فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

مقایسه ریزترکیبات شیمیایی اتولیت در ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) ماده تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی

علی بانی[۱،۲]*، معصومه لطفی چهارده[۳]، مائده قربان خواه مریدانی[۴]

تاریخ دریافت: فروردین ۹۹ تاریخ پذیرش: تیر ۹۹

چکیده

در پژوهش حاضر میزان ریزترکیبات استرانسیوم (Sr)، باریوم (Ba) و کلسیم (Ca) و همچنین نسبت‌های Sr:Ca، Ba:Ca و Sr:Ba در اتولیت ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* ماده فعال و غیرفعال تولیدمثلی پنج ساله، به منظور مطالعه تاریخچه مهاجرتی تولیدمثلی این ماهیان توسط دستگاه ICP-MS اندازه گرفته شد. نمونه‌های آب و ماهیان از قسمت جنوب غرب دریای خزر در ماه‌های بهمن و اسفند، نزدیک به زمان تخم‌ریزی این ماهیان، گرفته شدند. میزان Sr آب دریای خزر دو برابر میزان این عنصر در رودخانه بود، ولی تفاوت Ba آب رودخانه و دریا قابل ملاحضه نبود. مقایسه بین دو گروه ماهیان تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی نشان داد که با وجود تفاوت کم میزان Sr بین دو دسته ماهی، اختلاف معنی‌داری بین نسبت Ba:Ca اتولیت آن‌ها دیده شد. تفاوت در نسبت Ba:Ca می‌تواند نتیجه حرکت ماهیان به مناطق ساحلی در فصل تولیدمثل و تغذیه در ماهیان غیرتولیدمثلی باشد. به طور کلی این مطالعه نشان می‌دهد که آنالیز ریزترکیبات شیمیایی اتولیت در تفکیک دو دسته ماهی موثر است. به وسیله نسبت برخی عناصر به کلسیم می‌توان این دو دسته را از هم تفکیک کرد که ابزاری ارزشمند برای درک الگوی حرکتی ماهیان مولد به حساب می آید و می تواند با اطلاعات ناشی از علامت گذاری تکمیل شود.

واژگان کلیدی: *رفتارهای مهاجرتی، تولیدمثل، آنالیز شیمیایی، دریای خزر، ماهی سفید.*

۱- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۲- استاد گروه علوم دریایی پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۳- کارشناس ارشد زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۴- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
* نویسنده مسئول: bani@guilan.ac.ir

مقدمه

یکی از پیشرفت‌های اخیر علم زیست‌شناسی استفاده از ریزترکیبات شیمیایی (Trace Elements) درساختارهای سخت کلسیمی ماهیان به عنوان نشانگرهای طبیعی است. این ترکیبات می‌توانند به طور بالقوه برای جداسازی ماهیانی که در محیط‌های مختلف آبی حضور داشته‌اند، به کار برده شوند. اتولیت‌ها (سنگریزه‌های شنوایی) که اصلی‌ترین ساختارهای کلسیمی استفاده شده برای تمایز ذخایر و مطالعات حرکتی ماهیان محسوب می‌شوند، در مایع اندولنفی و در درون گوش داخلی معلق هستند (Campana, 1999). ترکیبات شیمیایی اتولیت ثبت دائمی از شرایط محیطی که ماهی تجربه کرده است را نشان می‌دهد (Ruttenberg et al., 2005). ۳۱ ریزترکیب شیمیایی در اتولیت ماهیان یافت می‌شود (Campana, 1999) که رسوب آن‌ها عمدتا تحت تاثیر عوامل محیطی مانند شیمی آب، شوری، زیستگاه ماهی، درجه حرارت، تغییرات انتوژنیک (Ontogenic) و همچنین شرایط فیزیولوژیکی ماهی مانند دگردیسی، رشد، متابولیسم و عادات تغذیه‌ای است (Mugiya et al., 1981; Buckel et al., 2004).

بررسی تاریخچه تولیدمثلی ماهیان رودکوچ (Anadromous) و همچنین مهاجرت آن‌ها از طریق آنالیز اتولیت (Rideout et al., 2005) امکان پذیر است. ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii* Kamensky, 1901) یک ماهی رودکوچ مهاجر است (Berg, 1964) که چرخه تولیدمثلی سالیانه دارد و هر ساله در دریای خزر تخم‌ریزی می‌کند (Abdoli, 1999). باتوجه به پراکنش ماهی سفید، این ماهی یکی از ماهی‌های با اهمیت در حوزه جنوبی دریای خزر است. در دوره‌ای که این ماهی در دریا به سر می‌برد، زیستگاه آن تا عمق ۳۰ متری در نواحی که موجودات کفزی به ویژه نرم‌تنان وجود دارند، است. در فصل پاییز و زمستان قسمت‌های عمیق‌تر را ترجیح می‌دهد. رسیدگی جنسی در نرها و ماده‌ها به ترتیب در ۳-۲ و ۴-۳ سالگی اتفاق می‌افتد (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷). تولیدمثل این ماهی در رودخانه‌های سواحل جنوبی دریای خزر از اواخر اسفند ماه شروع می‌شود و در اواسط اردیبهشت ماه پایان می‌یابد (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۶۹). ماهی سفید به صورت گروهی و یک بار در سال تخم‌ریزی می‌کند (شریعتی، ۱۳۷۲). کاهش میزان طول و وزن ماهیان سفید

