

اثر تغییر تدریجی شوری بر سلول های کلرایدی آبشش ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

سجاد پور مظفر

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، ایستگاه تحقیقاتی نرمتان خلیج فارس. Sajjad5550@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: تغییر در پارامترهای محیطی همچون شوری به عنوان عامل استرس زا تلقی شده و بر رشد و بقای آبی اثر منفی دارد. سلول های کلرایدی آبشش، مسئولیت اصلی تبادل یون ها را در ماهیان ایفا می کنند. بنابراین، هدف از این مطالعه، ارزیابی تغییرات اندازه و تعداد سلول های کلرایدی در پاسخ به افزایش شوری می باشد. روش کار: برای این منظور، ۱۸۰ قطعه ماهی قزل آلی رنگین کمان با وزن تقریبی $28/5 \pm 1/91$ گرم به مدت ۶۰ روز در شوری های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ گرم در لیتر نگهداری شدند. سازگاری به آب شور در مدت ۱۵ روز انجام شد. به منظور بررسی تغییرات تعداد و اندازه سلول های کلرایدی نمونه برداری در روزهای ۷، ۱۵ (پایان سازگاری به شوری)، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز و از هر تکرار ۳ ماهی انجام گرفت. برش عرضی بافت آبشش با ضخامت ۵-۷ میکرون از استفاده از رنگ انوزین- هماتوکسیلین تهیه شد. یافته ها: در روز ۷، بالاترین میزان تعداد و اندازه سلول های کلرایدی در تیمار شوری ۲۵ گرم در لیتر مشاهده شد. از روز ۱۵ تا پایان دوره، تعداد و اندازه سلول های کلرایدی در تیمارهای شوری به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. همچنین، ماهیان نگهداری شده در شوری ۲۵ گرم در لیتر به تدریج تا پایان دوره تلف شدند. نتیجه گیری: در این مطالعه مشخص شد که سلول های کلرایدی در ماهی قزل آلی رنگین کمان بیشتر در قاعده فیلامنت ها حضور دارند و نقش مهمی در ترشح یون ها ایفا می کنند.

واژه های کلیدی: قزل آلی رنگین کمان، شوری، سلول کلرایدی آبشش.

مقدمه

ماهیان همواره درگیر استرس های گوناگون محیطی هستند. تغییر در کیفیت آب و پارامترهای محیطی هم چون دما و شوری می تواند به عنوان عوامل استرس زا در ماهیان مطرح شود، زیرا این عوامل تأثیر زیادی بر رشد، بقاء و متابولیسم ماهی دارد که انحراف از حد مجاز آن ها منجر به بروز مشکلاتی در پرورش ماهیان خواهد شد. در هنگام مواجه شدن با استرس ناشی از افزایش شوری آب، ترکیب مایعات داخلی بدن ماهی توسط فرآیند تنظیم فشار اسمزی و از طریق تغییرات شاخص های فیزیولوژیک گوناگون تنظیم می شود. بنابراین بقای جانور در مراحل مختلف زندگی بستگی به توانایی تنظیم اسمزی داشته تا بدین وسیله بتواند بر

استرس ناشی از شوری غلبه کند و به زندگی خود ادامه دهد (۲). پایداری یونی و اسمزی در ماهیان استخوانی در شوری محیطی، نیازمند مصرف انرژی می باشد. مطالعات پیشین، هزینه تنظیم اسمزی آبشش ماهیان سازگار شده در آب شیرین و شور را به ترتیب حدود ۲/۴ و ۳/۵ درصد کل متابولیک ماهی محاسبه کردند، اما همین مقدار کوچک می تواند بر روی رشد اثر داشته باشد. در ماهیان استخوانی، فشار اسمزی پلاسمای خون تقریباً برابر با شوری ۱۲ گرم در لیتر می باشد، به هر حال، تاکنون جمع بندی مشخص و روشنی در خصوص میزان انرژی دریافتی در شرایط اسمزی برابر ارائه نشده است. با این حال گمان می شود، فاکتورهای رشد

