Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ۶۷، شماره ۲، ۱۷۴-۱۶۵

سازگاری‌های فراساختاری آبشش ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) تحت شرایط اسمزی مختلف

عبدالعلی موحدی نیا[1*] احمد سواری[1] امیرپرویز سلاطی[2]

۱) گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر - ایران.

۲) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر - ایران.

(دریافت مقاله: ۹ آبان ماه ۱۳۹۰ ، پذیرش نهایی: ۲۷ اسفند ماه ۱۳۹۰)

چکیده

زمینه مطالعه: سلول‌های غنی از میتوکندری (MRC) از سلول‌های تخصص یافته اپیتلیومی می باشند که نقش فعال و موثری در تنظیم یونی ایفا می‌کنند. این سلول‌ها در اپیتلیوم آبشش ماهیان به اشکال و انواع مختلف وجود دارند. **هدف:** در این مطالعه شوری‌های مختلف مصنوعی برای تعیین الگوی تغییرات دهانه‌های راسی سلول‌های غنی از میتوکندری در کوتاه مدت و بلندمدت استفاده شد. **روش کار:** ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) برای مدت ۲۱ روز علاوه بر شوری طبیعی محیط در خور موسی (۴۲ ppt) در شوری‌های موردنظر (آب شیرین ۵،۲۰،۶۰ ppt) با سه تکرار برای هرکدام نگهداری شدند. ۱، ۷ و ۲۱ روز پس از شروع دوره آزمایشی، نمونه‌های آبشش ماهی جهت مطالعه تحت میکروسکوپ الکترونی، در گلوتارآلدهید ۲٪ + پارافرمالدهید ۲٪ در بافر فسفات (pH=۷/۴) در دمای ۴°C تثبیت شد. **نتایج:** براساس مشاهدات تحت میکروسکوپ الکترونی نگاره در اپی تلیوم آبششی، سه نوع MRC در شوری‌های محیطی مختلف تشخیص داده شد: سلول‌های دارای دهانه‌ی عمیق (deep hole)، کم عمق (shallow basin) و برآمده (wavy convex). بیشتر MRC‌ها در آب دریا و تمامی آن‌ها در ۶۰ppt از نوع کم عمق بود. پس از کاهش شوری به ۲۰ppt غشای رأسی MRC‌ها به سرعت شروع به بالا آمدن کرد و در روز ۷ بسیاری از سلول‌ها از نوع کم عمق و برآمده بودند. ولی در روز ۲۱، MRC‌ها به حالت قبل از تغییر شوری بازگشتند. در اثر انتقال به محیط‌های هایپواسموتیک (۵ ppt و آب شیرین) تغییرات سریع در غشای راسی مشاهده شد و پس از ۲۱ روز همه‌ی انواع MRC در فیلامنت وجود داشت. **نتیجه‌گیری نهایی:** MRC‌های کم عمق به عنوان فرم تیپیک آب شور، نیاز فیزیولوژیکی شانک در تنظیم اسمزی در آب دریا و محیط‌های غلیظ تر را فراهم می‌کند، ولی در محیط‌های هایپواسموتیک، عملکرد تمامی انواع MRC برای تنظیم اسمزی لازم است.

واژه‌های کلیدی: تنظیم اسمزی، سلول غنی از میتوکندری، فراساختار، شانک زردباله، *Acanthopagrus latus*.

مقدمه

ماهیان دریایی متعددی قادر به تنظیم اسمزی و حفظ هومئوستاز در محدوده وسیعی از شوری‌های محیطی می‌باشند (۱،۲). تنظیم یونی و اسمزی در ماهیان استخوانی حاصل عملکرد تلفیقی اندام‌های دخیل در این زمینه از قبیل آبشش، کلیه و روده است (۳) و ماهیان درگیر با تغییر اسمولالیتی محیطی، باید اسمولالیتی و تعادل یونی بدنشان را بوسیله تغییر رفتار مانند نرخ نوشیدن آب، سطوح هورمون‌های مختلف و عملکرد سطوح تنظیم اسمزی حفظ کنند (۱،۴). در تلئوست‌های بالغ، آبشش‌ها مهم ترین اندام مسئول تنظیم یون می‌باشند و اثبات شده که سلول‌های غنی از میتوکندری (Mitochondria-Rich Cell یا MRC) موجود بر روی اپی تلیوم آبششی به وسیله ترشح یا جذب فعال نمک‌ها نقش‌های مهمی در تنظیم آب و مواد معدنی و آداپتاسیون با شرایط شوری متفاوت در تلئوست‌ها ایفا می‌کنند (۳،۵،۶،۷،۸،۹،۱۰،۱۱).

MRC تلئوست‌ها، سلول‌هایی کروی یا بیضوی با خصوصیات بسیار متفاوتی نسبت به سلول‌های عادی اپی تلیال هستند. این سلول‌ها دارای میتوکندری‌های فراوان و یک سیستم لوله‌ای جانبی-قاعده‌ای ممتد از غشای و واجد Na^+/K^+-ATPase می‌باشند که نشان دهنده قدرت فوق العاده آن‌ها در انتقال فعال یون است. سطح راسی MRC‌ها در تماس با آب اطراف است (۵،۶،۱۲،۱۳،۱۴). تغییر ناحیه سطحی MRC‌ها در پاسخ به تغییرات شرایط محیطی متعددی شامل سازش به آب دریا، مواجهه با آب کم یون، تیمارهای کورتیزول و هورمون رشد و مواجهه با pH بالا رخ می‌دهد بطوریکه در محیط آب شور به یک چین عمیق و در آب شیرین به یک چین کم عمق یا هم سطح و در برخی موارد بالاتر از سطح سلول‌های سنگفرشی پوششی (PVC) و دارای میکروویلی (با تراکم‌های مختلف) تغییر شکل می یابد (۳،۱۳). تغییرات فنوتایپی در سطح راسی MRC‌ها به عنوان مکانیسم‌های تعیین کننده برای تنظیم یونی یا اسید-باز پیشنهاد می‌شوند. همچنین نشان داده شده که جذب یون‌های مختلف ارتباط معنی‌داری با سطوح عملکردی MRC روی اپی تلیوم فیلامنت آبشش برخی تلئوست‌ها دارد (۷،۱۵). MRC‌ها در آب دریا (SW) مسئول دفع یون‌های سدیم و کلرو در آب شیرین (FW) جذب این دو یون هستند.

بنابراین شرایطی که هومئوستاز یونی را درگیر یا مختل سازد موجب تغییرات در مرفولوژی سلول‌های غنی از میتوکندری در اپی تلیوم آبشش به عنوان پاسخ به مطلوب ساختن ظرفیت انتقال یون می‌شود (۴،۷،۱۶). با

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۶۳۲-۴۲۳۴۴۰۱ نمابر: ۰۶۳۲-۴۲۳۳۳۲۲ Email: amovahedinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

این وجود هنوز دقیقا مشخص نشده است که در پی انتقال بین آب شور و شیرین، عملکرد و مرفولوژی یک نوع سلول به نوع دیگر تغییر می یابد یا اینکه یک نوع سلول جایگزین نوع دیگر می شود (۳).

خانواده Sparidae که عموماً به شانک ماهیان (seabream) معروفند، ماهیان دریایی اند که توانایی تحمل دامنه وسیعی از شوری ها را نشان می دهند. با وجود خصوصیات فیزیولوژیک یوری هالین، این گروه از ماهیان تلئوست های دریایی بوده و در هیچ یک از مراحل چرخه زیستی خود، نیاز به آب شیرین ندارند (۱۷،۱۸).

شانک زردباله (Houttuyn در سال ۱۷۸۲) *Acanthopagrus latus* از زیر خانواده Sparinae یک گونه هرمافرودیت پیش نر (۱۹) و یکی از مهمترین ماهیان دریایی از نظر تجاری و اکولوژیک است (۲۰،۲۱،۲۲). این گونه عموماً در آب های گرم و ساحلی (۲۱) در سرتاسر اقیانوس هند و غرب آرام پراکنش دارد (۱۹،۲۳).