تولیدمثلی می‌تواند بر سن بلوغ تاثیر داشته باشد، به طوری که بلوغ جنسی ماهیان سفید در سال‌های اخیر در سنین کمتری اتفاق می‌افتد (رضوی صیاد، ۱۳۷۴، ۱۳۷۸). از این رو، با توجه به اندازه بزرگ و سن زیاد (۵ سال) ماهیان سفید غیرفعال تولیدمثلی صیده شده، موضوع نابالغ بودن آن‌ها منتفی است. در سال‌های اخیر توقف تولیدمثلی یا همان عدم تولیدمثل سالیانه (Skipped Spawning) در جمعیت ماهی سفید دریای خزر گزارش شده است (Kashefi et al., 2012). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تخم‌ریزی در ماهیان استخوانی ممکن است به طور سالیانه اتفاق نیافتد و این پدیده عمدتا در ماهیان آب شیرین و رودکوچ دیده می‌شود، اما به میزان کم در گونه‌های دریایی نیز مشاهده شده است (Rideout and Tomkiewicz, 2011; Seitz et al., 2016; Glenn et al., 2017). فرآیندهای عدم مشارکت (Non-participation) (Milton and Chenery, 2005)، دفعات اندک تولیدمثل (Low Frequency Production) (Bull and Shine, 1979)، غیرفعال بودن (Inactivity) (Reebs, 1992) و یا غفلت از تولیدمثل (Spawning Omission) (Conrath, 2017) نیز برای بیان توقف تولیدمثلی به کار برده شده‌اند. شواهد به دست آمده نشان می‌دهد که شرایط نامساعد محیطی می‌تواند باعث توقف توسعه گامت ماهیان و متعاقب آن شکست در تولیدمثل شود (Rideout et al., 2005; Brown-Peterson et al., 2011; Rideout and Tomkiewicz, 2011). عواملی همچون کمبود انرژی، درجه حرارت پایین، آلودگی و استرس‌های محیطی از عوامل اصلی بروز پدیده عدم تولیدمثل در ماهیان محسوب می‌شوند (Rideout et al., 2005; Loher and Seitz, 2008).

از ۳۱ ریزترکیب شیمیایی موجود در اتولیت ماهیان (Campana, 1999) استرانسیوم و به میزان کمتری باریوم، دو عنصری هستند که برای تشخیص زیستگاه‌های مختلف آبی با درجه متفاوت شوری استفاده می‌شوند (Elsdon et al., 2008). میزان پراکندگی دو عنصر استرانسیوم و باریوم در آب‌های شور (دریایی) بیشتر و در آب‌های شیرین (رودخانه) کمتر است (Elsdon et al., 2008). ماهیان اغلب از زیستگاه‌های مختلفی در هر مرحله از زندگی خود استفاده می‌کنند و درک این که چگونه این زیستگاه‌ها در طی چرخه زندگی ماهی به هم مرتبط هستند برای حفاظت موفق از ماهیان ضروری است (Wilcove and Wikelski,

2008). ریزترکیبات شیمیایی اتولیت، یک نگاه اجمالی به شرایط محیطی از تخم‌ریزی و مکان‌های نوزادگاهی ماهیان (Nursery Ground) ارائه می‌دهد و شرحی از شرایط زیست محیطی که هر ماهی در سراسر تاریخچه زندگی خود با آن مواجه می‌شود را فراهم می‌آورد. برای مثال Corey در سال ۲۰۱۴ از ریزترکیبات شیمیایی به عنوان ابزاری در تمایز دادن جمعیت اردک‌ماهیان تخم‌ریز رودخانه‌ای استفاده کرد و نتایج وی وجود تفاوت میان استرانسیوم آب و اتولیت‌ها را بین رودخانه‌های Sanduskey و Maumee نشان داد. همچنین Shrimpton و همکاران در سال ۲۰۱۴ الگوهای حرکتی بچه ماهیان آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) و کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) متعلق به دو رودخانه بزرگ در کانادا را مورد آزمایش قرار دادند. تفاوت‌های زیادی در ترکیبات عنصری اتولیت ها در مرحله زندگی در آب شیرین یافت شد که نشان دهنده حرکت به پایین‌دست رودخانه‌ها و شاخه‌های فرعی بود و از لحاظ میزان این عنصرها با هم متفاوت بودند (Shrimpton et al., 2014).

به کمک اطلاعات به دست آمده از شرایط زیست محیطی ماهیان، می‌توان در جهت حفظ گونه‌های ارزشمند مانند ماهی سفید دریای خزر اقدامات مفیدی انجام داد. بنابراین ترکیبات استرانسیوم و باریوم اتولیت ماهیان مهاجر همچون ماهی سفید که به دلیل مهاجرت تولیدمثلی سالیانه، بین محیط‌های دریایی و رودخانه‌ای جابه‌جا می‌شود به نظر می‌رسد که تحت تاثیر محیط قرار گیرد. ماهیان غیرتولیدمثلی سفید قاعدتا نباید برای تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت کنند و به همین دلیل نسبت رسوب باریوم در اتولیت ماهیان غیرتولیدمثلی نسبت به ماهیان تولیدمثلی مهاجر قاعدتا باید متفاوت باشد. در این پژوهش ریزترکیبات شیمیایی اتولیت شامل استرانسیوم، باریوم و کلسیم، برای درک بهتر الگوی مهاجرت ماهیان سفید غیرتولیدمثلی و تولیدمثلی مورد استفاده قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

نمونه‌گیری از ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) بالغ ماده در طول ماه‌های تولیدمثلی بهمن و اسفند انجام گرفت. ۵۵ قطعه ماهی سفید ماده بالغ شامل ۲۵ قطعه ماهی با گناد توسعه یافته (تولیدمثلی) و ۳۰ قطعه ماهی بدون گناد توسعه یافته (غیرتولیدمثلی) توسط

۱۰ بار تورکشی در طی دو ماه از صید تجاری تور پره در آب‌های جنوب غربی دریای خزر (پره غازیان انزلی) جمع‌آوری شد. ماهیان ماده از طریق نداشتن برآمدگی اپی‌تلیال مورد شناسایی قرار گرفتند. ماهیان غیرتولیدمثلی ماده با توجه به عدم برآمدگی در قسمت شکمی در اثر عدم توسعه گناد و دیگر ویژگی‌های ریختی (Kashefi et al., 2012) انتخاب شدند. به علت غیرممکن بودن تشخیص ماهیان غیرتولیدمثلی در خارج از فصل تولید مثل، تمام نمونه‌ها در زمان نزدیک به فصل تولیدمثل صید شدند.

