Archive of SID

پاسخ های هورمونی ماهی شانک زردباله، (*Acanthopagrus latus*) در سازش با شوری های مختلف محیطی

عبدالعلی موحدی نیا[۱*]، احمد سواری[۱]، حسن مروتی[۲]، پریتا کوچنین[۳]، سیدعلی اکبر هدایتی[۱و۴]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. گروه بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران
۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۴. باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

چکیده

در مطالعه حاضر، تغییرات سطوح پلاسمایی هورمون های کورتیزول و T_3 (تری یدوتیرونین) در فرآیند تنظیم اسمزی در شانک زردباله *Acanthopagrus latus*، ماهی یوری هالاین دریایی، با قرار دادن ماهی در دامنه وسیعی از شوری ها، از آب شیرین تا ۱۵۰٪آب دریا بررسی شد. برای این کار، چالش سریع ماهی با شوری های ۵٪، ۲۰٪ و ۶۰٪ و تطابق تدریجی با آب شیرین انجام شد. شانک زردباله قادر بود تا چالش مستقیم با شوری های ۵ ٪تا ۶۰٪ را بدون تلفات تحمل نماید. همچنین شانک توانست طی روندی تدریجی در مدت ۱۰ روز تغییر شوری محیط از آب دریا (۴۲٪) به آب شیرین را تحمل نموده و تطابق موفقی با آب شیرین داشته باشد. این سریع ترین زمان گزارش شده برای سازگاری با آب شیرین در یک ماهی دریایی برای یک دوره زمانی قابل قبول است. سطوح هورمون کورتیزول پلاسما پس از انتقال سریع از آب دریا به شوری های ۶۰٪ و ۵٪ افزایش سریعی نشان داد که این افزایش در محیط ۶۰٪ بیشتر بود. مقادیر این هورمون در نمونه های تطابق یافته با آب دریای غلیظ شده پس از ۷ روز و در ماهی های سازگار شده با محیط ۵٪ پس از ۲۴ ساعت به سطوح عادی بازگشت. سطوح هورمون تیروئیدی T_3 در پلاسما، ۱۲ ساعت پس از تغییر شوری نسبت به نمونه های کنترل اندکی افزایش را نشان داد که سریعاً به سطوح عادی بازگشت. غلظت هر دو هورمون کورتیزول و T_3 طی سازش شانک با آب شیرین، تفاوتی با نمونه های کنترل نداشت.

واژگان کلیدی: تنظیم اسمزی، کورتیزول، هورمون T_3، شانک زردباله، *Acanthopagrus latus*

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: amovahedinia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

موجودات خشکی زی و آبزی باید فشار اسمزی سلول هایشان را با تنظیم جریان یون ها و آب از غشای سلولی (اغلب با صرف انرژی) کنترل و ثابت نگه دارند. توانایی یک موجود آبزی در تحمل تغییرات وسیع شوری بدون اختلال در فرایندهای زیستی، یوری هالاینیتی[1] نامیده می شود. مهیان استخوانی دریایی باید با از دست دادن آب از طریق اسمز و ورود یون ها (اساسا Na^+ و Cl^-) از طریق انتشار به محیط داخلی بدن مقابله کنند (خوردن آب دریا، کاهش حجم ادرار و دفع فعال نمک از طریق آبشش) در حالی‌که مکانیسم های معکوسی شامل دفع ادرار نسبتا رقیق، جذب فعال نمک از طریق آبشش و احتمالا تامین مقداری نمک از غذا در ماهیان آب شیرین رخ می دهد (Boutet *et al.*, 2006).

تنظیم اسمزی مکانیسم حفظ هومئوستاز مایعات درونی بدن است که مسئول کنترل اسمولاریته و یا فشار اسمزی پلاسما می باشد. حفظ اسمولاریته ی نسبی پلاسما بالاتر و پایین‌تر نسبت به محیط به ترتیب هایپراسمورگولاسیون[2] و هایپواسمورگولاسیون[3] نامیده می شود. ماهیان یوری هالاین ظرفیت تنظیم اسمزی تحت شرایط محیطی مختلف از آب شیرین تا آب بسیار شور را دارند (Hirose *et al.*, 2003). هورمون‌های مختلفی فعالیت های اندام های دخیل در تنظیم اسمزی را در روند حفظ موازنه آب و مواد معدنی در شوری های مختلف محیط کنترل می‌کنند (Lee *et al.*, 2006). بنابراین شرایطی که هومئوستاز یونی را درگیر یا مختل سازند، موجب تغییرات سطوح هورمون های دخیل در تنظیم اسمزی به عنوان پاسخی برای کنترل ظرفیت انتقال یون می شود (Kelly and Woo, 1999; Chang *et al.*, 2001; Moron *et al.*, 2003).

