

## فعالیت غده تیروئید بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) نسبت به تغییرات شوری محیط

محمد صیاد بورانی<sup>۱\*</sup>، بهروز ابطحی<sup>۲</sup>، محمود بهمنی<sup>۳</sup>، لودمیلا کرایوشکینا<sup>۴</sup>، ایوب یوسفی<sup>۳</sup> و سهراب دژندیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> انزلی، وزارت جهاد کشاورزی، پژوهشکده آبیاری پروری آبهای داخلی کشور

<sup>۲</sup> تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی دریا

<sup>۳</sup> رشت، انستیتو بین المللی ماهیان خاویاری

<sup>۴</sup> روسیه، دانشگاه دولتی سن پترزبورگ، بخش ماهی شناسی و هیدروبیولوژی

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۶

### چکیده

این تحقیق به منظور شناخت فعالیت غده تیروئید و تأثیر آن بر قابلیت تحمل محیط دریا در بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در سه تیمار با شوری آب دریا (۱۱/۵-۱۱ قسمت در هزار)، منطقه مصبی با شوری ۷ ppt (۷ قسمت در هزار) و آب شیرین و با ۳ تکرار انجام شد. اسمولاریته پلاسما با استفاده از اسمومتر اندازه گیری شد. مطالعات بافتی تیروئید با استفاده از روش بافت شناسی کلاسیک و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین و ریخت سنجی سلولی با استفاده از نرم افزار بيو کام انجام گرفت. شاخصهای تیروئید بچه ماهیان دریای خزر در محیط آب دریا و آب ۷ در هزار نشان داد که پس از انتقال بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی به محیط شورتر در همان ساعتهای اولیه (۶ ساعت پس از انتقال) فعالیت غده تیروئید بیشتر شده و پس از ۱۰ روز مجدداً به حدود سطح اولیه (حالت غیر فعال) برمی گردد. چنین فعالیتی از غده تیروئید در بچه ماهیان ۵ گرمی دیده نشد. ضخامت اپی تلیوم فولیکول تیروئید در بچه ماهیان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی پس از ۶ ساعت قرار گیری در آب دریای خزر به ترتیب  $3.99 \pm 1.2$ ،  $3.3 \pm 1.1$ ،  $4.1 \pm 1.9$  و  $3.7 \pm 1.2$  میکرومتر به دست آمده که این تغییرات به استثناء گروههای ۵ و ۱۰ گرمی، در سایر گروهها نسبت به زمان صفر معنی دار بود. در گروه ۱۰ گرمی به دلیل بالا بودن این شاخص در زمان صفر (حالت گذار از مرحله پار به اسمولت) تفاوت معنی دار در ۶ ساعت دیده نشد. براساس نتایج تغییرات فشار اسمزی، می توان قابلیت تنظیم اسمزی گروههای وزنی ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی را در شوری دریای خزر و عدم این توانایی را در گروه ۵ گرمی تأیید نمود و این موضوع ارتباط فعالیت غده تیروئید با تنظیم الکترولیتها را در بچه ماهیان تأیید می نماید.

واژه های کلیدی: *Salmo trutta caspius*، غده تیروئید، تنظیم اسمزی.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۸۱ - ۳۲۲۳۰۷۰، پست الکترونیکی: mohammadborani@yahoo.com

### مقدمه

برای حفظ و ترمیم ذخایر این گونه هر ساله اقدام به تکثیر مصنوعی و رهاسازی آن می شود تا از این طریق بتوان ضریب بازگشت شیلاتی را افزایش داد. گرچه صید در حد بالایی نیست اما به لحاظ حفظ تعادل اکولوژیک و

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* Kessler, 1877 از جمله ماهیان مهاجر رودرو (آنادرموس) دریای خزر می باشد که از ارزش اقتصادی و مقبولیت ویژه برخوردار است (۴).

تنوع زیستی و جلوگیری از انقراض نسل، باید تعداد بچه ماهیان رهاسازی شده را افزایش داد.

گونه‌های جنس *Salmo* و *Onchorhynchus* با تغییر شکل از Parr به اسمولت برای زندگی دریایی مهیا می‌شوند. تغییر شکل Parr – smolt (Smoltification) در بچه ماهیان آزاد، با تغییرات رفتاری، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک همراه بوده و ماهیان را برای مهاجرت به پایین دست رودخانه و ساکن شدن در محیط‌های دریایی سازگار می‌کند.

بدن ماهیان به وسیله دو دستگاه کنترل اصلی عصبی مرکزی CNS و غدد درون ریز تنظیم می‌شود (۲). غدد درون ریز، بدون لوله و مجرا، ترشحات خود را مستقیماً به جریان خون یا لنف وارد می‌سازند. یکی از این غدد تیروئید است (۱۳).

