب لب‌شور و آب دریای خزر متعادل‌تر و بدون اختلاف معنی دار بود. در مجموع، غلظت این یون به استثنای زمان ۲۴۰ ساعت آب شیرین در بقیه تیمارها و زمان‌ها تفاوت معنی دار آماری را نشان نداد (جدول ۲).

تغییرات یون کلسیم پلاسمای بچه ماهیان در تیمار آب شیرین هیچ گونه تغییرات معنی‌داری نداشت. در محیط آب لب‌شور و آب دریای خزر، این تغییرات پس از ۱۰ روز (۲۴۰ ساعت) نسبت به زمان اولیه (زمان صفر) افزایش معنی دار داشت و از $9/13 \pm 1/17$ میلی‌گرم

در دسی‌لیتر در زمان صفر به $10/87 \pm 0/71$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمار آب لب‌شور و $11/83 \pm 0/55$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمار آب دریای خزر افزایش یافت (جدول ۲).

غلظت یون منیزیم پلاسما در تیمارهای مختلف شوری نوسان داشت، ولی این نوسان‌ها معنی دار نبودند و پس از ۲۴۰ ساعت به سطح اولیه نزدیک شدند (جدول ۲).

نتایج اندازه‌گیری و شمارش سلول‌های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید (شکل ۲) پس از ۲۴۰ ساعت قرارگیری در تیمارهای مختلف شوری نشان داد که بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر از نظر مساحت و محیط سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفید اختلافی مشاهده شد که از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$; جدول ۳). از نظر تعداد سلول‌های کلراید آبشش، با افزایش شوری افزایش معنی دار تعداد سلول‌ها برای رویارویی با محیط شورتر به وقوع پیوست ($P < 0/05$; جدول ۳).



شکل ۲: برش بافت آبشش بچه ماهی سفید سازگار شده با آب دریای خزر پس از ۲۴۰ ساعت (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین). الف) سلول‌های کلراید روی فیلامنت در ناحیه بین لاملا مشخص هستند. ب) سلول کلراید فیلامنتی با بزرگ‌نمایی بیشتر. CC: سلول کلراید (Chloride Cell); F: رشته آبششی (Filament); L: تیغه آبششی ثانویه (Lamella); RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell).

جدول ۳: شاخص‌های کمی سلول‌های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید پس از ۲۴۰ ساعت قرارگیری در تیمارهای مختلف شوری (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	تیمار		
	آب شیرین	آب لب شور مصبی	آب دریای خزر
مساحت سلول (میکرومتر مربع)	۴۴/۹۵ \pm ۱۱/۳۰ ^a	۴۶/۶۰ \pm ۱۲/۳۰ ^a	۴۷/۹۵ \pm ۱۲/۹۲ ^a
محیط سلول (میکرومتر)	۲۹/۱۶ \pm ۴/۴۲ ^a	۲۹/۷۰ \pm ۵/۱۰ ^a	۲۹/۹۰ \pm ۵/۱۳ ^a
تعداد سلول (در میلی‌متر مربع)	۱۰/۰۷ \pm ۱/۰۹ ^a	۱۲ \pm ۰/۹۰ ^b	۱۲/۰۶ \pm ۰/۷۰ ^b

در هر ردیف، حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

در میان عوامل فیزیولوژیکی، تنظیم اسمزی از

بحث

نقش و اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه تنظیم اسمزی می‌تواند زمان مناسب مهاجرت

یکی از راه‌های افزایش ضریب بقای

بچه ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیکی است.

بنابراین عدم توانایی این گروه در مطابقت با شوری خزر مورد تایید است.

شوری ۷ گرم در لیتر که به عنوان نماینده شرایط مصبی در این پژوهش جای گرفته بود و در دوره‌های پرآبی رودخانه‌های خزر جنوبی در بخش‌های وسیعی از آب‌های حاشیه حاکم می‌شود، از نظر اسمولاریته به شرایط داخلی بچه‌ماهیان بسیار نزدیک بود. بنابراین عدم تاثیر بارز این شوری و متعادل شدن اسمولاریته این گروه وزنی پس از ۲۴۰ ساعت قابل توجیه است. در بررسی روند تغییرات یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم و پتاسیم که اجزای اصلی ایجادکننده فشار اسمزی هستند می‌توان برداشت مشابهی با وضعیت تغییرات اسمولاریته داشت. بر اساس مطالعات McCormick و Naiman (۱۹۸۴)، در جریان تغییر شوری محیط، طی ۴ روز اول بیشترین تغییرات در مقادیر یون‌های پلاسما و فشار اسمزی ایجاد می‌شود. بنابراین، اندازه‌گیری متغیرهای پلاسمای خون در نخستین روزهای قرارگیری در معرض آب دریا به عنوان یک شاخص توانایی تنظیم در محیط غلیظ (Hypo-osmoregulation) مطرح است.