نمونه‌های آب دریا (عمق ۳ متر ساحل انزلی) و پایین دست رودخانه طالب آباد انزلی (37°27′12″N 49°33′34″E) (۳ نمونه در هر محل) توسط بطری شیشه‌ای برای آنالیز ریزترکیبات شیمیایی برداشت و با اسید نیتریک ۲ درصد فیکس شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

پس از انتقال نمونه‌های ماهی به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریا دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان، مشخصات زیستی ماهیان صید شده شامل طول چنگالی (FL) با دقت ۱ میلی‌متر و وزن کل (TW) با دقت ۱ گرم ثبت شد. قبل از شروع آنالیز اتولیت، برای تعیین سن ماهیان تعداد ۱۰ عدد فلس از ناحیه بالای خط جانبی و زیر باله پشتی جدا شد (جمال‌پور و خدادادی، ۱۳۹۱). سپس شکم ماهیان از مخرج به سمت سر شکافته شد، دستگاه گوارش از ناحیه حلق برش داده شد و امعا و احشا به طور کل خارج شد. پس از جداسازی گناد، وضعیت رسیدگی آن (نارس و یا توسعه یافته) به صورت ماکروسکوپی تعیین شد. اتولیت‌های چپ و راست ماهیان هر یک جداگانه از سر ماهی بیرون آورده شدند و بلافاصله بعد از جداسازی برای زدودن هر گونه بافت چسبیده شده احتمالی به آن‌ها، به صورت جداگانه در ظرف‌هایی (شستشو شده با اسید)، حاوی آب دیونیزه به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند (Campana et al., 2000; Brazner et al., 2004) و سپس با پنس‌های پلاستیکی و اسکالپل بافت‌های چسبیده شده جدا شدند. نمونه‌های اتولیت راست در تیوب‌های میکروسانتریفیوژ ۰/۵ میلی‌لیتری (شستشو شده با اسید) قرار داده شدند و برای خشک شدن نمونه‌ها در شرایط هوای فاقد غبار و ذرات خارجی، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در هود جریان‌دار لامینار قرار داده شدند (Fowler et al., 1995). بعد از آن تا زمان آنالیز ریزترکیبات شیمیایی، نمونه‌های اتولیت موجود در میکروتیوب‌های در بسته در

دمای اتاق نگه‌داری شدند. در تمامی مراحل، اتولیت‌ها تنها در معرض مواد پلاستیکی شستشو داده شده با اسید نیتریک بودند و تمامی مراحل در زیر هود با جریان آرام انجام گرفت.

تعیین سن

فلس‌ها ابتدا با آب گرم شستشو شدند و پس از خشک شدن در بین دو لام قرار داده شدند. پس از قرار دادن فلس‌ها در زیر لوپ مجهز به نور از پایین (Blue Light Industry) و مجهز به دوربین (Sony، ژاپن)، سن نمونه‌ها بر اساس حلقه‌های سالیانه (Anuuli) تعیین شد (Panfili et al., 2002). پس از تعیین سن، ۳۰ قطعه ماهی سفید ماده بالغ ۵ ساله با میانگین طول چنگالی (SE) ۲/۳۸±۴۲/۷ سانتی‌متر، شامل ۱۵ عدد ماهی تولیدمثلی و ۱۵ عدد ماهی غیرتولیدمثلی برای آنالیز اتولیت انتخاب شدند.

اندازه‌گیری ریزترکیبات شیمیایی

برای اندازه‌گیری ریزترکیبات شیمیایی استرانسیوم (Sr)، باریوم (Ba) و کلسیم (Ca) در نمونه‌های اتولیت و آب، از دستگاه طیف‌سنج جرمی (7890A، Agilent، آمریکا) با منبع پلاسمای جفت شده القایی (ICP-MS) استفاده شد. نمونه‌های اتولیت ابتدا وزن شدند (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) سپس هر اتولیت در ۲۰ میکرولیتر اسید نیتریک (HNO_3) ۶۰ درصد حل شد. برای هضم بهتر، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسوند (300، Qsonica، آمریکا) قرار داده شدند. بعد از هضم کامل نمونه‌ها، ویال‌های حاوی نمونه‌های هضم شده با آب دیونیزه به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شدند و در نهایت برای آنالیز عناصر Sr، Ba و Ca به دستگاه طیف‌سنج جرمی منتقل شدند (Lo-Yat et al., 2005). روش ICP-MS ترکیبی از پلاسمای آرگون دمای بالا (۸۰۰۰-۶۰۰۰ درجه کلوین) به عنوان منبع یونی بسیار موثر به همراه طیف‌سنجی جرمی روشی است که اتم‌سازی در آن به کمک پلاسمای تولید شده توسط گاز بی‌اثر آرگون (Ar) صورت می‌پذیرد. اعداد به دست آمده بعد از آنالیز بر حسب درصد محلول (%W/Wo) محاسبه شد (Herwig et al., 2011).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس گروه‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و لون (Leven Test) بررسی شد. در مواردی که نرمال بودن داده‌ها تایید نشد از

تبدیل لگاریتمی داده‌ها استفاده شد. داده‌های لگاریتم گرفته شده دارای توزیع نرمال بودند و بنابراین از آزمون‌های آماری پارامتریک استفاده شد. برای بررسی وجود اختلاف غلظت و نسبت ریزترکیبات شیمیایی بین ماهیان سفید تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی از آزمون t مستقل (Independent sample T-test) استفاده شد. از همبستگی پیرسون (Pearson) برای تعیین میزان ارتباط بین ریزترکیبات شیمیایی اتولیت و آب استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) انجام شد.