ماهیان در محیطی با شوری نزدیک به فشار اسمزی پلاسمای خون می‌تواند افزایش پیدا کند (۱۷). با افزایش بیش از حد شوری محیط، ماهیان بین دو مکانیسم جذب نمک و جذب غذا از روده دچار مشکل خواهد شد، بنابراین می‌تواند اثر منفی بر جذب غذا، ضریب تبدیل غذایی، هضم پذیری غذا و در نهایت رشد داشته باشد (۸). آبیان باید فشار اسمزی سلول‌هایشان را به وسیله تنظیم جریان یون‌ها و آب از غشای سلولی (اغلب با صرف انرژی) کنترل و ثابت نگه دارند. تنظیم یونی و اسمزی در تلوست‌ها به وسیله عملکردهای تلفیقی اندام‌های دخیل در تنظیم اسمزی از قبیل آبشش، کلیه و روده صورت می‌گیرد (۱۶، ۷). ماهیان آب شیرین نسبت به محیط دارای فشار اسمزی بالاتری هستند، بنابراین درگیر ورود آب از طریق اسمز و از دست دادن نمک از طریق انتشار از غشای تراوی آبشش می‌باشد، این پدیده به وسیله ادرار رقیق و نسبتاً حجیم و جذب فعال نمک از طریق آبشش جبران می‌شود. اما اسمولالیت بدن ماهیان استخوانی آب شور نسبت به محیط کمتر می‌باشد، بنابراین درگیر از دست دادن آب از طریق اسمز و ورود نمک از طریق انتشار از آبشش هستند، مکانیسم‌های جبرانی شامل نوشیدن آب دریا، جذب نمک و آب در روده، دفع کم حجم ادرار و دفع فعال نمک از طریق آبشش می‌باشد. در ماهیان استخوانی، آبشش با تغییر در تعداد و مساحت سلول‌های کلرایدی در تنظیم یونی و اسمزی نقش تعیین کننده‌ای را ایفا می‌کند (۱۶). اولین بار سلول‌های کلرایدی در مار ماهی توسط Keys and Wilmer, 1932 شناسایی گردید. آن‌ها این سلول‌ها را غنی از میتوکندری و مسئول برای ترشح کلر در ماهیان استخوانی قرار گرفته در آب شور توصیف کردند، اما وظیفه آن‌ها چیزی فراتر از حذف یون کلر در آب شور می‌باشد، هم‌چنین تعداد میتوکندری‌های زیاد این سلول می‌تواند انرژی مورد نیاز برای انتقال‌دهنده‌های

یونی را تأمین کند (۲۰). سلول‌های کلرایدی بخش کوچکی از سطح اپی‌تلیوم آبشش در ماهیان استخوانی را می‌پوشاند، اما با این حال اولین مکان فعال در فرآیندهای فیزیولوژی در آبشش می‌باشد، این سلول‌ها نسبت متابولیکی بالاتری نسبت به سایر سلول‌های آبششی دارند و این نسبت متابولیکی در آبشش تأثیر مستقیمی در جمعیت آن‌ها دارد که می‌تواند منجر به تکثیر آن‌ها شود. معمولاً قسمت رأسی این سلول‌ها با سطح آب در تماس می‌باشد (۷). سلول‌های کلرایدی در ماهیان آب شیرین و شور، از منظر فراساختار دارای اشتراکاتی می‌باشد (۲۴، ۷). این سلول‌ها، بر روی اپی-تلیوم، فیلامنت و لاملاها حضور دارند، اما حضور آن‌ها در پایه‌ی تیغه‌های آبششی ثانویه پررنگ‌تر و محسوس‌تر می‌باشد، با این وجود، برخی از شرایط محیطی می‌تواند در افزایش تعداد سلول‌های کلرایدی در لاملاها نقش مؤثرتری داشته باشد (۱). این سلول‌ها بیضی شکل تا دراز، دارای هسته بیضی کروماتینی با موقعیت رأسی و دارای سیتوپلاسم فراوان هستند. تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های کلرایدی تاکنون در ماهیان هم‌چون هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) (۳)، کپور سفید دریای خزر (*frisii kutum Rutilus*) (۱۰)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۲)، شاه کولی (*Chalcalburnus chalcoides*) (۱۹)، *Rivulus marmoratus* (۱۴)، *Centropomus parallelus* (۱۴)، قره برون (*Acipenser persicus*) (۲۳)، اسنپر استرالیایی (*Pagrus auratus*) (۹) گزارش شده است. این سلول‌ها، در محیط‌های با شوری بالا به وسیله پمپ $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ ، یون‌های سدیم و کلر را خارج می‌کند، اما در شرایط با شوری کم در جذب یون‌های کلسیم و کلر نقش فعالی را بر عهده دارند. این یون‌ها، از یون‌های اصلی تشکیل دهنده پلاسمای خون ماهیان به شمار می‌رود (۲۱). ماهی قزل‌آلاهی رنگین کمان مهم‌ترین گونه آزادماهیان پرورشی در آب شیرین