مهم‌ترین یون‌های موثر در فشار اسمزی ماهی یون‌های کلسیم و سدیم بودند که در گروه

ماهی از رودخانه به دریا و در حقیقت اندازه مناسب رهاسازی یا پرورش در محیط‌های دریایی را مشخص کند (Laird and Needham, 1988) و از این طریق بر میزان بازگشت ماهیان مولد بیافزاید (Hansen and Jonsson, 1989).

در این پژوهش پاسخ‌های فیزیولوژیکی بچه‌ماهیان سفید به افزایش شوری محیط در گروه وزنی ۲/۵ گرمی مطالعه شد. پاسخ‌های بررسی شده شامل تغییرات اسمولاریته پلاسما، تغییر غلظت یون‌های اصلی پلاسما و سطح هورمون کورتیزول بود که هر یک نشان‌دهنده عملکرد یک یا چند دستگاه بدن در مقابله با شوری است.

نتایج بررسی فشار اسمزی در آب شیرین، آب لب‌شور مصبی (شوری ۷ گرم در لیتر) و آب دریای خزر (شوری ۱۱-۱۱/۵ گرم در لیتر) نشان داد که در بچه‌ماهیان ۲/۵ گرم، فعالیت مکانیزم تنظیمی در آب لب‌شور مشاهده شد. به طوری که میزان فشار اسمزی پس از ۲۴۰ ساعت نوسان به سطح اولیه نزدیک شد و اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین در مواجهه این گروه وزنی با آب دریای خزر، سطح فشار اسمزی در زمان ۲۴۰ ساعت نسبت به سطح اولیه افزایش معنی‌داری را نشان داد.

سلول‌های کلراید آبشش ماهیان دارای نقش اساسی در تنظیم یونی آنها هستند. این سلول‌ها در ماهیان آب شیرین بزرگ‌تر ولی با تعداد کمتر و در محیط آب دریا کوچک‌تر ولی با تعداد بسیار بیشتر دیده می‌شوند. سلول‌های کلراید پس از انتقال به محیط آب دریا، از حالت نوع آب شیرین به سلول‌های کلراید نوع آب دریا تغییر شکل می‌دهند، به طوری که از وظیفه جذب یون به وظیفه ترشح یون تغییر حالت می‌دهند (Hiroi and McCormick, 2007). مطالعاتی که Laurent و Hebebi (۱۹۸۹) روی تنظیم فشار اسمزی ماهیان انجام دادند، نشان داد که تعداد و یا اندازه سلول‌های کلراید بین لاملائی در هنگام سازگاری ماهیان یوری هالینی افزایش می‌یابد. طبق یافته‌های Maetz (۱۹۷۴) در برخی ماهیان استخوانی تعداد سلول‌های کلراید نسبتاً سریع افزایش می‌یابد و نتیجه آن را طی ۳ روز اول سازگاری به آب دریا می‌توان دید. در مطالعه حاضر نیز اندازه سلول‌های کلراید (مساحت و محیط سلول‌ها) پس از قرارگیری بچه‌ماهیان ۲/۵ گرمی در محیط‌هایی با شوری‌های مختلف، افزایش یافت. همچنین با بررسی تغییرات تعداد سلول‌های کلراید در این مطالعه، افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌ها پس از ۲۴۰ ساعت قرارگیری ماهیان ۲/۵ گرمی در

وزنی ۲/۵ گرمی پس از قرار گرفتن در آب دریا ابتدا افزایش یافتند و پس از آن دوباره کم شدند و به مقادیر زمان صفر نزدیک شدند ($P > 0.05$). بنابراین، به واسطه نزدیکی غلظت یون‌ها در شوری ۷ گرم در لیتر با مقدار یون‌های پلاسما بچه‌ماهیان، عدم تاثیر بارز شوری ۷ گرم در لیتر و متعادل شدن ترکیب یونی این گروه‌ها پس از ۲۴۰ ساعت را می‌توان توجیه کرد.

میزان یون سدیم و کلر آب دریای خزر به ترتیب ۱۳۰ و ۱۲۱ میلی‌اکی‌والان در لیتر محاسبه شد، در صورتی که غلظت پلاسما بچه‌ماهیان ۲/۵ گرمی پس از ۷۲ ساعت تا حدودی پایین‌تر از مقادیر محیطی بود. بر اساس مطالعات Krayushkina و همکاران (۲۰۰۵)، در گونه‌هایی که پس از انتقال از آب شیرین به آب لب‌شور، غلظت یون‌ها و اسمولاریته پلاسما خون آنها به پایین‌تر از مقادیر این شاخص‌ها در محیط برسد، قادر هستند از حالت تنظیمی Hyperosmotic به حالت Hypoosmotic در آیند.