شناخت کمی در مورد اثرات شوری های مختلف روی اندام های تنظیم اسمزی ماهیان دریایی وجود دارد و تا کنون مطالعات کمی روی تاثیرات انتقال از آب دریا به شوری های دیگر روی تغییرات در مرفولوژی غشای راسی cc انجام شده است. هدف این مطالعه، توصیف فراساختار MRC آبششی در شانک زردباله تحت میکروسکپ الکترونی نگاره و ارزیابی اثرات انتقال ماهی از شوری آب دریا در خور موسی (شمال خلیج فارس، ۴۲ppt) به شوری های کمتر هایپر وهایپوسموتیک (۱،۵،۲۰ppt)و شوری بالاتر (۶۰ppt) روی مرفولوژی غشای راسی MRC آبشش بود.

مواد و روش کار

تامین ماهی و دوره عادت پذیری: برای انجام تحقیق، یک استوک از ماهی های شانک زردباله، A. latus از ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی واقع در استان خوزستان در بهمن ماه ۱۳۸۶ تهیه شد. تمامی این ماهیان، یکساله و حاصل تکثیر در بهمن ماه ۱۳۸۵ در همین ایستگاه تحقیقاتی بودند که در تانک های ۶۰۰۰L مدور محتوی آب دریای فیلتر و تیمار شده با اشعه ی ماورای بنفش (UV) در سوله سرپوشیده نگهداری می شدند. تعداد ۶۰۰ عدد ماهی به سوله تحقیقاتی اختصاص یافته برای دوره آزمایشی طرح حاضر واقع در مجاورت سوله نگهداری ماهیان در ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی منتقل و بصورت تصادفی در ۱۵ تانک ۳۰۰L (۴۰ عدد ماهی در هر تانک) قرار داده شدند. چیدمان تانک ها به صورت تلفیقی از حالت انتخابی و تصادفی بود. به گونه ای که طراحی ترتیب قرارگیری تیمارهای مختلف با فرض حضور تکرارهای هر تیمار در هر دو سوی سوله و با فاصله از یکدیگر به صورت تصادفی انجام و اجرا شد. هرکدام از این تانک ها همانند تانک های ۶۰۰۰L از آب دریا پر شده بود (۲۴). در این دوره و دوره ی آزمایش جهت پیشگیری از آلودگی ها و بیماری های احتمالی ماهی و تاثیر بر نتایج بافتی و فیزیولوژیک ناشی از تغییرات شوری، آب علاوه بر فیلتر شدن و تیمار UV، در مخازن ۱۵۰۰L، کلرزنی و کلرزدایی می شد. بدین منظور ۲۴ ساعت قبل از افزودن آب به تانک های نگهداری ماهیان، کلر به مقدار ۲۰ppm در آنها حل و یک ساعت قبل از انتقال با تیوسولفات سدیم خنثی می شد (۱). به ماهیان فرصت داده شد تا به مدت ۲ هفته قبل از شروع اعمال تغییرات شوری با شرایط سوله ی جدید و تانک ۳۰۰L محتوی آب دریا (۴۲ppt، ۱۵۷۰±۱۰/۱۸mosmol/kg H2O) تحت فتوپریود و دمای طبیعی عادت کنند تا از اثرات و اختلال بالقوه و احتمالی استرس جابجایی (از قبیل افزایش سطوح کورتیزول) روی تنظیم اسمزی اجتناب شود (۲۵).

شوری با استفاده از شوری سنج دیجیتال مدل Sension5 (Hach Company)، pH توسط دستگاه قابل حمل سنجش pH مدل TS1 (SUNTEX) و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتال اندازه گیری اکسیژن مدل DO-5510 بطور روزانه و به ترتیب در حد ۰/۰۱، ۰/۰۱واحد pH و ۰/۱mg/L اندازه گیری می شد. تمامی تانک ها به گونه ای که حداقل آشفتگی در آن ها ایجاد شود هوادهی می شدند (در حدود ۱۰۰۰mL/minute). تنها در نوبت های غذادهی، هوادهی موقتاً قطع و سپس مجدداً برقرار می شد (۲۴).

ماهیان دو بار در روز با پلت (پروتئین ۵۸٪، چربی ۱۳٪، کربوهیدرات ۱۰٪، فیبر ۵٪ و خاکستر ۷٪) به نسبت ۲٪ وزن بدن در هر روز تغذیه می شدند. پلت ها با توجه به اندازه ماهی به قطعات ۴mm-۷ خرد و به تانک ها افزوده می شدند. زمان غذادهی در تمام طول دوره در ساعات ۹:۳۰-۹ صبح و ۳-۲:۳۰ عصر بود (۲۴). پلت های مصرف نشده، ۳۰ دقیقه پس از زمان شروع تغذیه با سیفون نمودن از کف تانک ها تخلیه می شد تا مانع از آلودگی آب تانک گردد. حدود ۵۰٪ آب تانک ها هر روز تخلیه و با آب جدید جایگزین می شد تا از تجمع آمونیاک و سایر متابولیت ها جلوگیری شود (۲۶). بدلیل سقف شفاف سوله و شدت زیاد نور طی روز، یک سایه بان با استفاده از پلاستیک مشکی جهت کاهش تابش نور آفتاب در ارتفاع ۱m روی تانک ها کشیده شد (۱).

آداپتاسیون ماهی ها با شوری های مختلف: پس از دوره عادت پذیری، ماهی ها جهت ارزیابی چگونگی سازش با شوری های مختلف، مورد آزمایش قرار گرفتند. برای این کار تغییر سریع شوری برای آداپتاسیون با شوری های ppt ۵، ۲۰ و ۶۰ و تغییر تدریجی شوری برای آداپتاسیون با آب شیرین (۰/۱~) در نظر گرفته شد. برای تغییر شوری، ابتدا آب تانک ها تا باقی ماندن حدود ۱۰٪ از آب تانک، خالی شد و سپس تانک های تیمار کنترل مجددا با آب دریا پر شد. تانک های تیمارهای آداپتاسیون سریع، بلافاصله از آب با شوری های موردنظر (۵،۲۰،۶۰ ppt) پر شد ولی تانک های آداپتاسیون با آب شیرین در روز اول با آب ppt ۳۵ پر شد و پس از آن به تدریج تغییر شوری در آن ها انجام شد (کاهش روزانه ppt ۵ تا رسیدن به شوری ppt ۵ و سپس کاهش روزانه ppt ۱ تا رسیدن به شوری ppt ۱) (Movahedinia و همکاران در سال ۲۰۰۹). ترکیب یونی آب در شوری های مختلف در جدول ۲-۱ آمده است. تمامی گروه های تیمار و کنترل شامل ۳ تانک تکرار (مجموعاً ۱۵ تانک

www.SID.ir

Archive of SID

۳۰۰L) بود. شوری‌های مختلف با رقیق کردن توسط آب شهر فیلترشده یا افزودن نمک طبیعی دریا به آب دریای فیلترو تیمار UV شده در تانک‌های ذخیره تهیه می‌شد و به همراه مخازن آب دریا و آب شیرین (۰۱) فیلترشده به شیوه‌ای که در بالا بیان شد با کلرزنی و کلرزدایی ضدعفونی می‌شدند.

آزمایش به مدت ۲۱ روز انجام شد و غذادهی و حذف پلت‌های مصرف نشده در طول دوره آزمایش ادامه یافت. روز قبل از نمونه‌گیری، غذادهی ماهیان انجام نمی‌شد (۲۷). حدود ۵۰٪ از آب هر تانک غروب هر روز (پس از غذادهی) تعویض می‌شد (۲۶). فاکتورهای فیزیکوشیمیایی (شوری، pH و DO) در طول دوره آزمایش بصورت روزانه اندازه‌گیری و کنترل می‌شد.