نتایج

غلظت ریزترکیبات شیمیایی آب

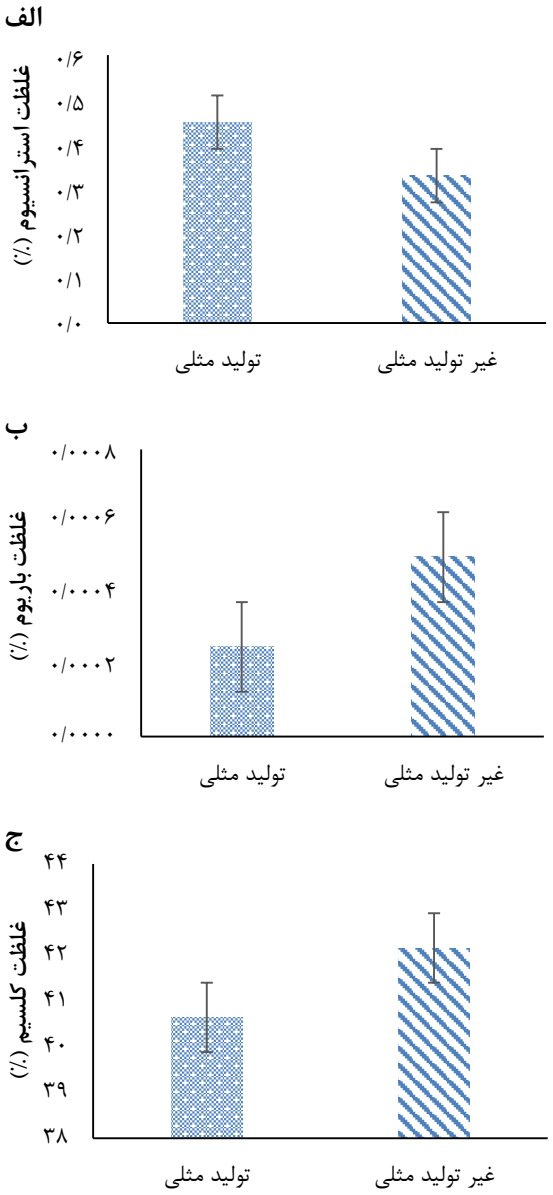
غلظت عنصر استرانسیوم (۱/۴۲ میلی‌گرم در لیتر) در آب لب‌شور دریای خزر بیش از دو برابر غلظت همین عنصر در آب شیرین رودخانه بود (جدول ۱). غلظت عنصر باریوم در آب شیرین رودخانه هر چند به میزان ناچیز اما بیشتر از غلظت این عنصر در آب لب‌شور دریای خزر بود. غلظت عنصر کلسیم نیز در آب لب‌شور دریای خزر بیشتر از رودخانه بود.

غلظت ریزترکیبات شیمیایی در اتولیت

غلظت استرانسیوم در اتولیت ماهیان سفید ماده تولیدمثلی از ۰/۴۲ تا ۰/۴۸ درصد متغیر بود (میانگین ۰/۰۰۹±۰/۴۵ درصد). دامنه این شاخص برای ماهیان غیرتولیدمثلی از ۰/۰۶ تا ۰/۴۶ درصد در نوسان بود (میانگین ۰/۰۷۳±۰/۳۳ درصد). با وجود اختلافات جزئی در میزان استرانسیوم کل دو نوع ماهی، تفاوت معنی داری بین این دو دسته ماهی از نظر میزان استرانسیم کل وجود نداشت ($P>۰/۰۵$؛ شکل ۱- الف).

جدول ۱: غلظت ریزترکیبات شیمیایی سنجش شده در آب رودخانه طالب آباد و دریای خزر (منطقه انزلی) (میانگین ± خطای استاندارد)

محل نمونه‌برداری	غلظت (mg/L)		
	استرانسیوم	باریوم	کلسیم
دریا	۱/۴۲±۰/۰۷	۰/۰۶±۰/۰۱	۸۲/۶±۰/۶
رودخانه	۰/۵۹±۰/۰۸	۰/۰۸±۰/۰۱	۵۷/۸±۰/۴



شکل ۱: غلظت ریزترکیبات شیمیایی مختلف در اتولیت ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) ماده تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی بر اساس درصد وزنی (میانگین ± خطای استاندارد). الف) استرانسیوم؛ ب) باریوم؛ ج) کلسیم.

باریوم کل در اتولیت ماهیان سفید ماده فعال تولید مثلی بین ۰/۰۰۰۲ تا ۰/۰۰۰۳ درصد متغیر بود که اختلاف معنی‌داری با میزان این عنصر در ماهیان غیرتولیدمثلی (۰/۰۰۴۹ تا ۰/۰۰۰۵ درصد) داشت (P<۰/۰۵؛ شکل ۱-ب).

میزان کلسیم کل در اتولیت ماهیان ماده تولیدمثلی تفاوت معنی‌داری با میزان این عنصر در ماهیان غیرتولیدمثلی نداشت (P>۰/۰۵؛ شکل ۱- ج).

نسبت‌های ریزترکیبات شیمیایی در اتولیت

نسبت غلظت (درصد وزنی) استرانسیوم به کلسیم اتولیت ماهیان سفید تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۲). نسبت باریوم به کلسیم در ماهیان سفید تولیدمثلی ($۷۲-۴۷\times۱۰^{-۷}$) بیشتر از ماهیان غیرتولیدمثلی ($۱۲۲-۵۸\times۱۰^{-۷}$) بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۲). نسبت استرانسیوم به باریوم ماهیان سفید تولیدمثلی بیشتر از ماهیان ماده غیرتولیدمثلی بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۲).

مقادیر باریوم در آب همبستگی مثبت قوی معنی‌دار با مقادیر این عنصر در اتولیت داشت (P<۰/۰۵، r=۰/۹۱). بین مقادیر عناصر دیگر در آب و نمونه‌های اتولیت همبستگی قابل ملاحظه‌ای دیده نشد.

بحث

نتایج پژوهش حاضر وجود تفاوت بین میزان عناصر استرانسیوم، باریوم و کلسیم را بین محیط لب‌شور دریای خزر (با شوری ۸ تا ۱۳ppt به عنوان محیط لب شور) و محیط شیرین رودخانه تایید کرد.