به طور کلی با توجه به نتایج سنجش یون‌ها در روز دهم تیمارها، می‌توان قابلیت اسمزی بچه‌ماهیان ۲/۵-۳ گرمی را در شوری دریای خزر و آب لب‌شور (۷ گرم در لیتر) تایید کرد.

تیمارهای آب لبشور و آب دریای خزر نشان داده شد. در مجموع، بر اساس یافته‌های حاضر، قابلیت تحمل بچه ماهیان سفید ۳-۲/۵ گرمی نسبت به شرایط محیطی ۷ گرم در لیتر (مناطق مصبی و ساحلی) تایید می‌شود. در ضمن، علاوه بر شاخص‌های فیزیولوژیکی باید به ویژگی‌های رفتاری ماهی نیز برای اظهار نظر نهایی توجه کرد.

منابع

- Ahmadnezhad M., Oryan S., Bahmani M. and Sayyad Bourani M. 2012.** Evaluation of osmotic regulation ability in zander, *Sander lucioperca* [In Persian]. Ph.D. Thesis, Islamic Azad University, Iran. 178P.
- APHA. 2017.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, USA. 1545P.
- ASTM. 2018.** Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, USA. 570P.
- Avella M., Young G., Prunet P. and Schreek C.B. 1990.** Plasma prolactin and cortisol concentration during salinity challenges of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at smolt and post-smolt stages. *Aquaculture*, 91(3-4): 359–370. doi: 10.1016/0044-8486(90)90200-7
- Bahmani M. 2002.** Study of stress hormones effects on ovarian follicular and testis apoptosis in gold fish, *Carassius auratus*. Postdoctoral Research Fellow Thesis, University of Calgary, Canada. 475P.
- Bahmani M., Andreu-Vieyra C.V. and Habibi H.R. 2007.** Effects of cortisol on testicular apoptosis in goldfish (*Carassius auratus*). *Iranian Journal of Fisheries Science*, 6(2): 1–14.
- Bodinier C., Sucre E., Lecurieux-Belfond L., Blondeau-Bidet E. and Charmantier G. 2010.** Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 157: 220–228. doi: 10.1016/j.cbpa.2010.06.185
- Cataldi E., Barzaghi C., Dimarco P., Boglione C., Dini L., McKenzie D.J., Bronzi P. and Cataudella S. 1999.** Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*. I: Ontogenesis of salinity tolerance. *Journal of Applied Ichthyology*, 155: 57–60. doi: 10.1111/j.1439-0426.1999.tb00207.x
- Ghaniejad D., Moqem M., Sayad Bourani M. and Abdolmalaki S. 2001.** Assessment of the Caspian Sea bony fish stocks in 2000-2001 [In Persian]. Iranian Fisheries Research Institute, Iran. 98P.
- Hansen L.P. and Jonsson B. 1989.** Salmon ranching experiments in the River Imsa: Effects of timing of Atlantic salmon smolt migration on survival to adults. *Aquaculture*, 82: 367–373. doi: 10.1016/0044-8486(89)90422-5
- Hiroi J. and McCormick S.D. 2007.** Variation in salinity tolerance, gill Na^+ , K^+ -ATPase, $\text{Na}^+/\text{K}^+2\text{Cl}^-$ cotransporter and mitochondria rich cell distribution in three