غده تیروئید تعداد زیادی از فولیکولها، سینوسهای لنفی و بافت‌های پیوندی را شامل می‌شود. فولیکولها به شکل گرد، بیضی و یا نامنظم هستند. هر فولیکول یک حفره مرکزی را شامل می‌شود که این حفره به وسیله یک دیواره شامل لایه منفرد از سلولهای اپی‌تلیالی احاطه می‌شود. ساختار اپی‌تلیوم مطابق با فعالیت ترشحاتی تغییر می‌کند. به طور کلی فولیکولهای با فعالیت کمتر، اپی‌تلیوم نازک دارند (۱).

هورمونهای تیروئیدی در فرایند تنظیم اسمزی دخالت و انرژی مورد نیاز را تأمین می‌نمایند (۶). تیروکسین نقش مهمی در فرایند اسمولت شدن ماهی با تأثیر بر آنابولیسم یافته‌ها و سایر فاکتورهای هورمونی ایفا می‌کند (۱۰ و ۱۱).

بر اساس مطالعه Boeuf (۱۹۹۳)، تیروئید در Smolting دارای وظایفی همچون کنترل رشد، تحریک نقره‌ای شدن بدن، متابولیسم، ظهور اشکال تازه هموگلوبین، تحریک رفتار مهاجرتی، تحریک Imprinting و افزایش حافظه محیطی است (۹).

تعدادی از هورمونها مانند تیروکسین، فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+$  ATPase -  $\text{K}^+$  را تحریک می‌کنند که باعث خوگرفتگی اسمولتها به آب دریا می‌گردد (۱۵). غده تیروئید نقش محوری در مرحله اسمولت شدن دارد. تغییرات رنگدانه‌ها و سایر تغییرات بیوشیمی، عملکردی و ساختاری در هنگام تغییر شکل از مرحله پار به اسمولت مستقیماً به وسیله ترشحات غده تیروئید نتیجه می‌شود. در نتیجه این تغییرات، ظرفیت تنظیم اسمزی ماهیان تغییر می‌کند. با تغییر شکل بچه ماهی از حالت پار به اسمولت، سطح تیروکسین نیز تغییر می‌کند (۲۰).

در فرایند تنظیم اسمزی اغلب غدد درون ریز به طور مستقیم یا غیر مستقیم اثر گذار هستند. عملکرد مستقیم آنها ناشی از اثر بر دستگاههایی چون آبشش و کلیه و عمل غیرمستقیم آنها ناشی از تأثیر بر ترکیبات و غلظت یونهای خون است. غده تیروئید در این میان به واسطه نقش آن در تنظیم و متابولیسم انرژی از غدد مهم در تنظیم اسمزی محسوب می‌گردد. بر اساس مطالعات Lebel و Leloup (۱۹۹۲) غده تیروئید را می‌توان شروع‌کننده مراحل آمادگی در فرایند های مهاجرت دانست. هورمونهای تیروئید منجر به ظاهر شدن رنگ نقره‌ای در پار می‌گردند. به هنگام تغییر شکل از مرحله پار به اسمولت افزایش در ترشح هورمون تیروئید مشاهده می‌شود، که فرایند Smoltification را ارتقاء داده و تغییراتی را در فعالیت شنا و افزایش مهاجرت ماهی ایجاد می‌نماید (۱۴).

در میان گروههای ماهیان، آزاد ماهیان به واسطه اهمیت اقتصادی و خصوصیات رودکوچی بیش از سایر گروهها مورد مطالعات تنظیم اسمزی و بررسی غدد اندوکرینی قرار گرفته‌اند و این موضوع در میان مباحث فیزیولوژی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. با توجه به اینکه تاکنون در مورد ماهی آزاد دریای خزر چنین مطالعاتی همچون بررسی فعالیت یا عدم فعالیت تیروئید و نقش آن در تنظیم اسمزی در مراحل مختلف رشد بچه ماهی انجام نگرفته به

سنجش شوری آب به وسیله دستگاه شوری سنج BECKMAN مدل Rs- 7B Portable و از طریق قابلیت هدایت الکتریکی نمونه ها تعیین شد.

پس از قرار گرفتن بچه ماهیان در پلاتها در فواصل زمانی ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸، ۲۴۰ ساعت، خون گیری از ساقه دمی به وسیله لوله های موین هپارینه انجام شد (۱۸). نمونه های خون پس از جمع آوری، در سانتریفوژ یخچال دار ۵۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند (۱۶). بعد از جداسازی پلاسما، بلافاصله فشار اسمزی بوسیله دستگاه اسمومتر (مدل ۱۳: Type . Nr.9610003، ساخت شرکت Roebing آلمان) بر حسب میلی اسمول در لیتر تعیین شد (۱۲).