نمونه‌گیری و بررسی‌های فراساختاری: از ماهی‌های مورد آزمایش (در ۳ تانک) در پایان دوره عادت‌پذیری یعنی بلافاصله قبل از تغییر شوری‌ها در تانک‌ها، جهت تعیین داده‌های زمان صفر، نمونه گیری انجام شد. در زمان‌های ۱ و ۷ روز پس از شروع تغییرات شوری‌ها از تانک‌های کنترل و تیمارهای ۵،۲۰،۶۰ppt و در پایان دوره آزمایش (۲۱ روز) از تمامی تانک‌ها (۱۵ تانک) نمونه‌گیری صورت گرفت. برای نمونه‌گیری، یک ماهی از هر تانک (n=۳ برای هر تیمار در هر زمان نمونه‌گیری) را بوسیله یک تور دستی خارج نموده و پس از بیهوشی، آب اضافی از سطح بدن آن‌ها بوسیله حوله نرم حذف می‌شد. وزن و طول چنگالی هر ماهی به وسیله ترازوی دیجیتال در حد ۰/۰۱g و تخته‌ی بیومتری در حد ۱mm اندازه‌گیری و ثبت می‌شد.

جهت بررسی‌های فراساختاری آبشش شانک زردباله، قطعه کوچکی از قسمت میانی کمان آبششی دوم از سمت چپ سر ماهی برداشته و در محلول فیکساتیو گلوتارآلدهید ۲٪ + پارافرمالدهید ۲٪ در بافر فسفات (pH=۷/۴) در دمای $4^{o}C$ تثبیت می‌شد (۲۴). قطعات بافتی، پس از تثبیت، از فیکساتیو خارج و با بافر فسفات ۰/۱M (pH=۷/۴) شسته و در سری‌های افزایشی اتانل (از ۵۰٪ تا اتانل خالص) و سپس استن ۱۰۰٪ آب‌گیری شدند (۱۷،۱۸،۲۸،۲۹). در ادامه قطعات بافتی بوسیله نیتروژن مایع سریعاً منجمد و با استفاده از چسب غیررسانای دو طرفه به گونه‌ای روی پایه‌های مسی قرار داده شدند که کمان آبششی عمود بر پایه و سطح رشته آبششی افقی قرار گیرد. نمونه‌ها در دستگاه sputter coater (Edwardsمدل SC7620) کاملاً خشک و با طلا روکش شدند. نمونه‌ها پس از این مراحل آماده سازی، تحت میکروسکپ الکترونی نگاره (LEO مدل 1455VP) با ولتاژ ۱۵kV بررسی شدند. تصاویر میکروسکپی با بزرگنمایی ۲۰۰۰ از ۴ منطقه از سطح آوران فیلامنت، نزدیک به محل اتصال فیلامنت به کمان آبششی (سپتوم) از هر ماهی تهیه و جهت بررسی‌های بعدی ذخیره شد. انواع سلول‌های غنی از میتوکندری بر اساس مرفولوژی سطوح رأسی تعیین شد (۷).

نتایج

ماهی شانک زردباله پس از مواجهه سریع با محیط‌های هایپو و هایپراسموتیک (۵،۲۰،۶۰ ppt) و آداپتاسیون تدریجی با محیط هایپواسموتیک (آب شیرین) تا پایان دوره‌ی آزمایش تلفاتی در اثر تغییر شوری نداشت. همچنین در سرتاسر آزمایش‌ها، ماهی‌ها در تمامی دوزهای شوری، سالم به نظر می‌رسیدند.

در نمای جانبی، رشته‌های آبششی بصورت شعاع‌هایی از کمان آبششی امتداد یافته‌اند و لاملاها بصورت صفحاتی عمود بر آن‌ها در هر دو سمت قرار گرفته‌اند (تصویر۱). در سطح فیلامنت‌های آبشش ماهی شانک سه ناحیه‌ی مشخص دیده شد: لبه آوران، فضای بین لاملایی و لبه‌ی کوتاه وابران (تصویر۲،۳).

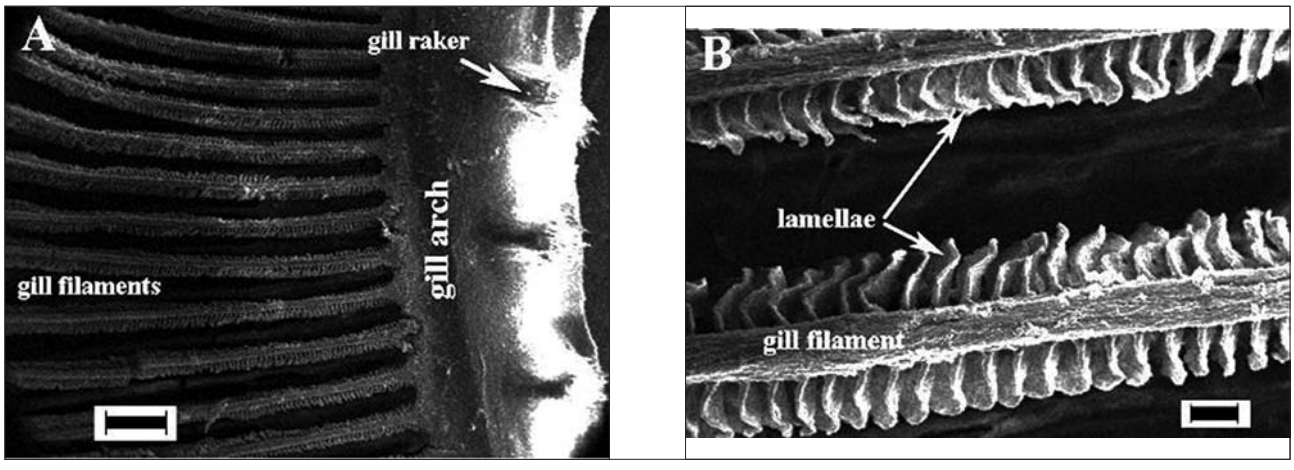
بیشتر سطح اپیتلیوم آبشش توسط سلول‌های سنگفرشی اپی‌تلیومی (PVC) پوشیده شده بود که البته مساحت آن در فضای بین لاملایی در مجاورت لبه آوران کمتر از سایر نواحی بود (تصویر۳). سطح سلول‌های سنگفرشی، وسیع، عمدتاً چندضلعی و دارای لبه‌هایی است که به آن ظاهری مانند اثر انگشت می‌دهد. علاوه بر لبه‌ها، میکروویلی‌ها هم ممکن است در تراکم‌های مختلف، بر سطح سلول‌های سنگفرشی وجود داشته باشند. سلول‌های غنی از میتوکندری برانشی، در سمت آوران و فضای بین لاملایی فیلامنت‌ها (بیشتر به سمت لبه آوران) وجود داشتند و از تعداد آن‌ها به سمت لبه وابران کم می‌شد به گونه‌ای که اپیتلیوم لبه وابران فیلامنت فاقد این نوع سلول بود. غشا یا دهانه‌ی رأسی سلول‌های غنی از میتوکندری در بین دو یا تعداد بیشتری سلول سنگفرشی و در نمونه‌های تیمار کنترل (۴۲ppt) بیشتر به فرم مدور یا بیضوی، قابل تشخیص بودند (تصویر۳).