ثبت گردید. شوری آب نیز با دستگاه شوری سنج مدل COND 330i / SET و دامنه تغییرات آن ۲/۵-۲/۴۴ گرم در لیتر اندازه گیری شد. دامنه تغییرات درجه حرارت آب نیز بین ۲۰-۱۱ درجه سانتی گراد بود. جیره غذایی به صورت اکسترودر با علامت اختصاری (EX-TG) از شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. متوسط ترکیبات غذایی، پروتئین خام ۴۵٪، چربی خام ۱۴٪، فیبر خام ۲٪، رطوبت ۱۰٪ و قطر خوراک ۲/۴ میلی متر بود. غذادهی به صورت ۱/۵ درصد وزن توده زنده، در دو نوبت صبح و بعد از ظهر به ماهیان خورانده شد. جهت جلوگیری از پرت شدن غذا، غذادهی زمانی که ماهی ها حرکات فعال تغذیه ای نشان می دادند، ادامه یافت. روزانه ۵۰٪ درصد از آب آکواریوم ها جهت جلوگیری از کمبود اکسیژن تعویض گردید. آب مورد نیاز این پژوهش از طریق یک حلقه چاه آب شیرین در محل انجام پژوهش تأمین و سطح شوری انتخاب شده برای هر تیمار، آب شیرین (تیمار شاهد)، ۱۵ ppt، ۲۰ و ۲۵ (گرم در لیتر) بود. تنظیم شوری با استفاده از نمک به صورت تدریجی و در طول ۱۵ روز انجام پذیرفت (۴).

نمونه برداری از آبشش

از ماهی های مورد آزمایش در زمان رهاسازی و تقسیم در آکواریوم ها (آب شیرین) نمونه ی آبشش تهیه گردید. نمونه برداری از آبشش جهت بررسی تعداد و مساحت سلول های کلرایدی در زمان های ۷، ۱۵ (پایان سازگاری به شوری)، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز انجام گرفت؛ هم چنین از هر تکرار ۲ نمونه به طور تصادفی انتخاب گردید. ابتدا نمونه ها در محلول ۱۰٪ فرمالین برای ۳ روز فیکس شدند. سپس برای نگهداری بیشتر وارد محلول اتانول ۷۰٪ تا زمان بررسی نگهداری گردید. برش عرضی (۷-۵ میکرون) با استفاده از میکروتوم تهیه و با استفاده از اتوزین-هماتو کسین رنگ آمیزی انجام گرفت. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری به

می باشد. تولید اکثر مزارع پرورشی دنیا و تقریباً صد در صد مزارع پرورشی ماهیان سرد آبی ایران را به خود اختصاص می دهد. هم چنین بر اساس آخرین آمار منتشر شده توسط فائو در سال ۲۰۱۴ میزان تولید جهانی این ماهی با ارزش به بیش از ۸۱۲ هزار تن در سال رسیده است. پس با توجه به تولید و ارزش اقتصادی این گونه و خشکسالی های پی در پی در کشور و کمبود منابع آب شیرین بایستی تمهیدات لازم پرورش ماهی قزل آلا ی رنگین کمان در آب شور و لب شور فراهم گردد. لذا در این مطالعه سعی بر آن شده است که تأثیر شوری محیطی در زمان های مختلف بر عملکرد آبشش و سلول های کلرایدی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان مورد ارزیابی و مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش ها

طراحی آزمایش

ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان به ظاهر سالم با وزن تقریبی 28.5 ± 1.91 گرم و طول اولیه 12.5 ± 1.21 سانتی متر که از مزارع تکثیر و پرورش خریداری و در تانک های مخصوص حمل ماهی با تزریق اکسیژن خالص به محل اجرای پروژه انتقال و بعد از انجام عمل همدمایی، برای جلوگیری از وارد آمدن استرس به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شدند. ماهیان در آکواریوم های ۶۴ لیتری (با ابعاد 40×40 سانتی متر طول و عرض و ارتفاع آبگیری ۴۰ سانتی متر) نگهداری گردیدند. به طوری که ۱۸۰ عدد ماهی در ۱۲ آکواریوم و هر آکواریوم ۱۵ عدد ماهی بعد از زیست سنجی اولیه نگهداری شدند. عوامل فیزیکی آب شامل درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH و شوری همه روزه به وسیله دستگاه های دیجیتال قابل حمل WTW با دقت اندازه گیری ۰/۰۱ اندازه گیری گردید. اکسیژن محلول به وسیله ی دستگاه اکسیژن متر مدل OXI 330/ SET اندازه گیری و دامنه آن بین ۷-۹ میلی گرم در لیتر ثبت شد. pH آب به وسیله دستگاه pH متر مدل 1- / pH SET ۳۳۰ اندازه گیری و دامنه تغییرات آن ۷/۲۵-۸/۱۵

بررسی فراوانی سلول های کلرایدی پرداخته شد (۲۱). برای تعیین تعداد (در واحد هر میلی متر رشته آبششی)، سلول های کلرایدی در اپی تلیوم فیلامنتی ۳ منطقه ی بین لاملایی متوالی (فضای بین ۴ لاملا) در ۸ تصویر از هر ماهی شمارش شد. سپس میانگین تعداد سلول های کلرایدی از ۸ عدد حاصل جهت مقایسه بین تیمارهای مختلف در زمان های مشابه و هم چنین مقایسه تغییرات در هر تیمار در زمان های متفاوت نمونه برداری محاسبه گردید. هم چنین با استفاده از برنامه Digimizer (۴.۱.۱.۱)، مساحت آن ها اندازه گیری شد.

