

## "مقاله پژوهشی"

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

سیده مریم احمدی<sup>۱</sup>، حبیب وهابزاده رودسری<sup>۱\*</sup>، حسین خارا<sup>۱</sup>، ذبیح اله پزند<sup>۲</sup>، محمد صیاد بورانی<sup>۳</sup>

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

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

۳. پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، بندرانزلی، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۹

## چکیده

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

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

## مقدمه

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

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

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

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

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

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

#### نمونه‌برداری خون و تهیه سرم

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

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

#### مواد و روش‌ها

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

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

جدول ۱: مشخصات تیمارها و ساعات غذایی بچه ماهیان

اوزون‌برون در تیمارهای مختلف

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

### اندازه‌گیری شاخص‌های تنظیم اسمزی

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

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

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

### اندازه‌گیری اسمولاریته خون

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

### تهیه اسلایدهای بافت آبخش

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

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

### اندازه‌گیری و شمارش سلول‌های کلراید آبخش

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

### تجزیه و تحلیل آماری

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

## نتایج

## شاخص‌های تنظیم اسمزی

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

نتایج بیشترین میزان پتاسیم سرم خون در تیمار T-۶ و ۲% و کمترین در تیمار T-۴% دیده شد. در مقابل بالاترین مقدار سدیم سرم خون ماهیان در تیمارهای T-۲T ۱۲% و T-۴T ۱۲% و کمترین در تیمار T-۶T ۶% اندازه‌گیری شد. میزان اسمولاریته سرم خون در تیمارها هم‌زمان با افزایش شوری روند افزایشی داشت، میزان اسمولاریته در تیمار T-۶T ۶% به شکل معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. کمترین میزان اسمولاریته در تیمارهای T-۲T ۱۲% و T-۶T ۶% مشاهده شد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  در تیمارهای با شوری بیشتر دیده شد، به‌نحوی که بیشترین میزان آن در تیمار T-۱۲-۶% و کمترین در تیمارهای T-۱۲-۰T تا T-۲T ۶% مشاهده شد. نتایج آزمون تجزیه واریانس

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

تیمار	پتاسیم ( $\mu\text{mol/l}$ )	سدیم ( $\mu\text{mol/l}$ )	اسمولاریته (osm/lit)	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ( $\mu\text{mol p/g}$ )
T-۲T ۱۲%	$3/03 \pm 0/12^{bcBC}$	$114 \pm 4/50^{cdABC}$	$257/03 \pm 4/93^{cB}$	$33/91 \pm 17/68^{cB}$
T-۴T ۱۲%	$2/73 \pm 0/27^{cBC}$	$106/67 \pm 6/01^{deABC}$	$261/73 \pm 6/08^{bcB}$	$24/15 \pm 10/69^{cB}$
T-۶T ۱۲%	$4/03 \pm 0/52^{abBC}$	$116 \pm 4/04^{bcdABC}$	$257/33 \pm 4/63^{cB}$	$20/53 \pm 6/61^{cB}$
T-۲T ۶%	$5/13 \pm 0/14^{aBC}$	$125 \pm 1/15^{abcABC}$	$261 \pm 4/93^{bcB}$	$50/22 \pm 4/08^{cB}$
T-۴T ۶%	$3/7 \pm 0/26^{bcBC}$	$127/67 \pm 6/67^{abABC}$	$267 \pm 4/72^{abB}$	$42/93 \pm 5/88^{cB}$
T-۶T ۶%	$3/7 \pm 0/65^{bcBC}$	$97 \pm 2^{eABC}$	$283/67 \pm 4/91^{aB}$	$88/85 \pm 16/80^{bcB}$
T-۲T ۱۲-۰T	$4/10 \pm 0/11^{abBC}$	$136/33 \pm 2/33^{aABC}$	$276/33 \pm 2/90^{abB}$	$139/54 \pm 18/27^{abB}$
T-۴T ۱۲-۰T	$3/7 \pm 0/58^{abBC}$	$130/67 \pm 1/76^{aABC}$	$276/66 \pm 5/24^{abB}$	$86/49 \pm 18/46^{bcB}$
T-۶T ۱۲-۰T	$4/73 \pm 0/23^{abBC}$	$111 \pm 3/46^{dABC}$	$275 \pm 6/24^{abB}$	$183/04 \pm 65/29^{aB}$