جدول ۲: نسبت غلظت عناصر مختلف اتولیت در ماهیان ماده سفید (*Rutilus frisii kutum*) تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی (میانگین ± خطای استاندارد)

وضعیت تولیدمثلی	Sr:Ca	Ba:Ca	Sr:Ba
تولید مثلی	$۱۱\times۱۰^{-۳}\pm۱/۹\times۱۰^{-۴}$	$۵۸\times۱۰^{-۷}\pm۱۱/۲\times۱۰^{-۷}$	۱۹۴۰ ± ۳۶۲/۹
غیر تولید مثلی	$۷\times۱۰^{-۳}\pm۱/۷\times۱۰^{-۴}$	$۱۱۸\times۱۰^{-۷}\pm۳۳/۹\times۱۰^{-۷}$	۶۶۸ ± ۳۳۰/۳

فرض بر این است که میزان پایین نسبت استرانسیوم به کلسیم اتولیت با آب شیرین در ارتباط است و با حرکت ماهی به محیط‌های با شوری دریایی افزایش می‌یابد (Elsdon et al., 2008). در صورتی که رابطه منفی بین نسبت باریوم به کلسیم اتولیت و شوری گزارش شده است (Elsdon and Gillanders, 2005; Dorval et al., 2007). تفاوت تقریبا سه برابری در شوری آب‌های دریاهای آزاد با آب‌لب شور دریای خزر، قطعا تفاوت قابل ملاحظه‌ای را در میزان ریزترکیبات شیمیایی این توده آبی با آب شور اقیانوس‌ها و آب شیرین رودخانه‌ها رقم می‌زند. Dorval و همکاران در سال ۲۰۰۷ رابطه منفی را بین غلظت باریوم و شوری نشان دادند، بدین صورت که میزان این عنصر در توده آبی با شوری ۳۰-۴۰ppt بسیار پایین‌تر از آب شیرین رودخانه‌های منتهی به آن بود. در صورتی که در مطالعه حاضر، غلظت عنصر باریوم در دریای خزر با شوری ۱۳ppt، ۰/۰۶ میلی‌گرم در لیتر بود که در مقایسه با غلظت ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر آب شیرین رودخانه منتهی به آن، اختلاف بسیار اندکی داشت. بنابراین می‌توان اظهار داشت که میزان تفاوت‌ها بین عناصر در محیط دریای خزر و رودخانه منتهی به آن، به اندازه تفاوت عناصر بین محیط‌های اقیانوسی و رودخانه‌هایی که به اقیانوس‌ها می‌ریزند بالا نبود. البته عدم وجود تفاوت قابل ملاحظه در میزان ریزترکیبات شیمیایی همچون باریوم در بین محیط لب‌شور دریای خزر و آب شیرین رودخانه به این معنی هم نیست که میزان این عناصر در آب، تاثیری در میزان ریزترکیبات شیمیایی اتولیت ماهیان نمی‌گذارد، زیرا عناصری همچون استرانسیوم بین دو محیط رودخانه و دریای خزر تفاوت داشتند. به علاوه Coutant در سال ۱۹۸۸ دریافت که عناصر Sr، Ba، Ca و Mg در مقادیر بسیار اندک هم می‌توانند در داخل ساختارهای کلسیمی ماهیان مانند اتولیت، خارها، استخوان‌ها و فلس‌ها رسوب کنند و به ثبت برسند. بین ریزترکیبات شیمیایی اتولیت و شیمی آب رابطه‌ای قابل پیش‌بینی وجود دارد (Campana, 1999). Coutant در سال ۱۹۸۸ نشان داد که تفاوت‌هایی در غلظت عناصری مانند Sr، Ba، Ca و Mg در محیط‌هایی با شوری، دما و سنگ بسترهای متفاوت وجود دارد.

نتایج مطالعات Elsdon و Gillanders در سال ۲۰۰۵ نیز تاییدی بر این مسئله است که ریزترکیبات شیمیایی اتولیت به طور مستقیم تحت تاثیر میزان این ریزترکیبات در آب است. آن‌ها با بالا بردن میزان Sr:Ca آب تا ۴-۲ برابر،

افزایش قابل ملاحظه‌ای را در میزان Sr:Ca اتولیت ماهی مشاهده کردند و تایید کردند که میزان نسبت Sr:Ca اتولیت ماهی مستقیما تحت تاثیر میزان این نسبت در آبی که ماهی در آن زندگی می‌کند، قرار دارد. از آنجایی که میزان ریزترکیبات شیمیایی آب یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده میزان این عناصر در داخل اتولیت ماهیان است، عناصر استرانسیوم، باریوم و کلسیم اتولیت ماهی سفید که به دلیل مهاجرت‌های تولیدمثلی سالیانه، بین محیط‌های دریایی و رودخانه‌ای جابه‌جا می‌شود، قاعدتا باید تحت تاثیر محیط زندگی آن‌ها باشد. از آنجایی که رابطه مثبتی بین Sr اتولیت و شوری آب وجود دارد (Secor and Rooker, 2000) از تفاوت‌های موجود در Sr اتولیت‌ها، عموما برای پی بردن به حرکات ماهی‌ها بین محیط‌های آب شیرین و آب شور استفاده می‌شود (Limburg, 1995,1998; Secor et al., 1995; Tzeng et al., 1997). Arai و همکارانش در سال ۲۰۰۷ از تفاوت بالای Sr بین محیط‌های آب شیرین و شور برای تشخیص آنادرومی در ماهیان آزاد کتا *Oncorhynchus keta* استفاده کردند. در مطالعه حاضر تفاوت جزئی استرانسیوم بین دو دسته ماهی سفید، می‌تواند بیانگر وجود هر دو دسته ماهی در محیط‌هایی با شوری یکسان در اکثر دوره زندگی این ماهیان باشد. با توجه به اینکه ماهیان استفاده شده در این مطالعه ۵ ساله بودند، بنابراین هر دو دسته ماهی دست کم در ۳ سال اول زندگی که هنوز به بلوغ نرسیده بودند، در زیستگاه مشابه‌ای زندگی می‌کردند. پس از بلوغ هم تنها در دوره تخم‌ریزی که ماهیان تولیدمثلی به رودخانه وارد می‌شوند، تفاوت در میزان ریزترکیبات شیمیایی نسبت به ماهیان غیرتولیدمثلی می‌توانست ایجاد شود. از آنجایی که در روش طیف‌سنج جرمی با منبع پلاسمای جفت شده القایی میزان هر یک از عناصر در کل اتولیت به دست می آید، از این رو این امکان وجود دارد که به دلیل یکسانی محیط زندگی دو دسته ماهی در اکثر دوره زندگی، تفاوتی در میزان عناصر اندازه‌گیری شده در کل اتولیت دیده نشود. استفاده از روش پلاسمای جفت شده القایی متصل به طیف‌سنج جرمی بر اساس نمونه‌برداری لیزری می‌تواند اختلافات احتمالی در دوره‌ها یا حلقه‌های مختلف دو دسته ماهی را نشان دهد.