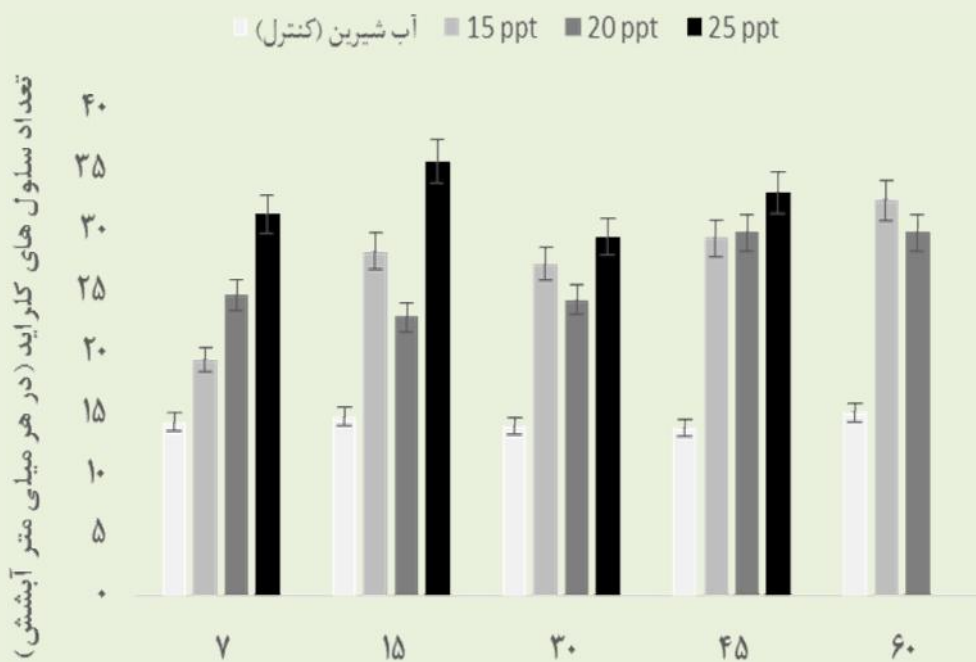
آنالیز داده ها

پراکنش نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلموگراف - اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن داده ها، اختلاف موجود بین تیمارها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار تعیین شد و نتایج حاصله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از نرم افزار SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین ها از تست LSD در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد (۲۲).

نتایج

بر اساس نتایج به دست آمده، حضور اکثر سلول های کلرایدی بر روی فیلامنت آبششی به ثبت رسید (شکل ۱). با افزایش شوری تعداد سلول های

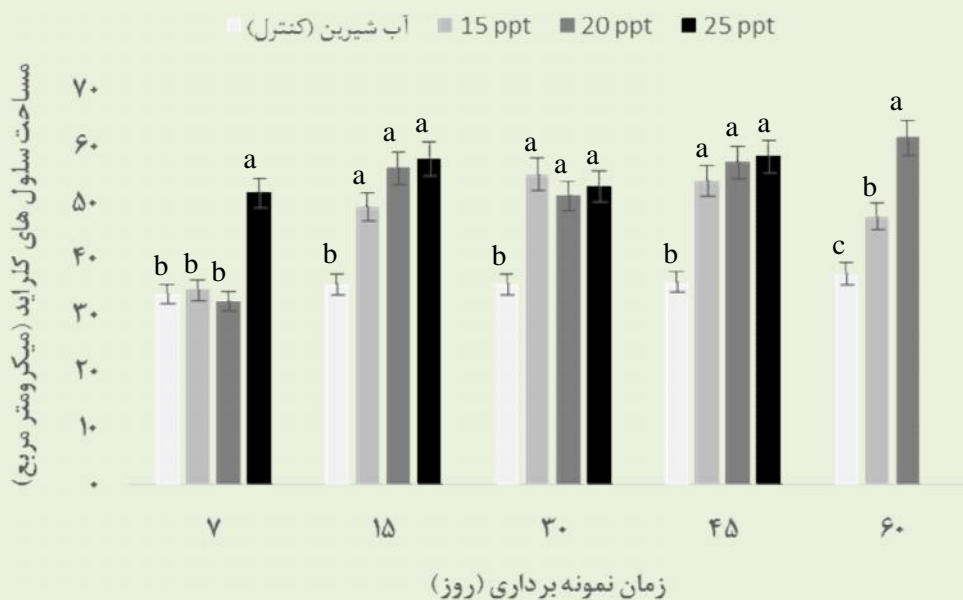
کلرایدی نیز با افزایش روبه رو شد؛ به طوری که در روز ۷، بالاترین میزان در تیمار ۲۵ ppt ($6/01 \pm$ ۳۱/۲۹) مشاهده و تا پایان سازگاری به شوری در روز ۱۵ این روند حفظ شد (نمودار ۱) ($p < 0/01$). در پایان دوره سازگاری تدریجی به شوری، تعداد سلول های کلرایدی در تیمارهای شوری ۱۵ ppt و ۲۵ به ترتیب حدود ۹۳٪ و ۱۴۳٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت، که این اختلاف معنی دار بود ($p < 0/01$). علاوه بر این، در روزهای ۳۰، ۴۵ و ۶۰، بیش ترین و کم ترین تعداد سلول های کلرایدی به ترتیب در تیمارهای شوری و شاهد مشاهده شد ($p < 0/05$) (نمودار ۱). هم چنین ماهیان قرار گرفته در شوری ۲۵ ppt تا پایان دوره به تدریج تلف شدند. تغییرات اندازه سلول های غنی از میتو کندری (میکرومتر مربع) نیز الگویی تقریباً مشابه با تغییرات تراکم بود (نمودار ۲). در روز ۷، اندازه این سلول در تیمار شوری ۲۵ ppt حدود ۱/۵ برابر تیمار شاهد ($14/19 \pm 0/66$) بود ($p < 0/05$). هم چنین در روزهای ۱۵ و ۳۰، اندازه سلول های کلرایدی در تیمارهای شوری افزایش داشت و اختلاف آن ها با تیمار شاهد معنی دار بود ($p < 0/05$). در روز ۶۰، کم ترین تعداد در تیمار آب شیرین ($14/86 \pm 0/86$) و بیشترین تعداد در شوری ۲۰ ppt ($29/71 \pm 1/59$) مشاهده شد ($p < 0/05$).