- salmonids *Salvelinus namaycush*, *Salvelinus fontinalis* and *Salmo salar*. Journal of Experimental Biology, 210: 1015-1024. doi: 10.1242/jeb.002030
- Iranian Fisheries Organization. 2015.** Iranian Fisheries Fishing and Aquaculture Statistics [In Persian]. Iranian Fisheries Organization, Iran. 56P.
- Kazemi R. and Bahmani M. 1998.** Guidelines for the preparation and staining of tissues for histological studies [In Persian]. Dr. Dadman International Sturgeon Institute, Iran. 16P.
- Krayushkina L. 1999.** Investigation of the Osmotic System of Fish [In Persian]. Iranian Fisheries Research Institute, Iran. 83P.
- Krayushkina L.S., Panov A.A., Gerasimov A.A. and Potts W.T.W. 1999.** Changes in sodium, calcium and magnesium ion concentrations in sturgeon [*Huso huso*] urine and in kidney morphology. Journal of Comparative Physiology (B), 165: 527-533. doi: 10.1007/BF00387513
- Krayushkina L.S., Semenova O.G. and Vyushina A.V. 2005.** Level of serum cortisol and Na⁺,K⁺-ATPase activity of gills and kidneys in different species of acipenserids. Journal of Applied Ichthyology, 22: 182-187. doi: 10.1111/J.1439-0426.2007.00948.X
- Krayushkina L.S., Semenova O.G., Panov A.A. and Gerasimov A.A. 1996.** Functional traits of the osmoregulatory system of juvenile paddle fish *Polyodon spathula*. Journal of Ichthyology, 36(9): 787-793.
- Laird L.M. and Needham T. 1988.** Salmon and Trout Farming. Ellis Horwood Limited, UK. 271P.
- Laurent P. and Hebebi N. 1989.** Gill morphometry and fish osmoregulation. Canadian Journal of Zoology, 67: 3055-3063.
- Maetz J. 1974.** Aspects of adaptation to hypo-osmotic and hyperosmotic environments. P: 1-167. In: Malins D.C. and Sargent J.R. (Eds.). Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. Academic Press, UK.
- McCormick S.D. and Naiman R.J. 1984.** Osmoregulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. II. Effect of size, age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation. Comparative Biochemistry and Physiology (A), 79(1): 17-28. doi: 10.1016/0300-9629(84)90704-7
- McCormick S.D. and Saunders R.L. 1987.** Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: Osmoregulation, growth, and metabolism. American Fisheries Society Symposium, 1: 211-229.

- McCormick S.D., Farrell A.P. and Brauner C.J. 2013.** Fish Physiology: Euryhaline Fishes. Academic Press Inc, USA. 581P.
- Posti A. and Sedigh Marvdasti A. 1999.** Atlas of Fish Histology (Natural Forms and Pathology) [In Persian]. Tehran University Press, Iran. 328P.
- Sayyad Bourani M. 2007.** Determining the appropriate size for releasing Caspian Sea salmon fry through evaluating osmotic regulation capabilities [In Persian]. Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Iran. 54P.
- Sayyad Bourani M., Tolouei M., Abdolmalaki S., Pourgholami Moghaddam A., Khodaparast H., Ghaninejad D. and Hosseini A. 2002.** Quantitative and qualitative study of released bony fish fry in the waters of Guilan Province (1990) [In Persian]. Iranian Fisheries Research Institute, Iran. 151P.
- Shikano T. and Fujio Y. 1999.** Changes in salinity tolerance and branchial chloride cells of new born guppy during fresh water and sea water adaptation. Journal of Experimental Zoology, 284: 137–146. doi: 10.1002/(sici)1097-010x(19990701)284:2<137:aid-jez3>3.0.co;2-2



Research Paper

Caspian Sea water tolerance in *Rutilus frisii* fingerlings through evaluating the osmoregulation capability

Mohammad Sayyad Bourani^{1*}, Mahmoud Bahmani², Mohaddeseh Ahmadnezhad^{3*}, Adel Hosseinjani⁴, Mansoor Sharifiyan⁵

DOI: 10.22124/japb.2025.26509.1524

Received: January 2024

Accepted: May 2025

Abstract

In this study, Caspian kutum fingerlings with 2.5 ± 0.3 g body weight were used, which were placed in three treatments, Caspian Sea water with salinity of 11g/L, water with salinity of 7g/L (estuary conditions), and freshwater (river conditions with a salinity of less than 0.5g/L), each group with three replicates. At time intervals of 0, 3, 72, and 240h, blood was taken by cutting the caudal peduncle and blood collected by using heparinized capillary tubes. The concentrations of Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , Na^+ and K^+ ions, osmotic pressure and the level of plasma cortisol hormone were measured. Classical histological method was used to prepare gill tissue sections of the fingerlings. From the results of measuring ions, osmotic pressure and number of chloride cells on the 10th day (240h) of the experiment, it can be confirmed that 2.5g fingerlings were able to regulate their osmolarity in the salinity range of 7 (estuary conditions) to 11g/L (Caspian Sea water). If the estuary conditions are suitable for releasing, kutum 2.5g fingerlings can be used for release into the estuary to maintain the stocks. However, if the river and the estuary conditions are not suitable for releasing kutum fingerling, 2.5 to 3g fingerlings can be released directly into coastal areas (with a salinity of 11g/L). Although, if the river conditions are suitable, releasing the fingerlings in river areas is a necessary condition for the gradual adaptation of them.

Key words: *Rutilus frisii*, Osmoregulation, Release, Caspian Sea.

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

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

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

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

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

*Corresponding Authors: mohammadborani@yahoo.com, m_ahmadnezhad@yahoo.com