مطالعات متعددی در مورد کنترل هورمونی تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی یوری هالین انجام شده است. معمولا پذیرفته شده است که کورتیزول هورمون غالب در سازش با آب دریا است (Eckert *et al.*, 2001). کورتیزول، مهمترین کورتیکواستروئید خون در ماهیان استخوانی است و ساختار آن به میزان بسیار زیادی در کل گونه‌های مهره‌داران محافظت شده است. در ماهیان این هورمون از سلول های اینتررنال[4] در پاسخ به آدرنوکورتیکوتروپین[5] تولید می‌شود (Barton, 2002; Hosoya *et al.*, 2007).

کورتیزول چندین نقش فیزیولوژیکی ثابت شده مرتبط با متابولیسم انرژی، تنظیم اسمزی، رشد، استرس و پاسخ های ایمنی دارد. مدارک موید نقش کورتیزول در تنظیم اسمزی ماهی در مقالات متعددی ارائه شده است (McCormick., 1995 and 2001; Sakamoto *et al.*, 2001; Evans, 2002; Laiz-Carrion *et al.*, 2003; Baldisserotto *et al.*, 2007).

هورمون‌های تیروئیدی ماهی مولکول های کوچکی هستند و مانند سایر مهره‌داران تیروکسین[6] (T_4) و تری‌یدوتیرونین[7] (T_3) نامیده می‌شوند. در ماهیان، T_3 موثرترین یدوتیرونین بیولوژیکی است

[1] Euryhalinity
[2] Hyperosmoregulation
[3] Hypoosmoregulation
[4] Interrenal
[5] Adrenocorticotropic hormone
[6] Thyroxin
[7] Triiodothyronine

www.SID.ir

Archive of SID

(Baldisserotto *et al.*, 2007). هورمون های تیروئیدی در کنترل تکامل، رشد، متابولیسم و تنظیم اسمزی در ماهیان از اهمیت خاصی برخوردارند و اغلب در ارتباط با سایر هورمون ها مثل هورمون رشد و کورتیزول این فعالیت ها را انجام می دهد (Hazen and Balment, 1997).

شانک زرد باله[1]، *Acanthopagrus latus* (Houttuyn, 1782) یک ماهی هرمافرودیت پروتاندروس[2] است (Hesp *et al.*, 2004). این ماهی از نظر تجاری و اکولوژیکی، یکی از مهم ترین ماهیان دریایی محسوب می شود (Abou-Seedo *et al.*, 2003; Xia *et al.*, 2006; Jiang *et al.*, 2008). این گونه معمولاً در آب های گرم و ساحلی (Xia *et al.*, 2006) در حوزه ی اقیانوس هند و غرب اقیانوس آرام (در خلیج فارس، جنوب شرق آفریقا، شمال استرالیا و امتداد سواحل شبه قاره ی هند تا فیلیپین، نواحی جنوبی ژاپن، جنوبشرق چین و تایوان) حضور دارد (Jean *et al.*, 2000; Hesp *et al.*, 2004).

تا کنون مطالعات محدودی روی تاثیرات انتقال از آب دریا به شوری های دیگر روی پاسخ های فیزیولوژیک در ماهیان دریایی انجام شده است. هدف این مطالعه، سنجش سازش های فیزیولوژیک (شامل تغییرات سطوح هورمون های کورتیزول و T_3) و ارزیابی اثرات انتقال ماهی از شوری آب دریا در خور موسی (شمال خلیج فارس، با شوری ۴۲٪) به شوری های کمتر هایپر و هایپوسموتیک (۲۰٪، ۵٪ و ۱٪) و شوری بالاتر (۶۰٪) است.