زمان نمونه برداری (روز)

نمودار ۱- مقایسه تغییرات تعداد (در هر میلی متر آبشش) سلول های کلرایدی سازگار شده به شوری های متفاوت طی نمونه برداری های مختلف.

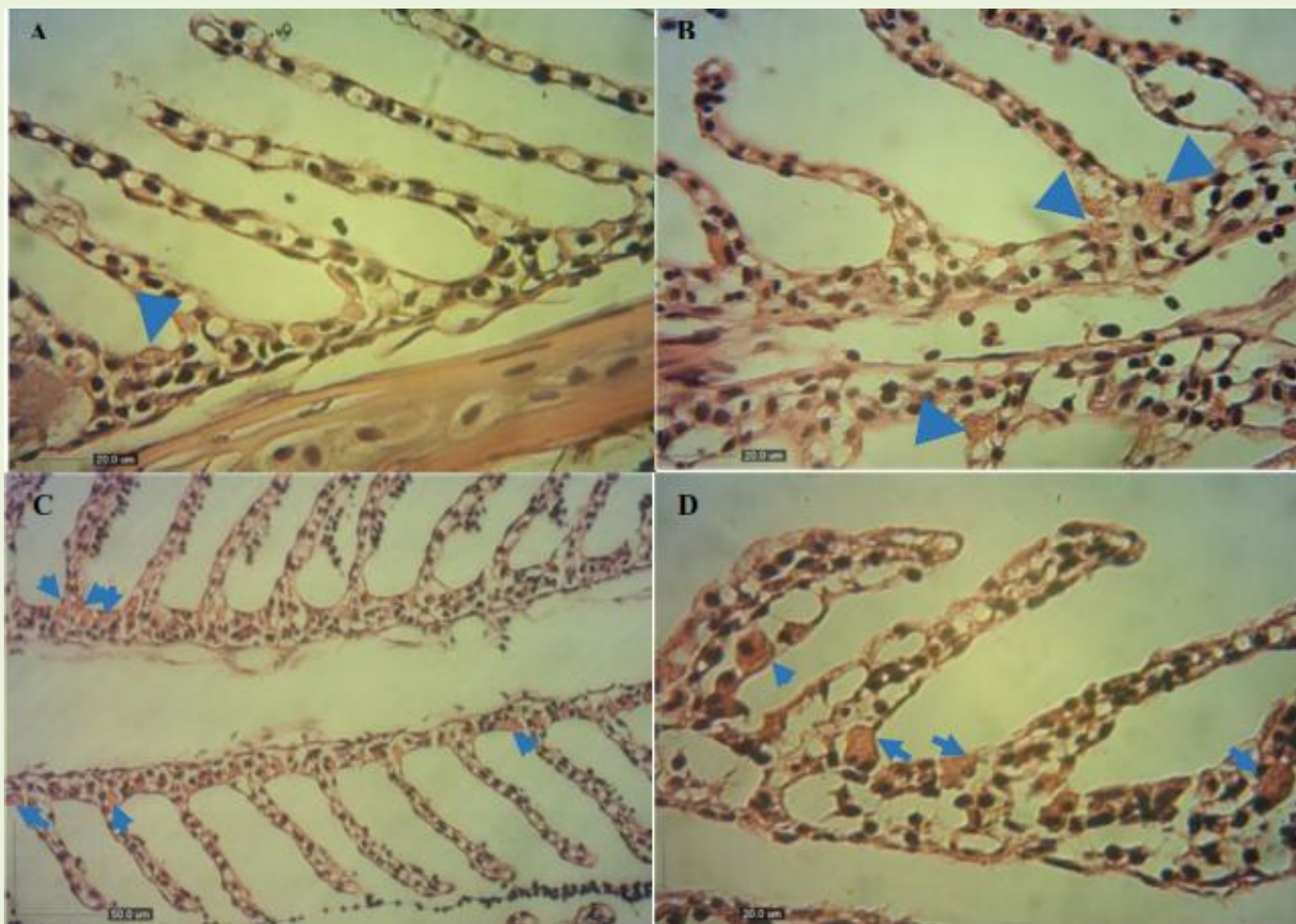
حروف لاتین غیر همنام تفاوت معنی دار را نشان می دهد ($p < 0/05$).