پس از این مرحله زیست سنجی انجام گرفت، سپس اقدام به تثبیت نمونه ماهی جهت مطالعه بافت شناسی غده تیروئید گردید.

در زیست سنجی بچه ماهیان، طول با دقت ۱ میلی متر و وزن با دقت ۰/۱ گرم ثبت شد. در مجموع، تعداد ۱۶۱۱ عدد بچه ماهی آزاد مورد زیست سنجی قرار گرفتند.

برای تثبیت نمونه های غده تیروئید، به مدت ۷۲ ساعت در محلول تثبیت کننده بوئن و پس از ۷۲ ساعت در اتانول ۷۰ درصد غوطه ور شدند (۳).

برای تهیه مقاطع بافتی، نمونه ها از مراحل آبیگری، شفاف سازی، پارافینه شدن، قالب گیری، برش، رنگ آمیزی و مونته کردن عبور داده شدند (۵). جهت تشخیص بهتر فولیکولهای تیروئید از روش رنگ آمیزی همتاکسلین - ائوزین استفاده گردید (۶).

پس از مراحل فوق الذکر، اسلاید های بافتی با کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی - فیلم برداری مورد مطالعه قرار گرفتند.

به دلیل نامشخص بودن مکان پراکنش فولیکولهای تیروئید، مقاطع بافتی متعددی (حدود ۱۰۰۰ عدد) از نواحی بین

نظر می رسد از طریق این تحقیق و نتایج حاصل از آن بتوان راهکارهای عملی را به منظور امکان افزایش ضریب باز گشت شیلاتی این ماهی در آینده ارائه داد.

تحقیق حاضر با هدف تعیین روند تغییرات بافتی تیروئید و تعیین فعالیت یا عدم فعالیت غده تیروئید در گروههای مختلف وزنی بچه ماهیان آزاد دریای خزر (گروههای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی) در جریان تغییر شوری محیط و مقایسه آن با گروه شاهد انجام گرفته و نتایج آن می تواند در آمادگی ماهی (گروه وزنی مناسب) جهت مهاجرت و حضور در محیط دریایی نقش به سزایی را ایفاء نماید.

### مواد و روشها

در این تحقیق از جمعیت بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius Kessler, 1877*) حاصل تولید مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید باهنر کلاردشت استفاده شد. عملیات و اجرای تیمارها در ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (واقع در ساحل غازیان بندرانزلی) در سالهای ۸۳-۱۳۸۲ و مطالعات بافت شناسی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری طی سال های ۸۴-۱۳۸۳ صورت گرفت.

پس از تطابق و رقم بندی بچه ماهیان، برای انجام عملیات تیمارداری بچه ماهیان مستقیماً به وانهای ۱۰۰ لیتری و با ۳ سطح شوری آب شیرین، ۷ در هزار و آب دریای خزر (۱۱-۱۱/۵ در هزار) و با ۳ تکرار برای هر تیمار (در مجموع از ۳۶ پلات آزمایشی) انتقال یافتند (۶ و ۷). بچه ماهیان تحت شرایط نور طبیعی قرار داشته و برای حصول زیتوده یکسان، ذخیره سازی بر مبنای ۵ گرم در لیتر صورت گرفت (۸).

میزان تعویض آب روزانه حدود ۲۰ درصد بوده و غذادهی در تمام مدت آزمایش یکبار در روز به وسیله غذای پلت مخصوص آزاد ماهیان (FFt) به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام می گرفت (۸).

تلیوم فولیکول (شاخص اول) و نسبت مساحت لومن (حفره داخلی فولیکول) به مساحت فولیکول (شاخص دوم) اقدام گردید. در تصویر ۱ نمایی از غده تیروئید با روش رنگ آمیزی اتوزین-هماتوکسیلین مشاهده می شود. سلولهای اپی تلیومی فولیکول مکعبی شکل بوده و فولیکولها به صورت دسته ای قرار گرفته اند. در داخل حفرات آن، ماده کلونیدی وجود داشته که متشکل از T4 و T3 است. زمانی که غده تیروئید فعال است ماده کلونیدی کمی و در زمان غیرفعال تیروئید، حفره فولیکولی پر از کلونید می باشد (۱).



لایه اپی تلیومی

تصویر ۱- فولیکولهای غده تیروئید بچه ماهی آزاد دریای خزر با

بزرگنمایی X۲۳/۲ (H & E)

(۱) **بچه ماهیان ۵ گرمی**: غده تیروئید این گروه وزنی، در دو تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزار تغییرات قابل توجهی را از نظر شاخص اول نشان نداده و هیچ گونه تفاوت معنی داری بین میانگین مقدار این شاخص در زمانهای ۰، ۶ و ۲۴۰ ساعت مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). بنابراین فعالیت چندانی از تیروئید در این گروه وزنی رؤیت نشد (جدول ۱).