مرفولوژی سطح رأسی سلول‌های غنی از میتوکندری: غشای رأسی سلول‌های غنی از میتوکندری آبشش ماهی شانک زردباله، مرفولوژی‌های متفاوت سطوح رأسی از فرورفتگی‌های عمیق تا سطح برآمده را نشان داد. در فرورفتگی عمیق، غشای رأسی سلول نسبت به سطح سلول‌های سنگفرشی بسیار پایین‌تر قرار داشته و فقط دهانه آن در بین سلول‌های سنگفرشی قابل مشاهده بود در حالیکه سطح غشای رأسی سلول دیده نمی‌شد. در برخی موارد عمق این حفره کمتر بود و تشکیل حفره‌های کم‌عمق را می‌داد. در این حالت ساختارهای سطحی غشای رأسی قابل مشاهده بود. این سطوح عمدتاً دارای میکروویلی‌ها (در تراکم‌های مختلف) و به ندرت دارای حفره‌های ثانویه بود. سرانجام غشای رأسی ممکن بود همسطح سلول‌های سنگفرشی بوده یا تا کمی فراتر از سطح آن بالا بیاید که میکروویلی‌های متعدد روی آن وجود داشت (تصویر۴).

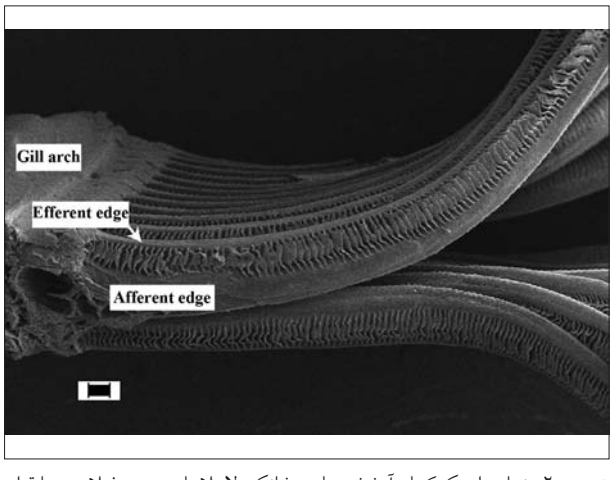
در تیمار کنترل، دهانه سلول‌های غنی از میتوکندری تشکیل حفراتی با اعماق مختلف را میداد که عمدتا ساختارهای روی غشای رأسی (میکروویلی‌ها) روی آن قابل تشخیص بود. MRCهای همسطح با سلول‌های سنگفرشی بندرت در اپیتلیوم آبشش ماهی متعلق به آب دریا دیده شد (تصویر۵). در تیمار ۶۰ppt دهانه‌ی MRCها پس از یک روز مواجهه با این شوری، مدور و نسبت به اپیتلیوم آبشش ماهی تیمار کنترل، بزرگ‌تر بود در حالیکه همچنان زواید سطحی روی غشای رأسی قابل

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۱- A: کمان آبششی ماهی شانک زردباله. فیلامنت‌ها بصورت شعاعی از کمان آبششی امتداد یافته‌اند. در سمت مقابل، خارهای آبششی (gill raker) کوتاه، بصورت برجستگی هایی قرار گرفته است (مقیاس=۴۰۰μm). B: تصویر میکروسکپ الکترونی نگاره از قسمتی از فیلامنت‌های آبششی. مقیاس=۵۰μm.



تصویر ۲- نمایی از یک کمان آبششی ماهی شانک. لاملاها عمود بر فیلامنت‌ها قرار داشته و آب در خلاف جهت جریان خون (counter current) پس از عبور از روی لبه وابران و فضای بین لاملایی، از سطح آوران عبور می‌کند. مقیاس=۱۰۰μm.

تشخیص بود. افزایش اندازه‌ی دهانه در مورد سلول‌های واقع در فضای بین لاملایی بیشتر بود بطوریکه بیشتر فضای بین لاملایی در سمت لبه آوران بوسیله این دهانه‌ها اشغال شده بود. چنین افزایشی در اندازه حفره رأسی در نمونه‌های روزهای ۷ و ۲۱ نیز قابل تشخیص بود (تصویر ۶-A). در مواجهه با شوری ppt ۲۰، پس از یک روز اندازه‌ی دهانه شروع به کاهش نمود و عمق آن کمتر شد (تصویر ۶-B) بطوریکه پس از ۷ روز سطح غشای رأسی بالاتر آمده و به سطح سلول‌های سنگفرشی نزدیک شد در حالیکه همچنان تعداد کمی دهانه رأسی کم‌عمق دیده می‌شد (تصویر ۶-C)، اما پس از ۲۱ روز عمق و اندازه حفره‌های رأسی مجددا افزایش یافته و تقریبا مشابه تیمار کنترل شده بود (تصویر ۶-D). در تیمار ۵۰ سلول‌های غنی از میتوکندری سریعا تغییر یافتند و پس از یک روز غشای رأسی اکثر MRCها بالا آمده و همسطح سلول‌های سنگفرشی شد (تصویر ۶-E). این درحالیست که پس از ۷ روز مجددا تعداد MRCهای کم‌عمق، افزایش یافت. نکته جالب اینکه در نمونه‌های ۷ و ۲۱ روز دهانه‌های برآمده و همسطح با سلول‌های سنگفرشی بر روی لبه آوران، بیشتر در نزدیکی پایه لاملا و دهانه‌های فرورفته بیشتر در انتهای لبه (دور از لاملا) پراکنده بودند (تصویر ۴). در تیمار ۰ پس از ۲۱ روز آداپتاسیون نیز حالتی مشابه آنچه در ۵ ppt در همین زمان (۲۱ روز آداپتاسیون) شرح داده شد، مشاهده گردید (تصویر ۶-F). در تیمارهای ۵ppt و ۱ppt پس از ۲۱ روز آداپتاسیون، اندازه و عمق دهانه‌ی سلول‌های غنی از میتوکندری هم در لبه‌ی آوران و هم در فضای بین لاملایی بسیار کمتر از نمونه‌های تیمار کنترل بود.

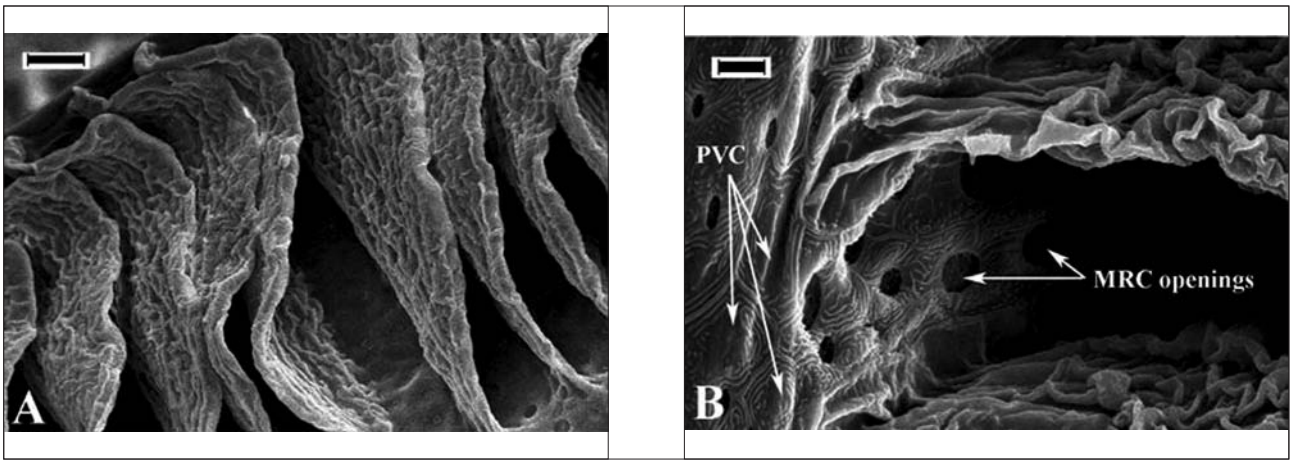
بحث

در این مطالعه شوری‌های مختلف مصنوعی برای تعیین الگوی تغییرات دهانه‌های MRCها در کوتاه مدت و بلندمدت استفاده شدند و نتایج مشاهده شده پیشنهاد کرد که تغییرات مرفولوژیکی MRCها نیازهای یونی و اسمزی جانور را منعکس می‌کند. در این تحقیق، شانک زردباله قادر بود تا مواجهه مستقیم با شوری‌های ۵ppt تا ۶۰ppt را بدون مرگ و میر تحمل کند. این با گزارشات قبلی در زمینه ی قابلیت تنظیم اسمزی دیگر گونه‌های شانک ماهیان (۱،۴،۱۷،۱۸) مطابق بود. همچنین شانک توانست با کاهش تدریجی طی ۱۰ روز تغییر شوری محیط از آب دریا (۴۲ ppt) به آب شیرین را تحمل نموده و پس از آن تا پایان دوره آزمایش (۲۱ روز) آداپتاسیون موفق و بدون مرگ و میر با آب شیرین داشته باشد. این سریع ترین زمان گزارش شده برای سازگاری با آب شیرین در یک ماهی کاملاً دریایی برای یک دوره آزمایشی قابل قبول است. قبل از این Kelly و همکارانش در سال ۱۹۹۹ (۱۸) برای اولین بار سازش موفق شانک سیاه (*Mylio macrocephalus*) به مدت ۲۱ روز با آب شیرین را پس از ۸ ماه عادت پذیری ماهی با ۶ppt را گزارش کرده بودند.