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

## هیستومتری بافت آبشش

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

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

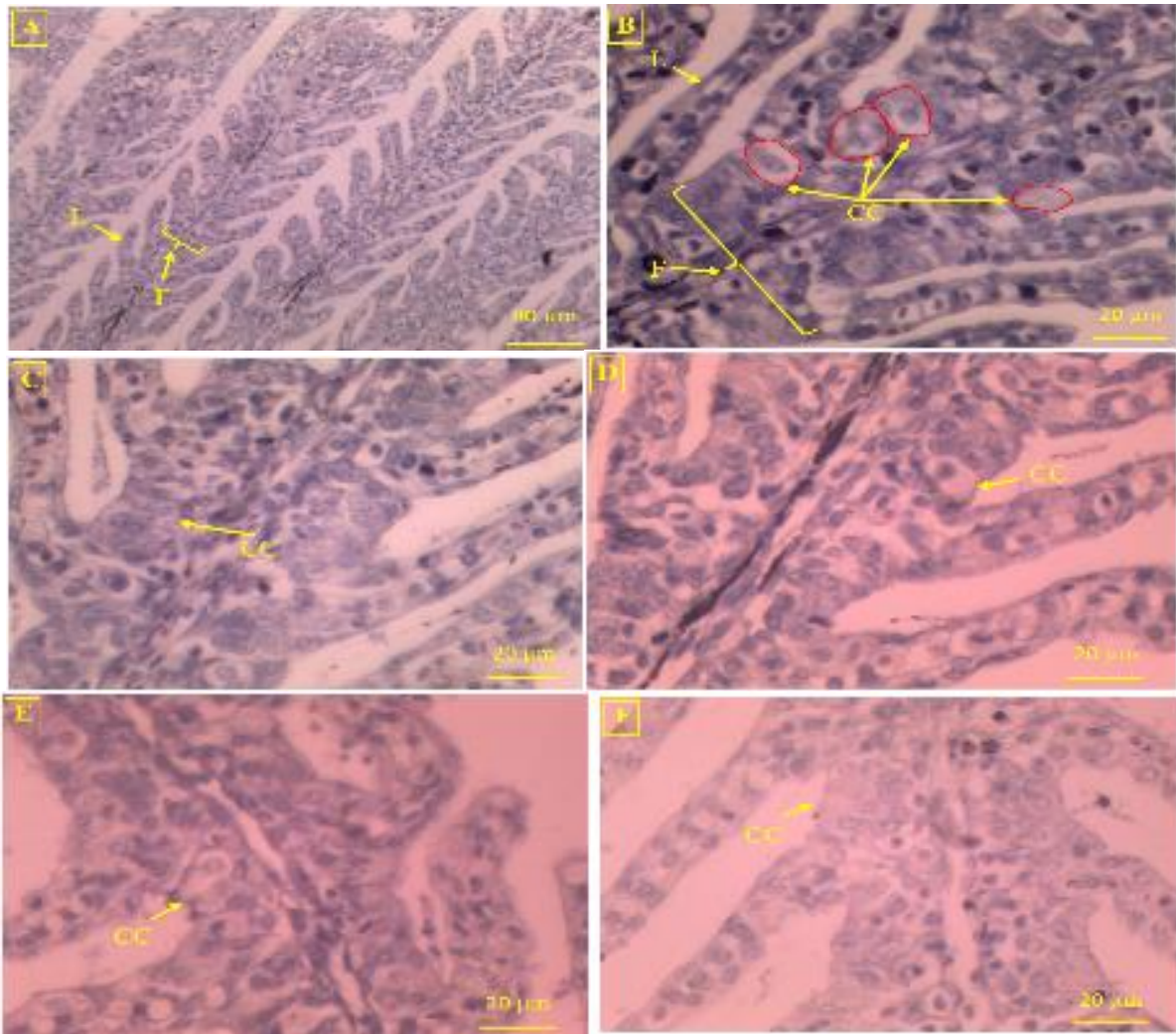
جدول ۷: تأثیر شوری و دفعات غذادهی بر اندازه و تعداد سلول‌های کلراید بچه ماهیان اوزون‌برون