(۲) **بچه ماهیان ۱۰ گرمی**: پس از انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزار در مقطع زمانی ۶ ساعت افزایشی در ضخامت اپی تلیوم فولیکول

قلب تا آبشش تهیه گردید و پس از پیدا کردن محل فولیکول، به اندازه گیری شاخصهای مورد نیاز اقدام شد. به منظور مطالعات بافتی غده تیروئید تعدادی فولیکول به طور تصادفی بیومتری شد. فاکتورهای مورد سنجش شامل سطح مقطع فولیکول، سطح کلی فولیکول و ضخامت اپیتلیوم فولیکول بود. اندازه گیری شاخصهای مربوطه در مورد فولیکول غده تیروئید در فواصل زمانی ۰، ۶، ۲۴۰ ساعت (مدت زمان قرارگیری در آب دریا یا آب ۷ در هزار) انجام گرفت (۶).

داده های زیست سنجی با روشهای عمومی آمار توصیفی مورد پردازش و میانگین گیری قرار گرفت. داده های حاصل با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت و در جداسازی گروههای همگن بر حسب کلاسه های وزنی و شوری و مدت زمان قرارگیری از آزمون توکی استفاده شد. عملیات یاد شده در فضای نرم افزار SPSS و ترسیم نمودارها به وسیله نرم افزار Excel انجام شد.

## نتایج

**زیست سنجی بچه ماهیان:** میانگین وزن بچه ماهیان در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی به ترتیب  $4.8 \pm 0.8$ ،  $9.4 \pm 1.1$ ،  $14.5 \pm 0.9$  و  $19.3 \pm 1.1$  گرم بوده که تفاوت معنی داری میان گروههای وزنی مشاهده می شود. بنابراین سورت بندی بچه ماهیان با دقت انجام گرفته است. میانگین طول بچه ماهیان زیست سنجی شده در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی به ترتیب  $8.1 \pm 0.2$ ،  $9.6 \pm 0.3$ ،  $11.2 \pm 0.3$  و  $12.3 \pm 0.37$  سانتیمتر محاسبه گردید.

**الف) شناسایی محل و سنجش شاخصهای غده تیروئید:** محل غده تیروئید ماهی آزاد دریای خزر در اطراف انشعابات آئورتی وارده به آبشش شناسایی شد. برای تعیین میزان فعالیت غده تیروئید به اندازه گیری ضخامت اپی

ساعت مشاهده نگردید ولی گروه ۶ ساعته با دو گروه دیگر اختلاف داشت ( $p < 0/05$ ).

**۴) بچه ماهیان ۲۰ گرمی:** پس از انتقال بچه ماهیان به محیط ۷ در هزار و آب دریای خزر، تغییراتی در ضخامت اپی تلیوم فولیکول و نسبت سطح لومن به سطح فولیکول به وجود آمد، به طوری که ضخامت اپی تلیوم در زمان ۶ ساعته افزایشی معادل ۲ تا ۲/۷ برابر (نسبت به زمان صفر) نشان داده (جدول ۱) و از شاخص دوم به دلیل کاهش حفره داخلی فولیکول کاسته شد (نمودار ۱ و ۲). این تغییرات فعالیت تیروئید را به اثبات می رساند و نشان دهنده آن است که تیروئید در حال تخلیه مواد کلوئیدی اش به درون خون می باشد. مشاهدات نیز بر نیمه پر یا یک سوم پر بودن حفره داخلی فولیکول از مواد کلوئیدی دلالت دارد. پس از این تغییرات، طی ۲۴۰ ساعت ماندگاری، از ضخامت اپی تلیوم کاسته شد (نسبت به زمان ۶ ساعته) و با این کاهش، حفره داخلی بزرگ تر شده و شاخص دوم افزایش نشان داد و تیروئید تقریباً غیر فعال گردید.

مشاهده شد (این افزایش در محیط آب دریا بیشتر بوده) و در زمان ۲۴۰ ساعت به سطح اولیه نزدیک شده ولی تفاوتها معنی دار نبوده است ( $p > 0/05$ ). لازم به ذکر است در زمان صفر، ضخامت اپی تلیوم فولیکول این گروه وزنی بیش از سایر گروههای وزنی است (جدول ۱).