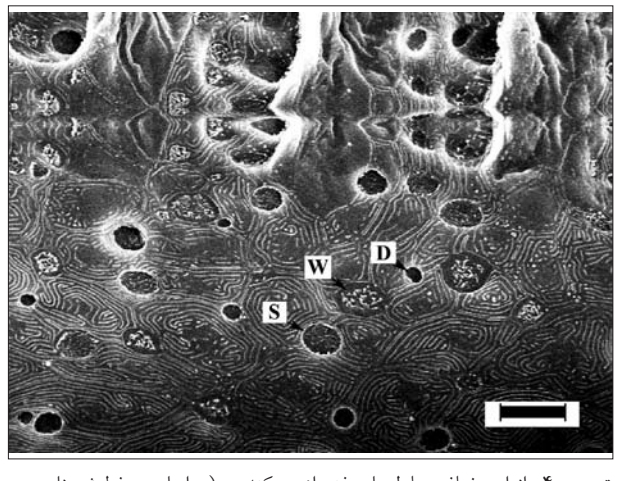
در شانک زردباله مانند شانک نقره‌ای (*Sparus sarba*)(۴) دهانه‌های MRCها روی لبه ی وابران فیلامنت یافت نشد ولی در سطح آوران و فضای بین لاملایی (با افزایش تراکم در نزدیکی لبه ی آوران) به

www.SID.ir

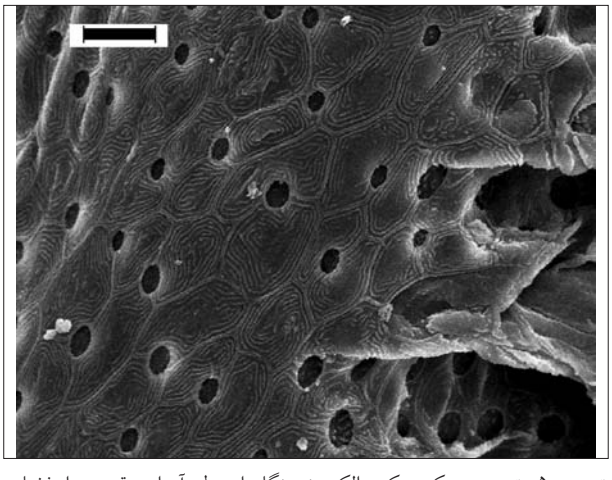
Archive of SID



تصویر ۳- A. لاملاها بصورت صفحات نیم‌دایره از سطح فیلامنت برآمده‌اند. مقیاس=۲۰μm. B. سلول‌های سنگفرشی اپی تلیومی (PVC) با فرم‌های چندضلعی بیشترین ناحیه‌ی سطحی فیلامنت را به خود اختصاص داده‌اند. دهانه‌ی راسی سلول‌های غنی از میتوکندری (MRC opening) در بین دو یا تعداد بیشتری سلول سنگفرشی قرار دارد. مقیاس=۵μm.



تصویر ۴- انواع مختلف سلول‌های غنی از میتوکندری (بر اساس مرفولوژی ناحیه‌ی رأسی) در اپیتلیوم آبشش ماهی شانک‌زردباله. D: دارای دهانه‌ی فرورفته و عمیق (deep hole MR cells)، S: دارای دهانه‌ی کم‌عمق (shallow basin MR cells) و W: دارای دهانه‌ی هم سطح با سلول‌های سنگفرشی یا اندکی برآمده‌تر از آن (wavy convex MR cells). مقیاس=۱۰μm.



تصویر ۵- تصویر میکروسکپ الکترونی نگاره از سطح آوران و قسمتی از فضای بین لاملایی آبشش ماهی شانک در شرایط آب دریا (۴۲ppt). مقیاس=۱۰μm.

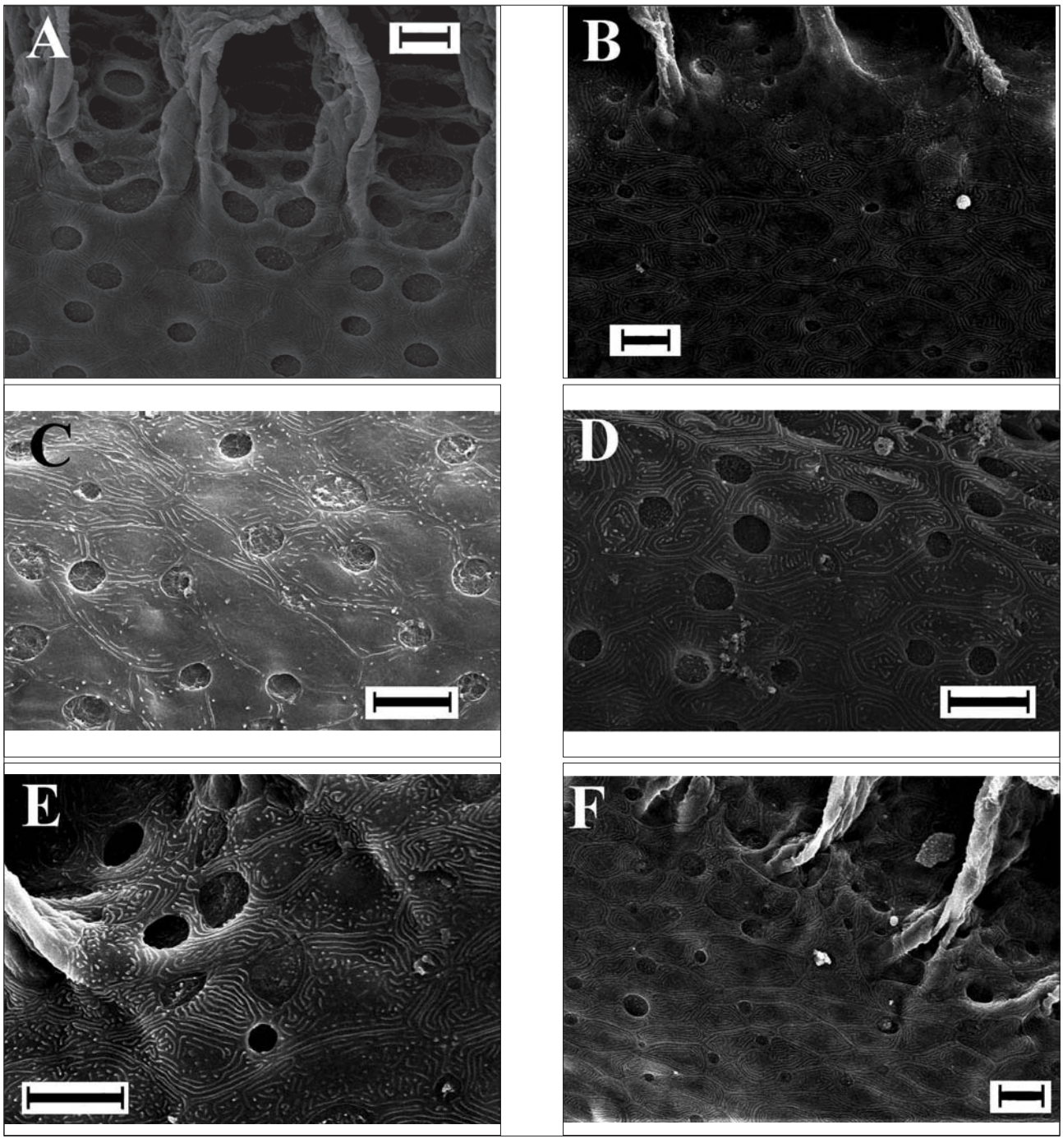
خوبی قابل تشخیص بود. بنابراین در این گونه مانند بسیاری از گونه‌ها مطالعه فراساختار MRCها در سمت آوران، مطلوب است. اگرچه در برخی گونه‌ها مانند خامه ماهی (*Chanos chanos*)، لبه آوران بدلیل اینکه MRCها به ندرت در آن وجود دارند، سطح مناسبی برای مطالعه این سلول‌ها نیست (۲۸).