نبود اختلاف در میزان استرانسیوم دو دسته ماهی می‌تواند توضیح دیگری نیز داشته باشد. ماهیان ماده غیرتولیدمثلی که شرایط تخم‌ریزی را ندارد قاعدتا نباید وارد رودخانه شوند. با این وجود مطالعات قبلی نشان داده است که حتی

ماهیانی که توقف تولیدمثلی داشتند در مهاجرت شرکت کرده، ماهیان تولیدمثلی را همراهی می‌کنند (Rideout et al., 2005). همچنین Loher و Seitz در سال ۲۰۰۸ بر اساس داده‌های جمع‌آوری شده نشان دادند که از بین ماهیانی که به مناطق تولیدمثلی مهاجرت می‌کنند، تعدادی از آن‌ها در تولیدمثل شرکت نمی‌کنند. ماهی سفید در اواخر پاییز و آغاز زمستان با سرد شدن آب در لایه سطحی رفته رفته سواحل را ترک می‌کند و به مناطق عمیق‌تر دریا رهسپار می‌شود تا زمستان را در نقاط عمیق نزدیک به بستر دریا با کمترین تحرک و جابه‌جایی سپری کند و در این هنگام از تغذیه کمی برخوردار است (خانی‌پور و ولی‌پور، ۱۳۸۸). این ماهی از اوایل اسفند در صورت مساعد بودن شرایط جوی دوباره برای تغذیه و ذخیره کردن چربی و آمادگی ورود به رودخانه‌ها و تالاب به سمت مناطق ساحلی حرکت می‌کند. به نظر می‌رسد که ماهیان ماده سفید غیرتولیدمثلی برای تغذیه به همراه دیگر ماده‌های فعال تولیدمثلی به نقاط کم‌عمق ساحلی و شاید رودخانه وارد می‌شوند و با توجه به این که به دلیل عدم توسعه گناد دست کم در سالی که صید شده‌اند در تولیدمثل شرکت نمی‌کنند، تمام وقت خود را صرف تغذیه و ذخیره انرژی برای سال بعد می‌کنند. نتیجه این همراهی، عدم تفاوت در میزان استرانسیوم اتولیت این دو دسته ماهی است. علامت‌گذاری ماهیان سفید غیرتولیدمثلی و استفاده از سیستم Telemetry، مهاجرت‌های احتمالی آن‌ها به رودخانه را روشن می‌سازد.

غلظت Ba و Ca کل و همچنین نسبت Ba:Ca در بین دو دسته ماهی متفاوت بود. میزان کلسیم در پلاسما ماهی تحت تاثیر فعالیت‌های تولیدمثلی قرار می‌گیرد و با افزایش استرادیول و ویتلوژنین خون در روند تخمک‌سازی، افزایش می‌یابد (Verslycke et al., 2002). البته جذب Ca در اندام‌های خارجی مانند فلس‌ها، تحت تاثیر میزان عنصر Ca در محیط آبی اطراف آن‌ها نیز است (Persson et al., 1994). بیشتر مطالعاتی که از طریق ریزترکیبات شیمیایی اتولیت ماهی‌ها به بررسی مهاجرت آن‌ها پرداخته‌اند، بر روی نسبت Sr:Ca تکیه داشته‌اند، در صورتی که در مطالعات اخیر دریافته‌اند که نسبت Ba:Ca هم می‌تواند نشانگر حساسی از سکونت در آب شیرین باشد و برای بازسازی تاریخچه حرکتی ماهی مورد استفاده قرار گیرد (Elsdon and Gillanders, 2005; Martin and Thorrold, 2005). یافته‌های اخیر بر پتانسیل

بالای نسبت Ba:Ca در دنبال کردن تاریخچه محیطی ماهی تاکید دارند (McCulloch et al., 2003; Elsdon and Gillanders, 2005). در بیشتر موارد، مطالعات انجام گرفته بر روی توقف تولیدمثلی ماهیان، ارتباط بین ظهور ماهیان غیرتولیدمثلی و جریان انرژی را به تصویر کشیده است (Rideout and Rose, 2006; Skjaeraasen et al., 2009; Folkvord et al., 2014). با فرض ورود ماهیان غیرتولیدمثلی به رودخانه، اتولیت هر دو دسته ماهی تحت تاثیر باریوم بالای آب رودخانه قرار می‌گیرد. اما بالاتر بودن میزان این عنصر (Ba) در ماهیان غیرتولیدمثلی می‌تواند به علت تغذیه باشد. اکثر ماهیان فعال تولیدمثلی در طی مدت مهاجرت تولیدمثلی خود تغذیه خود را متوقف می‌کنند (Chapman et al., 2013) که این موضوع برای ماهیان غیرتولیدمثلی ضرورت ندارد. Doubleday و همکاران در سال ۲۰۱۳ با کار بر روی سه گونه ماهی آب شیرین شامل سوف نقره‌ای *Bidyanus bidyanus*، سوف طلایی *Macquaria ambigua* و کاد موآری *Maccullochella peelii* نشان دادند که حتی اگر آب منبع اصلی عناصر رسوب کرده در اتولیت باشد، تغذیه ۶-۴ درصد بر روی Sr و ۲۶-۱۰ درصد بر روی میزان Ba اتولیت ماهیان تاثیر دارد. با این همه مطالعات بیشتری بر روی زیست‌شناسی تغذیه این دو دسته ماهی سفید لازم است تا اطلاعات به دست آمده از ترکیبات شیمیایی اتولیت در کنار نتایج مطالعات جدید تصویر بهتری از وضعیت و رفتار تولیدمثلی آن‌ها را نشان دهد.

به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که ماهیان سفید ماده غیرتولیدمثلی، ماهیان تولیدمثلی را دست کم تا مناطق ساحلی نزدیک رودخانه (مناطق صید نمونه‌های این پژوهش) و شاید تا داخل رودخانه همراهی می‌کنند اما در تولیدمثل شرکت نمی‌کنند و ممکن است تنها از موقعیت بهتر مناطق مصبی و رودخانه از نظر پراکنش مواد غذایی برای بالا بردن شانس تغذیه بهتر و ذخیره کردن انرژی برای سال آینده، استفاده کنند.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری های‌علمی بین المللی و دانشگاه گیلان انجام شده است.