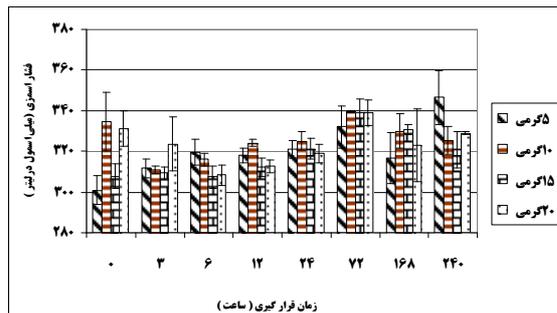
**۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی:** نتایج نشان داد که ضخامت اپی تلیوم فولیکول بچه ماهیان ۱۵ گرمی پس از ۶ ساعت قرارگیری در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر تغییراتی را در جهت افزایش نشان داده (۳/۷ تا ۴/۵ برابر) (جدول ۱)، ولی شاخص دوم (نسبت مساحت لومن به مساحت فولیکول) کاهش داشته و این کاهش به دلیل ضخیم تر شدن اپی تلیوم و کاهش حفره داخلی به وقوع پیوست (نمودار ۱ و ۲). پس از ۱۰ روز از زمان انتقال، ضخامت اپی تلیوم حدود ۱/۴ برابر کاهش یافته اما سطح این پارامتر در مقایسه با زمان صفر بالاتر بود. تفاوت معنی داری بین میانگین مقدار شاخص تیروئید در دو زمان ۰ و ۲۴۰

جدول ۱- جدول مقایسه میانگین ضخامت اپی تلیوم فولیکول تیروئید بچه ماهیان آزاد خزری به روش Tukey در گروه شاهد و پس از قرارگیری در تیمار های آب دریای خزر و آب ۷ در هزار

گروههای وزنی بچه ماهیان در زمان های مختلف قرار گیری در آب دریای خزر	ضخامت اپی تلیوم فولیکول در تیمار آب دریای خزر (میکرومتر)	ضخامت اپی تلیوم فولیکول (به میکرومتر) در تیمار آب ۷ قسمت در هزار یا ppt
۵ گرمی - زمان صفر	۵/۸±۰/۱ <sup>bc</sup>	۵/۸±۰/۱ <sup>bc</sup>
۵ گرمی - زمان ۶ ساعت	۳/۹۹±۱/۲ <sup>c</sup>	۵/۲±۲/۶ <sup>bc</sup>
۵ گرمی - زمان ۲۴۰ ساعت	۶/۱±۳/۲ <sup>bc</sup>	۵/۴±۰/۵ <sup>bc</sup>
۱۰ گرمی - زمان صفر	۷/۷±۳ <sup>bc</sup>	۷/۷±۳ <sup>bc</sup>
۱۰ گرمی - زمان ۶ ساعت	۱۱/۳±۳ <sup>b</sup>	۹/۷±۲/۷ <sup>bc</sup>
۱۰ گرمی - زمان ۲۴۰ ساعت	۶/۴±۰/۴ <sup>bc</sup>	۵/۷±۱ <sup>bc</sup>
۱۵ گرمی - زمان صفر	۳/۶±۱/۱ <sup>c</sup>	۳/۶±۱/۱ <sup>bc</sup>
۱۵ گرمی - زمان ۶ ساعت	۱۹/۷±۴/۱ <sup>a</sup>	۱۷/۷±۵/۹ <sup>a</sup>
۱۵ گرمی - زمان ۲۴۰ ساعت	۷/۵±۰/۳ <sup>c</sup>	۷/۵±۰/۳ <sup>bc</sup>
۲۰ گرمی - زمان صفر	۳/۴±۱/۱ <sup>c</sup>	۳/۴±۱/۱ <sup>b</sup>
۲۰ گرمی - زمان ۶ ساعت	۱۲/۶±۳/۷ <sup>b</sup>	۱۰/۴±۱/۹ <sup>c</sup>
۲۰ گرمی - زمان ۲۴۰ ساعت	۶/۶±۱/۳ <sup>bc</sup>	۴/۵±۰/۷۵ <sup>bc</sup>

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی -  $p > 0/05$ )

۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در زمان صفر به ترتیب  $14/6 \pm$ ،  $334/7 \pm 6$ ،  $307/7 \pm 6$ ،  $331/3 \pm 8/7$  میلی اسمول در لیتر بوده و این مقادیر در زمان ۲۴۰ ساعت به ترتیب به  $325/3 \pm 6/7$ ،  $321 \pm 9$ ،  $329 \pm 0/53$  میلی اسمول در لیتر رسیده که در مقایسه با زمان صفر تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود.