براساس شکل سلولی، مرفولوژی غشای راسی، ساختارهای زیر غشای راسی، توسعه ی سیستم لوله‌ای و مکان قرارگیری روی فیلامنت، انواع سلول‌های غنی از میتوکندری α و β در ماهیان استنوهالاین آب شیرین یا یوری هالاین آداپته به آب شیرین تعریف شده اند. به طور کلی MRCهای آب شور، معادل MRCها شناخته می‌شوند ولی نوع β مخصوص گونه‌های آب شیرین است (۳،۵،۶،۷،۱۳،۱۴). در مطالعه حاضر با توجه به مطالعه Chang و همکارانش در سال ۲۰۰۱(۷) روی تیلاپیای آداپته به آب شیرین (*Oreochromis mossambicus*)، ۳ نوع MRC (عمیق، کم عمق و برآمده)، برای توصیف بهتر ویژگی‌های فراساختاری سطح راسی سلول‌های غنی از میتوکندری با استفاده از میکروسکپ الکترونی نگاره در نظر گرفته شد.

Chang و همکارانش در سال ۲۰۰۱ (۷)، سلول‌های غنی از میتوکندری دارای دهانه‌ی عمیق در تیلاپیای آداپته به آب شیرین را اگرچه با تردید، معادل αMRC و MRC کم عمق را معادل βMRC دانسته‌اند. در حالیکه در مشاهدات ما در شرایط شوری ۶۰ppt تنها MRCهای کم عمق در روی فیلامنت آبشش مشاهده شد. همچنین در ۴۲ppt (کنترل) اکثر MRCها از نوع کم عمق بوده و تعداد اندکی MRC عمیق در آن ردیابی شده بود و در محیط‌های هایپرتونیک رقیق شده (در روزهای ابتدایی آداپتاسیون) و هایپوتونیک (۲۰ppt، ۵ و آب شیرین) تمامی فرم‌های ساختار سطح راسی MRC (۳ نوع) در اپیتلیوم آبشش ماهی وجود داشت. بنابراین با توجه به تاکید مطالعات قبلی بر وجود تنها نوع αMRC در ماهیان دریایی یا یوری هالاین آداپته با آب دریا (۱۴)، ما MRCهای با ساختار راسی عمیق و کم

www.SID.ir

Archive of SID



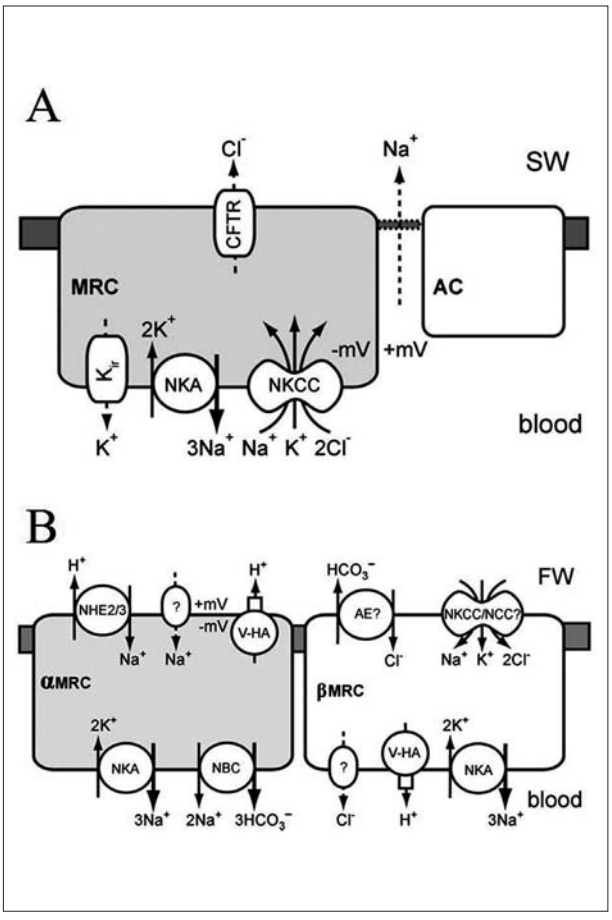
تصویر ۶- تصاویر میکروسکپ الکترونی نگاره از سطح اپی تلیوم فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله در سازش با محیط های مختلف هایپراسموتیک (۶۰ppt و ۲۰) و هایپواسموتیک (۵ppt و ۱). تصاویر، ویژگی ها و تغییرات مرفولوژی رأسی سلول های غنی از میتوکندری را طی سازش با ۶۰ppt پس از ۷ روز (A)، ۲۰ppt پس از ۲۴ ساعت، ۷ روز و ۲۱ روز (به ترتیب B، C و D)، ۵ppt پس از ۲۴ ساعت (E) و ۱ppt پس از ۲۱ روز (F) را نشان می دهند. مقیاس=۱۰µm.

عمق را معادل αMRC می دانیم. هر چند مدارک و اطلاعات مستند برای توضیح و اثبات چنین ارتباطی وجود ندارد و تعیین قطعی، نیاز به مقایسه آنها با تصاویر میکروسکپ الکترونی گذاره در شرایط یکسان دارد. احتمالاً نوع گونه، محیط زیست طبیعی گونه، نحوه و نوع آداپتاسیون (از شوری های بالا تر به پایین تر یا برعکس) در تعیین انواع از سلول های غنی از میتوکندری موثر است.

در فیلامنت آبشش شانک زردباله پاسخ های سریع MRCها در پی تغییرات ناگهانی و تدریجی در شوری رخ داد. بطوریکه تنها طی ۲۴ ساعت تغییرات در فراساختار MRCها قابل ملاحظه بود. مشابه چنین تغییری قبلاً توسط Kelly و Woo در سال ۱۹۹۹(۴) در شانک نقره‌ای نیز گزارش شده و پس از ۲۱ روز اختلاف فراساختاری بین تیمارهای مختلف و جود داشت. یک روز پس از قرار گرفتن در شرایط ۶۰ppt، بواسطه افزایش

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۷- مدل کاری برای مکانیسم‌های دفع (A) و جذب (B) یون‌های سدیم و کلر بوسیله‌ی سلول‌های غنی از میتوکندری آبشش. AC: سلول ضمیمه، MRC: سلول غنی از میتوکندری (تصویر از: ۲۴).

مساحت غشای راسی، نسبت کل این سطح به مساحت اپی تلیوم در پهلوی آوران فیلامنت افزایش چشمگیری داشته و این سطح وسیع تر تا روز ۲۱ هم مشخص بود. در این شوری MRC عمیق وجود نداشت درحالیکه در نمونه‌های کنترل به تعداد کم دیده می‌شد که تبدیل اینها به نوع کم عمق را بوسیله بالا آمدن غشای راسی پشنهاد می‌کند.