۲. مواد و روش کار

۲-۱. تامین ماهی و دوره عادت پذیری[3]

یک استوک از ماهی شانک زردباله، *A. latus* از ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی واقع در استان خوزستان در بهمن ۲۰۰۸ برای انجام مطالعه، تهیه شد. تمامی این ماهیان، یک ساله و متعلق به تکثیر بهمن ۲۰۰۷ در همین ایستگاه تحقیقاتی بودند و در تانک های ۶۰۰۰ لیتری مدور محتوی آب دریای فیلتر و تیمار شده با اشعه 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 ۳۰۰ لیتری (۴۰ عدد ماهی در هر تانک) قرار داده شدند. هرکدام از این تانک ها همانند تانک های ۶۰۰۰ لیتری از آب دریا پر شده بود (Movahedinia *et al.*, 2009). در این دوره و دوره آزمایش جهت پیشگیری از آلودگی ها و بیماری های احتمالی ماهی و تاثیر بر نتایج بافتی و فیزیولوژیک ناشی از تغییرات شوری، آب دریا علاوه بر فیلتر شدن و تیمار UV در مخازن ۱۵۰۰ لیتری، کلرزنی[4] و کلرزدایی[5] می شدند. بدین منظور ۲۴ ساعت قبل از افزودن آب به تانک های نگهداری ماهیان، کلر به مقدار ۲۰ppm در آن حل و یک ساعت قبل از انتقال با تیوسولفات سدیم[6] خنثی می شد (Fielder *et al.*, 2007). به این ماهیان فرصت داده شد تا به‌مدت ۲ هفته قبل از شروع اعمال

[1] Yellowfin seabream
[2] Protandrous hermaphroditic

[3] Acclimation
[4] Chlorinate
[5] Dechlorinate
[6] Sodium thiosulphate

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات شوری با شرایط سوله جدید و تانک ۳۰۰ لیتری محتوی آب دریا (۴۲٪، ۱۸/۱۰±۱۵۷۰ میلی اسمول بر کیلوگرم) تحت فتوپریود و دمای طبیعی عادت کنند تا از اثرات و اختلال بالقوه و احتمالی استرس جابه‌جایی روی تنظیم اسمزی اجتناب شود (Biswas *et al.*, 2006). تمامی تانک ها به گونه ای که حداقل آشفتگی در تانک ها ایجاد شود هوادهی می شدند (در حدود ۱۰۰۰ میلی لیتر در دقیقه). تنها در نوبت های غذادهی، هوادهی موقتاً قطع و سپس مجددا برقرار می شد (Movahedinia *et al.*, 2009).

شوری با استفاده از شوری سنج دیجیتال مدل Sension5 (Hach Company)، pH با دستگاه قابل حمل سنجش pH مدل TS1 (SUNTEX) و اکسیژن محلول با دستگاه دیجیتال اندازه گیری اکسیژن مدل DO-5510 بطور روزانه و به ترتیب در حد ۰/۱٪، ۰/۱واحد pH و ۰/۱میلی گرم برلیتر اندازه گیری می شد.

ماهیان دو بار در روز، در ساعات ۹ و 14:۳۰ با غذای مصنوعی[1] (پروتئین ۵۸٪، چربی ۱۳٪، کربوهیدرات ۱۰٪، فیبر ۵٪ و خاکستر ۷٪) به نسبت ۲ درصد وزن بدن برای هر روز تغذیه می شدند. پلت ها با توجه به اندازه ماهی به قطعات ۴-۷ میلی متری خرد و به تانک ها افزوده می شدند (Movahedinia *et al.*, 2009). پلت های مصرف نشده طی ۳۰ دقیقه پس از زمان های مذکور با سیفون نمودن از کف تانک ها حذف می شد تا مانع از آلودگی آب تانک گردد. حدود ۵۰ درصد آب تانک ها هر روز تخلیه و با آب جدید جایگزین می شد تا از تجمع آمونیاک و سایر متابولیت ها جلوگیری شود (Altinok *et al.*, 1998). 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 ۱ متری روی تانک ها کشیده شد (Fielder *et al.*, 2007).