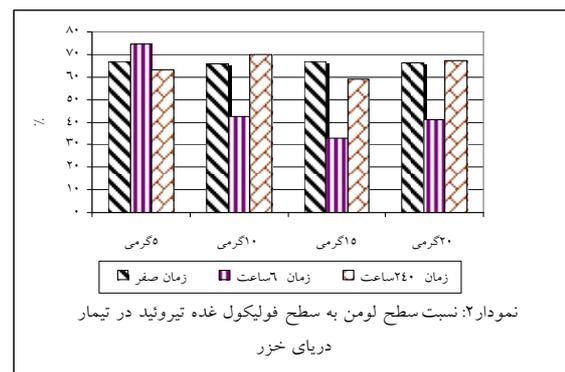
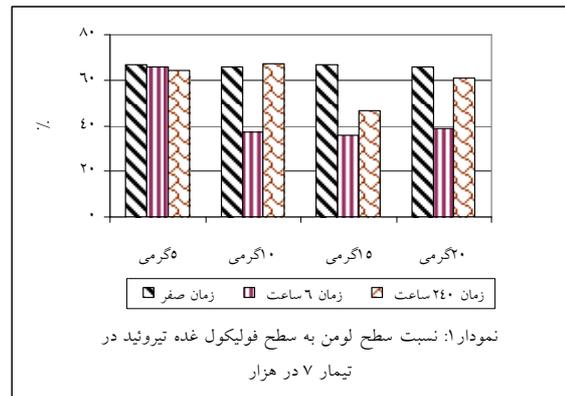
نمودار ۳- نوسانات فشار اسمزی بچه ماهیان آزاد دریای خزر در تیمار آب دریای خزر (۱۱/۵ - ۱۱ در هزار)

### بحث

یکی از راههای افزایش ضریب بقای بچه ماهیان به خصوص در مورد گونه های آزاد ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیک می باشد. در این تحقیق پاسخ غده تیروئید بچه ماهیان آزاد خزر به افزایش شوری محیط در چهار گروه وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی، که هر گروه به واسطه همبستگی مستقیم وزن و طول معرف اندازه مشخصی نیز می باشد، مطالعه شد.

شاخصهایی که از بافت تیروئید به دست می آید نشان دهنده سطح فعالیت غده است، آن چنانکه بارانیکووا (۱۳۷۹) بیان داشته؛ در زمان فعالیت شدید غده تیروئید اندازه فولیکولهای آن کوچک ولی ضخامت اپی تلیوم زیاد است، در حالت غیر فعال عکس حالت فوق پدید می آید، بنابراین ضخامت اپی تلیوم و اندازه فولیکول دو ویژگی مهم برای فعال یا غیر فعال بودن یاخته های غده تیروئید می باشند (۱). کرایوشکینا (۱۳۷۸) دو شاخص مهم جهت تعیین میزان فعالیت غده تیروئید را ضخامت اپی تلیوم و

مقایسه میانگینهای شاخص تیروئید (شاخص اول) در دو تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزار نشان داد که تفاوت معنی داری بین زمان ۶ ساعت با زمان صفر دیده می شود ( $p < 0/05$ ). در سایر زمانها تفاوت وجود نداشت (جدول ۱).



ب) تغییرات فشار اسمزی پلاسما : سطح فشار اسمزی پس از ۲۴۰ ساعت قرار گیری بچه ماهیان ۵ گرمی در آب دریای خزر معادل  $346/5 \pm 13/4$  میلی اسمول در لیتر ( حداکثر ۳۶۰ میلی اسمول در لیتر) بوده که در مقایسه با زمان صفر ( $301 \pm 7/1$  میلی اسمول در لیتر) افزایشی حدود ۱۵/۱ درصد را نشان داده که این افزایش معنی دار بوده است (آزمون توکی- $p < 0/05$ ). در سایر زمانها نیز مقدار فشار اسمزی بالاتر از زمان صفر می باشد. بنابراین بچه ماهیان ۵ گرمی موجود در آب دریا قادر نبوده اند سطح فشار اسمزی خود را به سطح اولیه فشار اسمزی پلاسمای خون برسانند. سطح فشار اسمزی در گروههای

صورتی که بچه ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی این مرحله را پشت سر گذاشته و در مرحله اسمولت هستند.

بر اساس بررسیهای McCormick و Saunders (۱۹۸۷)، سطوح اسمولاریته پلازما در ماهیان استخوانی به طور نرمال بین ۲۹۰ تا ۳۴۰ میلی اسمول در لیتر قرار دارد (۱۷). در یافته‌های تحقیق حاضر، دامنه اسمولاریته چهار گروه وزنی بچه ماهیان در آب ۷ در هزار در حد نرمال و در تیمار آب دریای خزر، این دامنه در مورد بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در محدوده ۳۰۱ تا ۳۴۴ میلی اسمول در لیتر (حد نرمال) بود، در صورتی که در بچه ماهیان ۵ گرمی به حداکثر ۳۶۰ میلی اسمول در لیتر رسیده و از حد نرمال فراتر رفته است. بنابراین نتایج تغییرات فشار اسمزی، قابلیت تنظیم اسمزی گروههای وزنی ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی در شوری دریای خزر و عدم این توانایی در گروه ۵ گرمی را تأیید می‌نماید (نمودار ۳).