در شوری‌های ۲۰ppt و۵ پس از یک روز، با کوچکتر شدن سطح غشای راسی، نسبت مساحت اشغال شده اپی تلیوم توسط MRCها کمتر از نمونه‌های کنترل شد. البته در محیط ۲۰ppt، اپیتلیوم آبشش پس از ۲۱ روز مواجهه، از نظر ساختار دهانه‌های راسی تقریباً مشابه نمونه‌های کنترل شد. این تغییر موقت در ساختار راسی MRCها در ۲۰ppt نشان دهنده‌ی نقش مهم و اولیه آبشش در پاسخ به شوک کاهش شوری است و بدلیل اینکه محیط همچنان هایپر اسموتیک است ساختار غشای راسی سلول‌های کلراید به حالت طبیعی دریایی باز می‌گردد. بنابراین تغییر میزان فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقال دهنده ی یون‌ها در غشای MRCهای دریایی، بدون نیاز به تغییرات فراساختار این سلول‌ها نسبت به آب دریا (۴۲ppt) و یا سازش‌های بعدی در اندام‌های دیگر مانند کلیه (۱)، قادر به تامین نیاز فیزیولوژیکی ماهی

جدول۱- ترکیب یونی آب در شرایط آزمایشی. [Na^+] و [K^+] به روش شعله سنجی و [Cl^-] و [Ca^{++}] به روش رنگ سنجی اندازه‌گیری شد (n=۶).

شوری (ppt)	Na^+ (mM)	Cl^- (mM)	Ca^{2+} (mg/۱۰۰mL)	K^+ (mM)
۶۰	۳۷۰/۸۳±۲/۸۸	۱۰۵۹±۱۳/۲۳	۱۸/۷۵±۰/۶۷	۱۰/۶۰±۰/۳۳
۴۲	۲۹۳/۵±۱/۴۱	۶۱۱/۸۳±۲/۹۸	۱۹/۲۷±۱/۵	۱۱/۱۵±۰/۲۸
۲۰	۱۹۴/۱۷±۱/۴۱	۲۸۴/۱۷±۰/۹۵	۱۵/۹۳±۰/۰۲	۵/۷۵±۰/۱۳
۵	۸۵/۵±۲/۵۵	۸۰/۷۵±۰/۸۶	۱۰/۵۵±۰/۰۷	۱/۳۸±۰/۰۷
۱	۲۵±۱/۱۵	۴/۴۵±۰/۳۹	۶/۵۷±۰/۱۴	۰/۲۷±۰/۰۲

آداپته به ۲۰ppt است. همچنین نتایج این مطالعه اثبات می‌کند که سلول‌های غنی از میتوکندری دارای دهانه ی کم عمق به عنوان فرم تیپیک دریایی نیاز فیزیولوژیکی تلئوست‌های دریایی یا تلئوست‌های یوری هالاین آداپته با آب دریا و محیط‌های شورتر را تامین سازند. احتمالاً عملکرد همین نوع سلول‌ها در شرایط هایپواسموتیک بر اساس الگوی ارایه شده توسط Evans در سال ۲۰۰۸ (۳۰) (تصویر ۷) با تغییر در نوع، تراکم و محل قرارگیری آنزیم‌ها و سایر پروتیین‌های ناقل در غشای سلولی تغییر یافته و در جذب یون شرکت داشته باشند. حضور همه انواع MRC در محیط‌های هایپواسموتیک همانند آنچه سایر محققین اعلام داشته‌اند (۷،۱۶،۳۱) پیشنهاد می‌کند که این سلول‌ها با مرفولوژی‌های مختلف، مسئول جذب یون‌های مختلف در محیط نیز هستند. با حضور فراوان انواع دارای سطوح برآمده و افزایش میکروویلی در غشای راسی در معرض محیط‌های هایپواسموتیک، مساحت این غشاها افزایش می‌یابد که این پدیده با طبیعت جذبی MRCها در این شرایط مطابقت دارد (۵،۱۰،۱۳).

Carmona و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۳۲) در مطالعه روی نوعی ماهی خاویاری (*Acipenser naccarii*) بیان کردند که در جانوران نگهداری شده در آب شیرین نسبت به ماهیان دریا سطح راسی MRCها تورفتگی کمتری داشت. در تحقیق مانیز بالا آمدن سطح غشای راسی در نمونه‌های ۲۰ppt و ۵ پس از ۱ روز مشاهده شد که این حالت (وجود MRCهای کم عمق) پس از ۲۱ روز در محیط‌های هایپواسموتیک همچنان وجود داشت ولی انواع عمیق و برآمده نیز در اپی تلیوم جانوران آداپته شده با این محیط‌ها حضور داشتند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خویش از آقای دکتر بهروز حیدری، دکتر مرمضی، پرسنل محترم ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران، بخاطر مساعدت‌ها و حمایت‌هایشان در انجام این تحقیق، اعلام می‌دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Fielder, D.S., Allan, G.L., Pepperall, D., Pankhurst, P.M. (2007) The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. Aquaculture. 272: 656-666.
2. Uchida, K., Kaneko, T., Yamauchi, K., Hirano, T. (1996) Morphometrical analysis of chloride cell activity in the gill filaments and lamellae and changes in Na^+/K^+-ATPase activity during seawater adaptation in chum salmon fry. J. Exp. Zool. 276: 193-200.
3. Kaneko, T., Katoh, F. (2004) Functional morphology of chloride cells in killifish *Fundulus heteroclitus*, a euryhaline teleost with seawater preference. Fish. Sci. 70: 723-733.
4. Kelly, S.P., Woo, N.Y.S. (1999) The response of sea bream following abrupt hyposmotic exposure. J. Fish Biol. 55: 732-750.
5. Pisam, M., Auperin, B., Prunet, P., Rentier-Delrue, F., Martial, J., Rambourg, A. (1993) Effects of prolactin on α and β chloride cells in the gill epithelium of the saltwater adapted tilapia "*Oreochrornis niloticus*". Anat. Rec. 235: 275-284.
6. Shikano, T., Fujio, Y. (1998) Immunolocalization of Na^+/K^+-ATPase and morphological changes in two types of chloride cells in the gill epithelium during seawater and freshwater adaptation in a euryhaline teleost, *Poecilia reticulate*. J. Exp. Zool. 281:80-89.
7. Chang, I.-C., Lee, T.-H., Yang, C.-H., Wei, Y.-Y., Chou, F.-I., Hwang, P.-P. (2001) Morphology and function of hill mitochondria-rich cells in fish acclimated to different environments. Physiol. Biochem. Zool. 74:111-119.
8. Wilson, J.M., Laurent, P. (2002) Fish gill morphology, Inside out. J. Exp. Zool. 293: 192-213.
9. Varsamos, S., Diaz, J.P., Charmantier, G., Flik, G., Blasco, C., Connes, R. (2002) Branchial chloride cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) sdapted to fresh water, seawater, and doubly concentrated seawater. J. Exp. Zool. 293: 12-26.
10. Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G. (2005) Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. Comp. Biochem. Physiol. Part A. 141: 401-429.
11. Giari, L., Manera, M., Simoni, E., Dezfuli, B.S. (2006) Changes to chloride and rodlet cells in gills, kidney and intestine of *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to reduced salinities. J. Fish Biol. 69: 590-600.
12. Helfman, G.S., Collette, B.B., Facey, D.E. (1997) The Diversity of Fishes. Blackwell Science Pub., Malden, USA.
13. Hirose, S., Kaneko, T., Naito, N., Takei, Y. (2003) Molecular biology of major components of chloride cells. Comp. Biochem. Physiol. (part B: Biochem.). 136: 593-620.
14. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P. (2005) The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. Physiol. Rev. 85: 97-177.
15. Goss, G.G., Perry, S.F., Fryer, J.N., Laurent, P. (1998) Gill morphology and acid-Base regulation in freshwater fishes. Comp. Biochem. Physiol. 119: 107-115.
16. Moron, S.E., Oba, E.T., De Andrade, C.A., Fernandes, M.N. (2003) Chloride cell responses to ion challenge in two tropical freshwater fish, the erythrinids *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus*. J. Exp. Zool. 298A: 93-104.
17. Kelly, S.P., Chow, I.N.K., Woo, N.Y.S. (1999a) Alterations in Na^+/K^+-ATPase activity and gill chloride cell morphometrics of juvenile black sea bream (*Mylio macrocephalus*) in response to salinity and ration size. Aquaculture. 172: 351-367.
18. Kelly, S.P., Chow, I.N.K., Woo, N.Y.S. (1999b) Haloplasticity of black seabream(*Mylio macrocephalus*): hypersaline to freshwater acclimation. J. Exp. Zoo. 283: 226-241.
19. Hesp, S.A., Potter, I.C., Hall, N.G. (2004) Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environ. Biol. Fishes.70: 257-272.
20. Abou-Seedo, F.S., Dadzie, S., Al-Kanaan, K.A. (2003) Sexuality, sex change and maturation patterns in the