منابع

آذری تاکامی ق.، رضوی صیاد ب. و حسین‌پور س.ن. ۱۳۶۹. بررسی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در ایران. مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران)، ۴۵(۱): ۶۵-۵۲.

جمال‌پور م. و خدادی م. ۱۳۹۱. بررسی تعیین سن ماهی بیاه (*Liza macrolepis*) از روی ساختار فلس در خور موسی. زیست‌شناسی کاربردی، ۲۵(۱): ۳۲-۲۱.

خانی‌پور ع.ا. و ولی‌پور ع.ر. ۱۳۸۸. ماهی سفید جواهر دریای خزر. سازمان تحقیقات شیلات ایران. ۸۴ص.

رضوی صیاد ب.ع. ۱۳۷۴. ماهی سفید. انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۶۴ص.

رضوی صیاد ب.ع. ۱۳۷۸. مقدمه‌ای بر اکولوژی دریای خزر. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۹۰ص.

شریعتی ا. ۱۳۷۲. ماهیان دریای خزر. شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۷۱ص.

عبدلی ا. و نادری م. ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آبزیان. ۲۴۲ص.

Abdoli A. 1999. The inland water fishes of Iran. Natural and Wild Life Museum of Iran, Tehran, Iran. P: 198–200.

Arai T., Hirata T. and Takagi Y. 2007. Application of laser ablation ICPMS to trace the environmental history of chum salmon *Oncorhynchus keta*. Marine Environmental Research, 63: 55–66.

Berg L.S. 1964. Freshwater Fishes of USSR and Adjacent Countries, Vol. II. Israeli Program for Scientific Translation, Jerusalem. 496P.

Brazner J.C., Campana S.E. and Tanner D.K. 2004. Habitat fingerprints for Lake Superior coastal wetlands derived from elemental analysis of yellow perch otoliths. Transactions of the American Fisheries Society, 133: 692–704.

Brown-Peterson N.J., Wyanski D.M., Saborido-Rey F., Macewicz B.J., and Lowerre-Barbieri S.K. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science, 3: 52–70.

Buckel J.A., Sharack B.L. and Zdanowicz V.S. 2004. Effect of diet on otolith composition in *Pomatomus saltatrix*, an estuarine

piscivore. Journal of Fish Biology, 64: 1469–1484.

Bull J.J. and Shine R. 1979. Iteroparous animals that skip opportunities for reproduction. American Naturalist, 114(2): 296–303.

Campana S.E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: Pathways, mechanisms and applications. Marine Ecology Progress Series, 188: 263–297.

Campana S.E., Chouinard G.A., Hanson J.M., Frechet A. and Brattey J. 2000. Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. Fisheries Research, 46: 343–357.

Chapman B.B., Eriksen A., Baktoft H., Brodersen J., Nilsson P.A., Hulthen K., Bronmark C., Hansson L.A., Gronkjær P. and Skov C. 2013. A foraging cost of migration for a partially migratory cyprinid fish. PLoS One, 8(5): 1–6 (e61223).

Conrath C.L. 2017. Maturity, spawning omission, and reproductive complexity of deepwater rockfish. Transactions of the American Fisheries Society, 146(3): 495–507.

Corey M. 2014. Otolith microchemistry as a tool to discriminate between river-spawning populations of walleye (*Sander vitreus*) in Lake Erie. Ph.D. Thesis, Ohio State University, USA.

Coutant C.C. 1988. Microchemical analysis of fish hard parts for reconstructing habitat use: Practice and promise American Fisheries Society Symposium, 7: 575–580.

Dorval E., Jones C.M., Hannigan R. and Montfrans J.V. 2007. Relating otolith chemistry to surface water chemistry in a coastal plain estuary. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 64: 411–424.

Doubleday Z.A., Izzo C., Woodcock S.H. and Gillanders B.M. 2013. Relative contribution of water and diet to otolith chemistry in freshwater fish. Aquatic Biology, 18: 271–280.

Elsdon T.S. and Gillanders B.M. 2005. Strontium incorporation into calcified structures: Separating the effects of ambient water concentration and exposure time. Marine Ecology Progress Series, 285: 233–243.

Elsdon T.S., Wells B.K., Campana S.E., Gillanders B.M., Jones C.M., Limburg K.E., Secor D.H., Thorrold S.R. and Walther B.D. 2008. Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes: Hypotheses, assumptions, limitations and inferences. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, 46: 297–330.

Folkvord A., Jorgensen C., Korsbrekke K., Nash R.D., Nilsen T. and Skjæraasen J.E. 2014. Trade-offs between growth and reproduction in wild Atlantic cod. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 71: 1106–1112.

Fowler A.J., Campana S.E., Thorrold S.R. and Jones C.M. 1995. Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using laser ablation ICPMS. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 52(7):1431–1441.

Glenn H.D., Cowan Jr. J.H. and Powers J.E. 2017. A comparison of red snapper reproductive potential in the northwestern Gulf of Mexico: Natural versus artificial habitats. Marine and Coastal Fisheries, 9(1): 139–148.

Herwig N., Stephan K., Panne U., Pritzkow W. and Vogl J. 2011. Multi-element screening in milk and feed by SF-ICP-MS. Food Chemistry, 124(3): 1223–1230.

Kashefi P., Bani A. and Ebrahimi E. 2012. Morphometric and meristic variations between suppressed and non-suppressed kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskiy, 1901) in the southwest Caspian Sea. Italian Journal of Zoology, 79: 337–343

Limburg K.E. 1995. Otolith strontium traces environmental history of subyearling American shad *Alosa sapidissima*. Marine Ecology Progress Series 119:25–35.

Limburg K.E. 1998. Anomalous migration of anadromous herrings revealed with natural chemical tracers. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 55: 431–437.

Loher T. and Seitz A.C. 2008. Characterization of active spawning season and depth for eastern Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*), and evidence of probable skipped spawning. Journal of Northwest Atlantic Fishery Science, 41: 23–36.