زمان نمونه برداری (روز)

نمودار ۲- مقایسه تغییرات اندازه (میکرومتر مربع) سلول های کلرایدی سازگار شده به شوری های متفاوت طی نمونه برداری های مختلف.

حروف لاتین غیر همنام تفاوت معنی دار را نشان می دهد ($p < 0/05$).



شکل ۱- رشته های آبششی ماهی قزل آلابی رنگین کمان با استفاده از رنگ آمیزی اتوزین - همتوکسیلین. سلول های کلرایدی (پیکان) در تیمارهای شاهد (A)، بزرگنمایی $\times 2800$ ، ۱۵ (B)، بزرگنمایی $\times 2800$ ، ۲۰ (C)، بزرگنمایی $\times 1400$ ، و ۲۵ (D)، بزرگنمایی $\times 2800$ ، گرم در لیتر.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، سلول های کلرایدی در آبشش ماهی قزل آلابی رنگین کمان بر روی فیلامنت ها مشاهده و حضور آنها بر روی لاملاها به ندرت به ثبت رسید که نشان دهنده این است که فیلامنت ها درگیر تبادل یون و لاملاهای ثانویه مسئول مبادله گاز می باشد (۷). بر خلاف آنچه در برخی از گونه ها هم چون ماهی آزاد چام (*Oncorhynchus keta*) (۲۴) و *Lateolabrax japonicus* (۱۲) و *Umbrina cirrosa* (۱۸) مشاهده شده است. به طور کلی، پاسخ ماهیان به قرارگیری در شرایط شوری متفاوت بوده که می تواند در نتیجه شرایط محیطی از قبیل شوری، ترشح هورمون ها، گونه و شرایط فیزیولوژیک ماهی باشد (۲). به علاوه،

سازگاری به شوری بالاتر، محل قرارگیری سلول های کلرایدی ماهی قزل آلابی را تغییر نداد ولی تغییرات مشخصی هم در تعداد و اندازه سلول های کلرایدی القاء کرد. مساحت و تعداد سلول های کلرایدی در پاسخ به افزایش تدریجی شوری محیطی در تمام تیمارها پس از پایان دوره سازگاری به شوری افزایش معنی داری را نشان داد و این روند تا پایان دوره حفظ شد. هم چنین در روز ۷، بیش ترین تعداد و مساحت در شوری ۲۵ گرم در لیتر مشاهده شد. Guner و همکاران، به بررسی تغییرات فیزیولوژیک آبشش ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) سازگار شده به شوری ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۶ گرم در لیتر پرداختند، نتایج حاصل نشان داد که اندازه و تعداد

Sparus chalcoides (۱۹)، شانک گیل هد (*Alosa auratus*) (۱۵) و شگ ماهی آمریکایی (*sapidissima*) (۲۵). به دنبال قرارگیری در شوری‌های بالاتر محیطی موجب افزایش تعداد و سایز سلول‌های غنی از میتوکندری شد. بنابراین، افزایش تعداد و سایز سلول‌های کلرایدی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های فیزیولوژیک مؤثر در تنظیم فشار اسمزی می‌باشد (۲). در این مطالعه مشخص شد که سلول‌های کلرایدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیشتر در قاعده فیلامنت‌ها حضور دارند و نقش مهمی در ترشح یون‌ها ایفا می‌کنند. هم‌چنین، با افزایش شوری محیطی، تعداد و اندازه این سلول‌ها افزایش قابل توجهی پیدا کرد، هر چند که ماهیان قرار گرفته در شوری ۲۵ گرم در لیتر تحمل این مقدار از شوری را نداشته و با به هم خوردن هموستازی و تعادل اسمزی بدنشان به تدریج تا پایان دوره پرورش تلف شدند. قزل‌آلای رنگین‌کمان قادر به تحمل دامنه وسیعی از شوری‌ها و حفظ حالت هموستاز بدن در محیط‌های هایپراسموتیک می‌باشد. بنابراین، امکان پرورش این ماهی با وزن تقریبی ۳۰ گرم تا شوری ۲۰ گرم در لیتر بدون هیچ‌گونه تلفاتی، امکان‌پذیر است.