۲-۲. تطابق ماهی ها با شوری های مختلف[2]

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 تطابق با شوری های ۵٪، ۲۰٪ و ۶۰٪ و تغییر تدریجی شوری برای تطابق با آب شیرین (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 کنترل مجددا با آب دریا پر شد. تانک های تیمارهای تطابق سریع، بلافاصله از آب با شوری های موردنظر (۵٪، ۲۰ ٪و ۶۰٪) پر شد ولی تانک های تطابق با آب شیرین در روز اول با آب ۳۵٪ پر شد و پس از آن به تدریج تغییر شوری در آن ها انجام شد (کاهش ۵ppt روزانه تا رسیدن به شوری ۵ ٪و سپس کاهش روزانه ۱ppt تا رسیدن به شوری ۱٪) (Movahedinia *et al.*, 2009). ترکیب یونی آب در شوری های مختلف در جدول۱ آمده است.

$[Na^+]$ و $[K^+]$ به روش شعله سنجی و $[Cl^-]$ و $[Ca^{2+}]$ به روش رنگ سنجی (به ترتیب با کیت های Shem enzyme و MAN) اندازه گیری شد.

تمامی گروه های تیمار و کنترل شامل ۳ تانک تکرار (در مجموع ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری) بود. شوری های مختلف با رقیق کردن توسط آب شهر فیلتر

[1] Artificial pellet

[2] Experimental period

www.SID.ir

Archive of SID

شده یا افزودن نمک طبیعی دریا به آب دریای فیلتر و تیمار UV شده در تانک های ذخیره تهیه شده و به همراه مخازن آب دریا و آب شیرین (۱٪) فیلتر شده به شیوه ای که در بخش ۲-۱ بیان شد با کلرزنی و کلرزدایی، ضد عفونی می شدند.

آزمایش به مدت ۲۱ روز انجام شد و غذادهی و حذف پلت های مصرف نشده در طول دوره آزمایش ادامه یافت. روز قبل از نمونه گیری، غذادهی ماهیان انجام نمی شد (Stefanson *et al.*, 1998). حدود ۵۰ درصد از آب هر تانک غروب هر روز (پس از غذادهی) تعویض می شد (Altinok *et al.*, 1998). اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی (شوری، pH و DO) در طول دوره آزمایش به صورت روزانه انجام می شد.

۲-۳. نمونه گیری از ماهیان و سنجش ها

از شانک ها در ۳ تانک در پایان دوره عادت پذیری (بلافاصله قبل از تغییر شوری ها در تانک ها)، جهت تعیین داده های زمان صفر، نمونه خون تهیه شد. نمونه گیری از خون در زمان های ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت و ۷ و ۲۱ روز پس از اعمال تغییرات شوری از تمامی تیمارهای تغییر سریع شوری (۵٪، ۲۰٪ و ۶۰٪) نیز صورت گرفت. تنها در مورد تیمار ۱٪ به دلیل تغییر تدریجی شوری نمونه گیری در کوتاه مدت (۱۲ و ۲۴ ساعت) انجام نشد.

برای نمونه گیری، حداقل سه ماهی از هر تیمار در هر زمان نمونه گیری بوسیله یک تور دستی گرفته شده و پس از بیهوشی، آب اضافی از سطح بدن آن ها بوسیله حوله نرم حذف می شد. وزن و طول چنگالی[1] هر ماهی با استفاده از ترازوی دیجیتال و تخته ی بیومتری (به ترتیب در حد ۰۱/۰g و ۱mm) اندازه گیری و ثبت می شد (Movahedinia *et al.*, 2009).

جهت ارزیابی سطوح هورمون ها در پلاسما، حداکثر ۲ دقیقه پس از گرفتن ماهی، ۱ml خون از رگ ساقه ی دمی (درست پشت باله ی مخرجی) توسط سرنگ ۲ml که با هپارین (۵۰۰۰IU/ml، محصول IPDIC، رشت) تیمار شده بود گرفته می شد. سپس سرسرنگ از سرنگ جدا و خون به آرامی به داخل لوله های مایکروسانتریفیوژ ۵/۱ml تیمار شده با هپارین منتقل می شد. خون به مدت ۱۰دقیقه با دور ۶۰۰۰rpm توسط دستگاه Hettich مدل D-7200 سانتریفیوژ می شد. پلاسما به لوله های اپندورف ۵/۱ml جدید منتقل می شد و تا زمان انجام سنجش های پلاسمایی در دمای ۵۰°C- نگهداری می شد.