تیمار	تعداد سلول کلراید (عدد)	مساحت سلول‌های کلراید (میکرومتر مربع)
۲T-۰%	$5 \pm 0.1^{abB}$	$165.4 \pm 12.5^{aB}$
۴T-۰%	$5 \pm 0.1^{abB}$	$168.7 \pm 6.8^{abB}$
۶T-۰%	$5 \pm 0.1^{aB}$	$154.7 \pm 1.7^{aB}$
۲T-۰۰۶%	$8 \pm 0.1^{abcB}$	$191.8 \pm 2.1^{bcB}$
۴T-۰۰۶%	$7 \pm 0.1^{abB}$	$190.6 \pm 1.9^{bcB}$
۶T-۰۰۶%	$7 \pm 0.1^{bcB}$	$192.9 \pm 1.4^{cB}$
۲T-۱۲%	$10 \pm 0.2^{dB}$	$233.7 \pm 4.1^{dB}$
۴T-۱۲%	$10 \pm 0.1^{cdB}$	$230.2 \pm 2.4^{dB}$
۶T-۱۲%	$10 \pm 0.1^{dB}$	$245.1 \pm 4.8^{dB}$

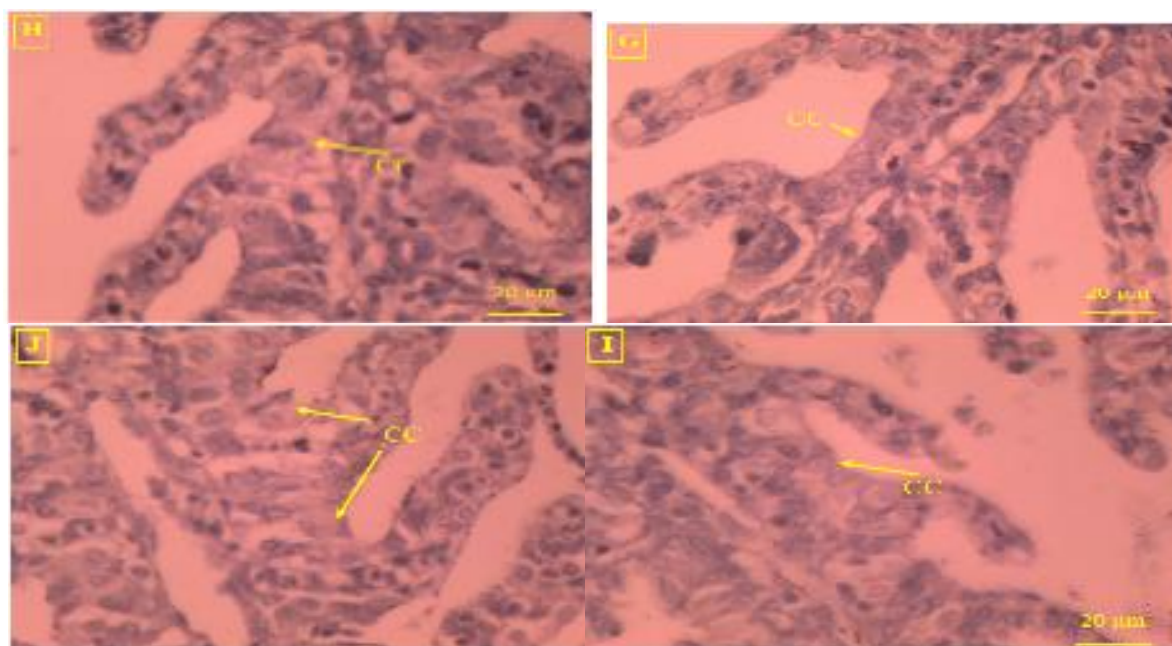
حروف لاتین کوچک غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها است ( $P < 0.05$ )، حرف A نشان‌دهنده اثر تعداد دفعات غذادهی ( $P < 0.05$ )، حرف B نشان‌دهنده اثر میزان شوری ( $p < 0.05$ ) و حرف C نشان‌دهنده اثر متقابل تعداد دفعات غذادهی و میزان شوری ( $p < 0.05$ ).

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

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



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



ادامه شکل ۱:

## بحث

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

متقابل شوری و تغییر دفعات غذایی بر شاخص‌های تعداد و اندازه سلول‌های کلراید مشاهده شد.

### نتیجه‌گیری

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

### سپاسگزاری

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

### منابع

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

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

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