و مساحت سلول‌های کلراید در آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*). مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و سوم. شماره دوم. ص ۱۱-۱.

۴- نفیسی بهابادی، م.، سلطانی، م.، فلاحتی مروست، ع. ۱۳۹۰. بررسی تغییر شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان در شوری‌های مختلف (*Onchorhynchus mykiss*) مجله تربیت معلم. سال نهم. شماره چهارم. ص ۶۴۱-۶۲۵.

سلول‌های کلرایدی با افزایش شوری افزایش یافته و بیشترین اندازه این سلول‌ها متعلق به شوری ۳۶ گرم در لیتر بود (۱۱). به نظر می‌رسد افزایش مساحت و تعداد سلول‌های کلرایدی به دلیل افزایش نیاز به انتقال یون بیشتر، مرتبط بوده و احتمالاً نشانه‌ی افزایش در پمپ‌های ناقلین یون می‌باشد (۳)، به طوری که در مطالعات پیشین نشان داده است که، نسبت مستقیمی میان افزایش مساحت در سلول‌های کلرایدی ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) و فعالیت پمپ $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ وجود دارد (۵). قرارگیری ماهی اسنپر استرالیایی (*Pagrus auratus*) در شوری ۴۵ گرم در لیتر موجب افزایش اندازه سلول‌های کلرایدی و با کاهش شوری تعداد و اندازه این سلول‌ها کاهش یافت که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت و هم‌خوانی دارد. کاهش در سایز و تعداد سلول‌های کلرایدی در ماهی اسنپر انتقال یافته از شوری ۳۰ به ۱۵ گرم در لیتر نشان‌دهنده باز خوردی از کاهش نیاز این ماهی برای دفع یون‌های سدیم و کلر در محیط‌های هایپواسموتیک است (۱۳). سلول‌های کلرایدی ماهی استروژن دریای آدریاتیک (*Acipenser naccarii*) (۶)، تیلاپیا، ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii*) (*Chalcalburnus kutum*) (۱۰)، شاه‌کولی (*Chalcalburnus*)

منابع

- حاجیان، ع.، کاظمی، ر.ا.، دژندیان، س.، جوردهی، ا.ی. ۱۳۹۴. مطالعه آسیب‌شناسی بافتی آبشش بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر. تغذیه و بیوشیمی آبزیان. سال دوم. ص ۴۸-۳۹.

۲- حیدری، ب.، آورجه، س.، جلودار، ح.ت. ۱۳۹۴. اثر تغییرات توأم تدریجی شوری و دما بر بافت آبشش و سلول‌های کلراید ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). زیست‌شناسی جانوری تجربی. سال چهارم. ص ۳۵-۲۵.

۳- خواجه، م.ر.، عبدی، ر.، ذوالقرنین، ح.، صحافی، ه.ح.ز.، مروتی، ح. ۱۳۹۳. مطالعه اثر شوری‌های مختلف بر فراوانی