۲-۴. سنجش کورتیزول و T_3 پلاسما

غلظت هورمون های کورتیزول و T_3 در پلاسما به روش رادیوایمونواسی[2] (RIA) با استفاده از کیت تجاری ImmunoTech (^{125}I RIA kit)، فرانسه) اندازه گیری شد. برای این کار ابتدا نمونه ها و مواد کیت حداقل یک ساعت قبل از شروع کار از یخچال خارج شود تا به دمای اتاق برسند. تمامی مواد قبل از استفاده با تکان دادن، یکنواخت شد. ۱۰µl از نمونه پلاسما یا استاندارد، به اضافه ۵۰۰µl هورمون (کورتیزول یا T_3) نشاندار به تیوب های موجود در کیت (که از قبل آنتی بادی هورمون مورد مطالعه به

[1] Fork length
[2] Radioimmunoassay

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار یکسان در تمامی تیوب ها به دیواره ی آن ها متصل شده است) اضافه و تیوب ها پس از ورتکس نمودن، به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و سپس محتوای تیوب ها خالی شده و با قرار دادن سروته آن ها بر روی کاغذ خشک کن به مدت ۲دقیقه، اجازه داده شد تا مایع درون آن ها کاملا خارج گردد. پس از خشک شدن تیوب ها، مقدار تشعشعات گامای آن‌ها در دستگاه شمارنده ی گاما LKB2 (فنلاند) اندازه گیری شد (Eckert *et al.*, 2001).

۲-۵. تجزیه و تحلیل آماری

دادهای مربوط به سطوح هورمون ها (کورتیزول، T_3) به صورت میانگین±خطای استاندارد بیان شده است. اختلاف بین این داده ها در تیمارهای مختلف در زمان های یکسان نمونه گیری و نیز مقایسه داده های یک تیمار در زمان های مختلف نمونه گیری با آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) در نرم افزار SPSS 11.5 انجام و در صورت وجود اختلاف معنی دار بین گروه ها، پس آزمون Duncan برای مقایسه دو به دوی داده ها استفاده شد و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵ درصد پذیرفته می شد (Schreiber and Specker, 2000).

۳. نتایج

۳-۱. داده های مرتبط با شانک و شرایط آزمایشی

شانک زردباله پس از چالش سریع با محیط های هایپو و هایپراسموتیک (۵٪، ۲۰٪ و ۶۰٪) و تطابق تدریجی با محیط هایپواسموتیک (آب شیرین) تا پایان دوره آزمایش تلفاتی در اثر تغییر شوری نداشت. همچنین طی آزمایش ماهی ها در تمامی شوری ها سالم به نظر می رسیدند.

با توجه به اندازه گیری فاکتورهای محیطی (ساعت ۱۹-۱۶ هر روز) میزان pH و اکسیژن محلول در طول دوره به ترتیب در محدوده ی ۶۳/۸ -۵۸/۷ و ۶/۴-۸/۶mg/l بود. شوری نیز همواره اندازه گیری و در حد مورد نظر برای هر تانک حفظ می شد.

میانگین وزن کل ماهیان نمونه گیری شده ۴۸/۰±۱۷/۳۰ گرم و طول چنگالی آن ها ۰۶/۰±۲۱/۱۱ سانتی متر بود (n=۱۲۱). بین وزن ماهیان تیمارهای مختلف در هیچ یک از زمان های نمونه گیری اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱). مقایسه بین طول چنگالی ماهیان نیز اختلاف معنی داری را بین نمونه های تیمارهای مختلف در هر زمان نمونه گیری نشان نداد (شکل ۲).