www.SID.ir

yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Teleostei: Sparidae) (Houttuyn, 1782). J. Appl. Ichthyol. 19: 65-73.

21. Xia, J.H., Xia, K.F., Jiang, S.G. (2006) Characterization of 11 polymorphic microsatellite loci in the yellowfin seabream Acanthopagrus latus. Mol. Ecol. Notes. 6: 484-486.
22. Jiang, S., Zhang, D., Li, J., Liu, Z. (2008) Molecular characterization, recombinant expression and bio-activity analysis of the interleukin-1β from the yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). Fish Shellfish Immunol 24: 323-336.
23. Jean, C.-T., Lee, S.-C.. Chen, C.-T. (2000) Population structure of yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*, from the waters surrounding Taiwan, based on mtDNA sequences. Itchthyol. Res. 47: 187-192.
24. Movahedinia, A.A., Savari, A., Morovvati, H., Kochanian, P., Marammazi, J.G., Nafisi, M. (2009) The effects of changes in salinity on gill mitochondria-rich cells of juvenile yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. J.Biol.Sci. 9: 710-720.
25. Biswas, A.K., Seoka, M., Takii, K., Maita, M., Kumai, K. (2006) Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. Aquaculture. 252: 566-572.
26. Altinok, I., Galli, S.M., Chapman, F.A. (1998) Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi*. Comp. Bioch. Physiol. Part A. 120: 609-616.
27. Stefanson, S.O., Berge, A.I., Gunnarsson, G.S. (1998) Changes in seawater tolerance and gill Na^+/K^+ ATPase activity during desmoltification in Atlantic salmon kept in freshwater at different temperatures. Aquaculture. 168: 271-277.
28. Chen, C.-N., Lin, L.-Y., Lee, T.-H. (2004) Ionocyte distribution in gills of the euryhaline milkfish, *Chanos chanos* (Forsskål, 1775). Zool. Stud. 43: 773-777.
29. Lin, C.-H., Huang, C.-L., Yang, C.-H., Lee, T.-H., Hwang, P.-P. (2004) Time-course changes in the expression of Na^+/K^+-ATPase and the morphometry of mitochondrion-rich cells in gills of euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during fresh-water acclimation. J. Exp. Zool. 301A: 85-96.
30. Evans, D.H. (2008) Teleost fish osmoregulation: what have we learned since August Krogh, Homer Smith, and Ancel Keys. Am. J. Physiol. 295: R704-R713.
31. Marisa, N.F., Perna-Martins, S.A. (2002) Chloride cell responses to long-term exposure to distilled and hard water in the gill of the armored catfish, *Hypostomus tietensis* (Loricariidae). Acta Zool. (Stockholm). 83: 321-328.
32. Carmona,R.,Garcia-Gallego,M. Sanz, A., Domezain, A., Ostos-Garrido, M.V. (2004) Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenser naccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. J. Fish Biol. 64: 553-566.

www.SID.ir

Archive of SID
J. Vet. Res. 67, 2:165-174, 2012

Gill ultrastructural alterations in response to various environmental salinities in yellowfin seabream, (*Acanthopagrus latus)*

Movahedinia, A.A.[1*], Savari, A.[1], Salati, A.P.[2]

[1]*Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr-Iran.*

[2]*Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr- Iran.*

(Received 31 October 2011 , Accepted 17 March 2012)

Abstract:

BACKGROUNGD: Alterations to mitochondria-rich cells (MRC) in the fish gill epithelium have been previously reported. **OBJECTIVES:** To specify the variation pattern of apical openings in mitochondria- rich cells in short and long terms exposure to different salinities. **METHODS:** Yellowfin seabream, (*Acanthopagrus latus*) was subjected to different salinities (freshwater, 5, 20 and 60ppt) besides the normal environmental salinity in the Musa creek (42ppt) over 21days, with three replicates for each condition. Samples were collected at the 1st, 7th and 21st days of experiment. Dissected gill arches were fixed in 2% glutaraldehyde+2% paraformaldehyde (pH=7.4) at 4°C and studied using scanning electron microscopy. **RESULTS:** Three subtypes of mitochondria-rich cells (shallow basin, deep hole and wavy convex) were detected in the gill epithelium based on different environmental salinities. While most of mitochondria-rich cells were present in seawater group, all of them were detected as the shallow basin subtype in 60 ppt group. Meanwhile, decrease in salinity to 20ppt, made morphological changes in the apical membrane of the mitochondria-rich cells on day 7, so that most of these cells have been detected as wavy convex or shallow basin subtypes. On the other hand, on day 21 they showed a pattern similar to the basal status. Furthermore, when they were transferred to hypoosmotic medium (5ppt and FW), rapid changes were exhibited in the apical membrane of mitochondria-rich cell which were stabilized after 21 days so that all subtypes of mitochondria-rich cells were observed in photomicrographs of gill filaments. **CONCLUSIONS:** Shallow basin mitochondria-rich cells as typical cells in seawater fish species, would be able to do osmoregulation in hyperosmotic environment in yellowfin seabream, yet in hypoosmotic conditions all sub- types of the mitochondria-rich cells would be required.

Key words: osmoregulation, mitochondria rich cell, ultrastructure, yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*.

Figure Legends and Tabel Captions

Figure 1. A: Scanning electron micrograph of gill arch of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) shows gill filaments extended from arch (scale bar=400µm). B: Scanning electron micrograph of gill filaments (scale bar=50µm)

Figure 2. Scanning electron micrographs of a portion of a gill arch from yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) including two hemibranches which radiate off it (scale bar=100µm).

Figure 3. A: Gill lamellae in the shape of semicircles arranged on gill filament (scale bar=20µm). B: Pavement epithelial cells (PVC) in the shape of polygonal occupied most epithelial surface of the filaments (scale bar=5µm).

Figure 4. Various MRC subtypes according to the apical opening morphology recognizable under scanning electron microscope. D: deep hole MR cells; S: shallow basin MR cells; W: wavy convex MR cells (scale bar=10µm).

Figure 5. Scanning electron micrograph of afferent and interlamellar surface from seabream in seawater condition (42ppt) (scale bar=10µm).

Figure 6. Scan Electron microscope images of the surface of gill filaments in *Acanthopagrus latus* acclimated to different hyperosmotic (60ppt and 20ppt) and hypoosmotic (5ppt and 1ppt) environments (scale bar=10µm).

Figure 7. Working model for the mechanisms of NaCl secretion (A) and uptake (B) by the teleost gill mitochondria-rich cells (MRC).

Table 1. Ionic composition of water in experimental condition.

***Corresponding author's email: amovahedinia@yahoo.com, Tel: 0632-4234401, Fax: 0632-4233322**

www.SID.ir