از مجموع مطالب فوق می‌توان نتیجه گرفت که همگام با فعالیت تیروئید در بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی و تأثیر مستقیم و غیر مستقیم این غده بر سایر اندامهای دخیل در تنظیم اسمزی و پدیده اسمولت شدن، روند تنظیمی مناسب تری از فشار اسمزی محیط داخلی بدن ماهی با فشار اسمزی محیط دیده می‌شود، در صورتی که این روند در مورد بچه ماهیان ۵ گرمی مشاهده نشده است و مرحله پار در این گروه تأیید می‌شود. البته اکتفا به این موضوع شرط لازم ولی کافی نیست و نیاز است جهت تکمیل مطالعات سایر شاخصهای فیزیولوژیک را نیز به کار گرفت.

بر اساس مطالعه کرایوشکینا (۱۳۷۸)، تیروئید در تنظیم آب و الکترولیتها نقش با واسطه دارد. هنگامی که ماهیان آب شیرین وارد آب شور یا بالعکس می‌شوند فعالیت غده تیروئید افزایش می‌یابد. فعالیت این غده زندگی ماهی در آب شور را تسهیل می‌نماید که تزریق تجربی هورمونهای تیروئیدی نشان دهنده آن است (۶).

نسبت مساحت لومن به مساحت فولیکول در مقطع بافتی دانسته است (۶).

در این تحقیق-شاخصهای تیروئید بچه آزاد ماهیان دریای خزر در محیط آب دریا و آب ۷ در هزار نشان داد که پس از انتقال بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی به محیط شورتر در همان ساعت‌های اولیه (۶ ساعت پس از انتقال) فعالیت غده تیروئید بیشتر شده و مواد کلونیدی خود را به خون ریخته اند و در نتیجه برضخامت اپی تلیوم افزوده شده و از نسبت شاخص دوم به دلیل کاهش حفره داخلی فولیکول کاسته شده است. این عمل طی ساعت‌های اولیه قرارگیری رخ می‌دهد و پس از ۲۴۰ ساعت دوباره به حالت اول (غیر فعال) بر می‌گردد. فولیکولها در زمان ۶ ساعت، اکثراً دارای مواد کلونیدی نیمه پر یا یک سوم پر بودند. چنین فعالیتی از غده تیروئید در بچه ماهیان ۵ گرمی دیده نشد، به طوری که در تمامی زمانهای بررسی شده غیر فعال بودن تیروئید مشاهده گردید. واکنش غده تیروئید به افزایش شوری در گروههای وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی با توجه به شاخص ضخامت اپیتلیوم کاملاً واضح (توکی،  $p < 0.05$ ) و بیانگر آماده بودن تیروئید در محدوده های وزنی یاد شده برای معارضا به شوری است (جدول ۱).

افزایش فعالیت تیروئید در آب شیرین، مکانیسم پیش سازگاری جهت رویارویی با محیط دریا به شمار می‌رود و در این مرحله بچه ماهیان از مرحله پار به اسمولت تبدیل می‌گردند (۱۹). طبق یافته های Matty (۱۹۸۵) تعدادی از هورمونها مانند تیروکسین، فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase را تحریک می‌کنند که باعث خوگرفتگی اسمولتها به آب دریا می‌گردد (۱۵).

بنابراین فعالیت تیروئید در گروه ۱۰ گرمی در زمان صفر (قبل از مقابله با آب خزر) نشان دهنده شروع تغییرات فیزیولوژیک، رفتاری و مورفولوژیک می‌باشد و این وضعیت را می‌توان به تغییرات متابولیک و گذار به شرایط آمادگی برای مهاجرت نسبت داد (پار- اسمولت). در

دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، پرسنل زحمتکش ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (ساحل غازیان انزلی) و پرسنل اطلاعات علمی پژوهشکده به خاطر همکاری صمیمانه ایشان تشکر و قدردانی می نمایند.

**تشکر و قدردانی:** نگارندگان از ریاست محترم مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، معاونین محترم، ریاست و کارکنان پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی کشور، ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت و پرسنل بخش فیزیولوژی، ریاست و کارکنان