5. Caberoy, N.B., Quintio, G.F. (2000). Changes in Na^+ , K^+ -ATPase activity and gill chloride cell morphology in the grouper *Epinephelus coioides* larvae and juveniles in response to salinity and temperature. *Fish Physiol. Biochem*, 23; 83–94.
6. Carmona, R., García-Gallego, M., Sanz, A., Domezaín, 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.
7. Evans, D.H., Piermarini, P., Choe, K. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev*, 85; 97–177.
8. Ferraris, R.P., Catacutan, M.R., Mabelin, R.L., Jazul, A.P. (1986). Digestibility in milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): Effects of protein source, fish size and salinity. *Aquaculture*, 59; 93–105.
9. 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.
10. Ghahremanzadeh, Z., Namin, J.I., Bani, A., Hallajian, A. (2014). Cytological comparison of gill chloride cells and blood serum ion concentrations in kutum (*Rutilus frisii kutum*) spawners from brackish (Caspian Sea) and fresh water (Khoshkrood River) environments. *Arch. Polish Fish*, 22; 189–196.
11. Guner, Y., Ozden, O., Cagirgan, H., Altunok, M., Kizak, V., Papadakis, I.E., Varsamos, S. (2005). Effect of salinity on the Osmoregulatory functions of the gills in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Turk. Vet. Anim. Sci*, 29; 1259–1266.
12. Hirai, N., Tagawa, M., Kaneko, T., Seikai, T., Tanaka, M. (1999). Distributional changes in branchial chloride cells during freshwater adaptation in Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*). *Zoolog. Sci*, 16; 43–49.
13. Khodabandeh, S., Khoshnood, Z., Mosafer, S. (2009). Immunolocalization of Na^+ , K^+ -ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. *Aquac. Res*, 40; 329–336.
14. King, J.A.C., Abel, D.C., DiBona, D.R. (1989). Effects of salinity on chloride cells in the euryhaline cyprinodontid fish *Rivulus marmoratus*. *Cell Tissue Res*, 257; 367–377.
15. Laiz-Carrión, R., Guerreiro, P.M., Fuentes, J., Canario, A.V.M., Martín Del Río, M.P., Mancera, J.M. (2005). Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, *Sparus auratus*. *J. Exp. Zool. A. Comp. Exp. Biol*, 303; 563–576.
16. Lee, K.M., Kaneko, T., Katoh, F., Aida, K. (2006). Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu *Takifugu rubripes* exposed to a hypoosmotic environment. *Gen. Comp. Endocrinol*, 149; 285–293.
17. Lisboa, V., Barcarolli, I.F., Sampaio, L.A., Bianchini, A. (2015). Effect of salinity on survival, growth and biochemical parameters in juvenile Lebranch mullet *Mugil liza* (Perciformes: Mugilidae). *Neotrop Ichthyol*, 13; 447–452.
18. Mylonasy, C.C., Pavlidis, M., Papandroulakis, N., Zaiss, M.M., Tsafarakis, D., Papadakis, I.E., Varsamos, S. (2009). Growth performance and osmoregulation in the She drum (*Umbrina cirrosa*) adapted to different environmental salinities. *Aquaculture*, 287; 203–210.
19. Neuraste, N., Setorki, M., Tehranifard, A., Moshfegh, A. (2017). Effects of salinity and plasma prolactin on chloride cells in the gill of *Chalcalburnus chalcoides*. *Iran. J. Aquat. Anim. Heal*, 3; 11–21.
20. Pereira, B.F., Caetano, F.H. (2009). Histochemical technique for the detection of chloride cells in fish. *Micron*, 40; 783–786.
21. Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., Paknejad, H., Rameshi, H. (2019). Effect of dietary supplementation with apple cider vinegar and propionic acid on hemolymph chemistry, intestinal microbiota and histological structure of hepatopancreas in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, 86; 900–905.
22. Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., Miandare, H.K. (2017). Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, 60; 65–71.
23. Sterzelecki, F., Rodrigues, E., Fanta, E., Ribeiro, C. (2013). The effect of salinity on osmoregulation and development of the juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* (POEY). *Braz. J. Biol*, 73; 609–615.
24. Uchida, K., Kaneko, T., Yamauchi, K., Hirano, T. (1996). Morphometrical analysis 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 (3); 193-200.

25. Zydlewski, J., McCormick, S.D. (2001). Developmental and environmental regulation

of chloride cells in young American shad, *Alosa sapidissima*. *J. Exp. Zool*, 290; 73-87.



Archive of SID

The Effect of Gradual Salinity Change on Gill Chloride Cells of Rainbow Trout(*Onchorhynchus Mykiss*)

S.Pourmazfar

I. Institute of Fisheries Science, Persian Gulf of Ecology and Oman sea, Persian Gulf Mollusc Station.

Sajjad5550@gmail.com

Received:2019.18. 3

Accepted: 2019.31.5

Abstract

Inroduction & Objective: The changes in environmental factors such as salinity are considered as a stressful factor and a negative effect on the growth and survival of aquatic animals. Gill chloride cells play a major role in the exchange of ions in fish. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the changes of number and area chloride cells in response to increase salinity.

Materials and Methods: 180 rainbow trout with an average initial weight of 28.95 ± 1.91 grams were transferred to 15, 20 and 25 ppt salt waters for 60 days. Adjustment period to saline water was carried out at 15 days. After exposure to different salinity for 7, 15, 30, 45 and 60 days, three fish's gill from each experimental unit dissected for evaluating the number and area of chloride cells. 5- 7 μ thick cross-sections of tissue is obtained using haematoxylin and eosin.

Results: After 7 days, the highest number and area of chloride cells were observed in 25 ppt salinity treatment. In addition, the number and size of chloride cells were significantly higher in salinity treatments compared to control groups from 15 to 60 days. Fish in 25 ppt treatment were gradually killed until the end of the exposure period.

Conclusion: In this study, chloride cells of rainbow trout were more observed in the base of filaments and played an important role in ion secretion.

Key word: *Rainbow trout*, Salinity, Chloride Cell