Lo-Yat A., Meekan M., Munksgaard N., Parry D., Planes S., Wolter M. and Carleton J. 2005. Small-scale spatial variation in the elemental composition of otoliths of *Stegastes nigricans* (Pomacentridae) in French Polynesia. Coral Reefs, 24(4): 646–653.

Martin G.B. and Thorrold S.R. 2005. Temperature and salinity effects on magnesium, manganese, and barium incorporation in otoliths of larval and early juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. Marine Ecology Progress Series, 293: 223–232.

McCulloch M., Fallon S., Wyndham T., Hendy E., Lough J. and

Barnes D. 2003. Coral record of increased sediment flux to the inner Great Barrier Reef since European settlement. Nature, 421(6924): 727–730.

Milton D.A. and Chenery S.R. 2005. Movement patterns of barramundi *Lates calcarifer*, inferred from 87Sr/86Sr and Sr/Ca ratios in otoliths, indicate non-participation in spawning. Marine Ecology Progress Series, 301: 279–291.

Mugiya Y., Watabe N., Yamada J., Dean J.M., Dunkelberger D.G. and Shimizu M. 1981. Diurnal rhythm in otolith formation in the goldfish, *Carassius auratus*. Comparative Biochemistry and Physiology A, 68: 659–662.

Panfili J., Pontual H., De Troadec H. and Wright P.J. 2002. Manual of Fish Sclerochronology. Brest, France. 464P.

Persson P., Sundell K. and Bjornsson B.T. 1994. Estradiol-17β-induced calcium uptake and resorption in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiology and Biochemistry, 13: 379–386.

Reebs S. 1992. Sleep, inactivity and circadian rhythms in fish. P: 127–135. In: Ali M.A. (Ed.). Rhythms in Fishes. Springer, USA.

Rideout R.M. and Rose G.A. 2006. Suppression of reproduction in Atlantic cod *Gadus morhua*. Marine Ecology Progress Series, 320: 267–277.

Rideout R.M. and Tomkiewicz J. 2011. Skipped spawning in fishes: More common than you might think. Marine and Coastal Fisheries, 3: 176–189.

Rideout R.M., Rose G.A. and Burton M.P.M. 2005. Skipped spawning in female iteroparous fishes. Fish and Fisheries, 6: 50–72.

Ruttenberg B.I., Hamilton S.L., Hickford M.J., Paradis G.L., Sheehy M.S., Standish J.D., Ben-Tzvi O. and Warner R.R. 2005. Elevated levels of trace elements in cores of otoliths and their potential for use as natural tags. Marine Ecology Progress Series, 297: 273–281.

Secor D.H. and Rooker J.R. 2000. Is otolith strontium a useful scalar of life cycles in estuarine fishes? Fisheries Research, 46: 359–371.

Secor D.H., Henderson-Arzapalo A. and Piccoli P.M. 1995. Can otolith microchemistry chart patterns of migration and habitat utilization in anadromous fishes? Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 192: 15–33.

Seitz A.C., Evans M.D., Courtney M.B. and Kanwit J.K. 2016. Continental shelf residency by adult Atlantic halibut electronic tagged in the Gulf of Maine.

Journal of Northwest Atlantic Fisheries Society, 48: 33–40.

Shrimpton J.M., Warren K.D., Todd N.L., McRae C.J., Glova G.J., Telmer K.H. and Clarke A.D. 2014. Freshwater movement patterns by juvenile Pacific salmon *Oncorhynchus* spp. before they migrate to the ocean: Oh the places you'll go. Journal of Fish Biology, 85: 987–1004.

Skjaeraasen J.E., Kennedy J., Thorsen A., Fonn M., Strand B.N., Mayer I. and Kjesbu O.S. 2009. Mechanisms regulating oocyte recruitment and skipped spawning in Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 66: 1582–1596.

Tzeng W.N., Severin K.P. and Wickstrom H. 1997. Use of otolith microchemistry to investigate the environmental history of European eel *Anguilla anguilla*. Oceanographic Literature Review, 149: 73–81.

Verslycke T., Vandenbergh G.F., Versonnen B., Arijs K. and Janssen C.R. 2002. Induction of vitellogenesis in 17α-ethinylestradiol-exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): A method comparison. Comparative Biochemistry and Physiology C, 132: 483–492.

Wilcove D.S. and Wikelski M. 2008. Going, going, gone: Is animal migration disappearing? PLoS Biology, 6(7): 1361–1363 (e188).

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 8, No. 2, Summer 2020

Research Paper

Comparison of otolith microchemistry of reproductive and non-reproductive female kutum (*Rutilus frisii kutum*)

Ali Bani[1,2]*, Masoumeh Lotfi Chahardeh[3], Maedeh Ghorbankhah Moridani[4]

Received: April 2020 Accepted: July 2020

Abstract

To study the spawning migration of five-year-old reproductive and non-reproductive female kutum, *Rutilus frisii kutum*, the trace elements of Sr, Ba, Ca and the ratios of Sr:Ca, Ba:Ca and Sr:Ba were examined in their otoliths using ICP-MS. Water and fish samples were collected from the southern part of the Caspian Sea in reproductive season (February and March) of kutum. The concentration of Sr in Caspian Sea was twice than river while there was insignificant difference between two habitats in terms of Ba levels. Statistical comparison between reproductive and non-reproductive female kutum revealed small difference in the concentration of otolith Sr, but showed significant difference in Ba:Ca ratio. Differences in Ba:Ca ratio could be the result of fish migration towards the coastal zones over reproductive season and feeding of non-reproductive individuals in estuarine areas. Results indicated that microchemical analyses of otolith can be used as a valuable tool for differentiate reproductive and non-reproductive individuals. By means of elemental content relative to calcium, two types of fish could be differentiated for better understanding the movement pattern of fish broodstock, which could be completed with data from the other methods like tagging.

Key words: *Migratory Behaviors, Reproduction, Chemical Analysis, Caspian Sea, Kutum.*

1- Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.
2- Professor in Department of Marine Science, Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran.
3- M.Sc. in Marine Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.
4- Ph.D. Student in Marine Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: bani@guilan.ac.ir