## منابع

- ۱- بارانیکوا، ا. ۱۳۷۹. فیزیولوژی و بیوشیمی تاس ماهیان. مترجمین: رکاظمی. م. بهمنی. م. پورکاظمی. ب. تیزکار. موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۵۵ تا ۷۱.
- ۲- بهمنی، م. ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از طریق اثر بر محورهای HPG، HPI، سیستم ایمنی و فرایند تولید مثل در تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus*. رساله دکتری تخصصی. واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی. ۲۷۷ص.
- ۳- پوستی، ا. ع. صدیق مرودستی. ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب شناسی) انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۳۲۸.
- ۴- کازانچف، ا. ان. ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوزه آبریز آن. مترجم: ابوالقاسم شریعتی. وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی.
- 8- Avella, M., Young, G., Prunet, P. and Schreck C.B. 1990. Plasma prolactin and cortisol concentrations during salinity challenges of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at smolt and post-smolt stages. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. Aquaculture, 359 – 372.
- 9- Boeuf, G., 1993. Salmonid smolting: a pre-adaptation to the oceanic environment. Fish Ecology. Edited by Rankin, J.C. & F.B. Jensen, Chapman & Hall, London, 221 p.
- 10- Finstad, B. and Ugedal, O. 1998. Smolting of sea trout (*Salmo trutta L.*) in northern Norway. Aquaculture, 168, 341-349.
- 11- Hoar, W.S., 1988. The physiology of smolting salmonids. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Fish Physiology, Vol. 11B. Academic Press, New York, pp 275-343.
- 12- Krayushkina, L.S., Stepanov, Y. I., Semenova, O. G. and Panov, A. A. 1995. Osmoregulatory system of Juvenile *Oncorhynchus gorbuscha* in river and marine life. Journal of Ichthyology, 35(7) pp. 143-152.
- 13- Kumar, S., and Tembhe, M. 1998. Anatomy and Physiology of Fishes. Vikas publishing House PVT LTD. pp 138-143.
- 14- Lebel, J.M., and Leloup, J. 1992. La triiodothyronine est necessaire dans l' adaptation a leau de mer de la truite fario (*Salmo trutta*) ou arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*). C.R. Acad. Sci. Paris 314, 461-469.
- 15- Matty, A.J. 1985. Fish endocrinology. CROOM HELM, London and Sydney, Timber Press. 267P.
- 16- McCormik, S.D. and Naiman, R.J. 1984. Osmoregulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. 2. Effects of Size, Age and Photoperiod on Seawater Survival and Ionic Regulation. Comp Biochem.- Physiol. , -A. Vol 79A, no. 1. pp. 17-28.
- 17- McCormik, S.D., Saunders, R.L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of Salmonids: Osmoregulation, growth, and metabolism. Am. Fish. Soc. Symp. 1, 211- 229.
- 18- Seidelin M.S. Madsen. H., Blenstrup. C., Tipsmark. 2000. Time-course changes in the expression of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in Gills and Pyloric Caeca of Brown Trout (*Salmo trutta*) during Ac-

- climation to Seawater. Physiological and Biochemical Zoology, university of Chicago. pp: 446-453.
- 19- Staurnes M., Sigholt T., Lysfjord G. and Gulseth O.A. 1993. Difference in the sea water tolerance of anadromous and landlocked populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 49, 443-447.
- 20- Woo, N.Y.S., Bern, H.A. and Nishioka, R.S. 1978. Changes in body composition associated with smoltification and premature transfer to sea water in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and King salmon (*O. tshawytscha*). J. Fish Biol. 13, 421-428.

## Study of Thyroid Gland Activity in Caspian trout (*Salmo trutta caspius*) Juveniles in relation to various salinities

Bourani M.S.<sup>1</sup>, Abtahi B.<sup>2</sup>, Bahmani M.<sup>3</sup>, Krayushkina L.<sup>4</sup>, Yousefi A.<sup>3</sup>, and Degandian S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> National Inland waters Aquaculture Institute, Anzali, Iran.

<sup>2</sup> Marine Biology Dept., Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of IRAN

<sup>3</sup> International Research Institute of Sturgeon Fishes, Rasht, I.R. of IRAN

<sup>4</sup> Ichthyology and Hydrobiology Dept., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

### Abstract

This study was carried out to determine thyroid gland activity during salinity changes in Caspian trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) juveniles. Specimens were exposed in 4 weight groups of 5, 10, 15 and 20 g, in 3 salinity trials: Caspian water (11- 11.5 ppt), inshore water (7 ppt) and fresh water (control). Each trial was done in 3 replicates. Plasma osmolarity was measured by osmometer. The tissue fixations carried out from juveniles of control group (in fresh water) and different hours after exposure of fish in salinities. Histological indicators including thyroid gland morphometric parameters were assessed using classic preparation and optic microscope with digital camera. Histology of thyroid gland of juveniles acclimated to 7 ppt salinity and Caspian water showed that after the transfer of 10, 15 and 20 g weight groups to saline water, the gland became more active at early hours and gradually returned to initial condition after 10 days. The same activity was not observed for 5 g juveniles. Based on the results of osmoregulation variation, it can be confirmed that weight groups 10, 15 and 20 gr can do hypoosmoregulation of the salinity of the Caspian Sea, but the weight group of 5 gr do not have such a ability.

**Keywords:** *Salmo trutta caspius*, osmoregulation, thyroid gland.