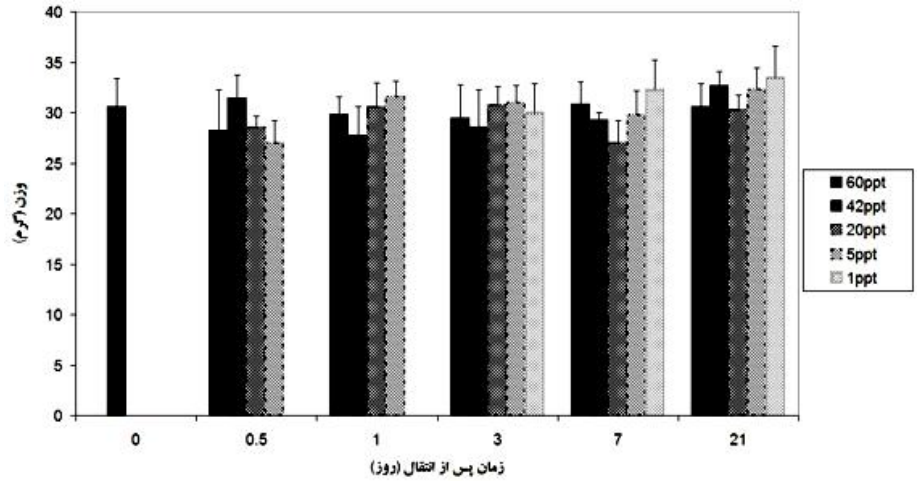
مقادیر غلظت یون های مهم در زمینه تنظیم اسمزی آبزیان در شوری های مورد آزمایش در شکل های ۳ و ۴ ارایه شده است. غلظت یون های کلر و سدیم مهم ترین به عنوان مهم ترین فاکتورهای یونی و تعیین کننده شوری آب با کاهش شوری، روند نزولی نشان دارد. یون های پتاسیم و کلسیم نیز همراه با رقیق تر شدن آب دریا کاهش یافت. اما اختلاف معنی داری در غلظت های این دو یون در پی افزودن نمک دریا و ساختن شوری ۱۵۰٪ آب دریا نسبت به آب دریا ایجاد نشد ($P<0/05$).

www.SID.ir

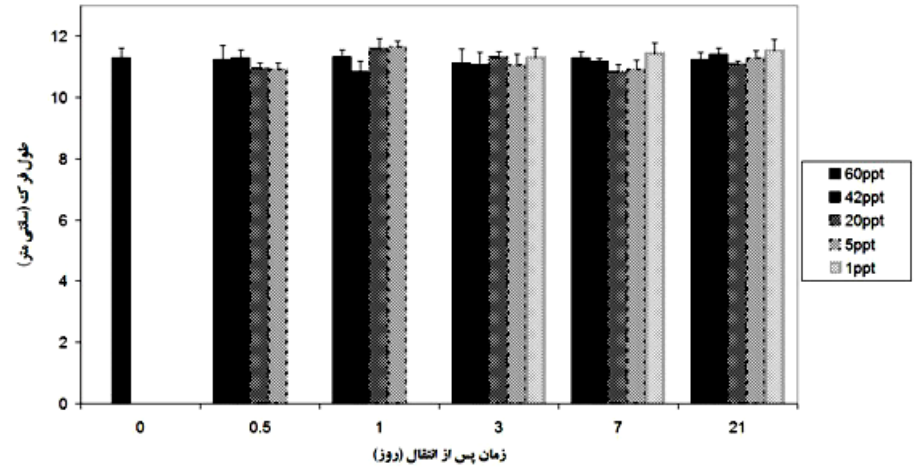
Archive of SID

جدول۱. ترکیب یونی آب در شرایط آزمایش

شوری (٪)	Na^{+} (mM)	Cl^{-} (mM)	Ca^{2+} (mg/۱۰۰ml)	K^{+} (mM)
٪۶۰	۳۷۰/۸۳±۲/۸۸	۱۰۵۹±۱۳/۲۳	۱۸/۷۵±۰/۶۷	۱۰/۶۰±۰/۳۲۹
٪۴۲	۲۹۳/۵±۱/۴۱	۶۱۱/۸۳±۲/۹۸	۱۹/۲۷±۱/۵۰	۱۱/۱۵۰±۰/۲۷۹
٪۲۰	۱۹۴/۱۷±۱/۴۱	۲۸۴/۱۷±۰/۹۵	۱۵/۹۳±۰/۰۲	۵/۷۵۰±۰/۱۳۱
٪۵	۸۵/۵±۲/۵۵	۸۰/۷۵±۰/۸۶	۱۰/۵۵±۰/۰۷	۱/۳۸۳±۰/۰۷۰
٪۱	۲۵±۱/۱۵	۴/۴۵±۰/۳۹	۶/۵۷±۰/۱۴	۰/۲۶۷±۰/۰۲۱



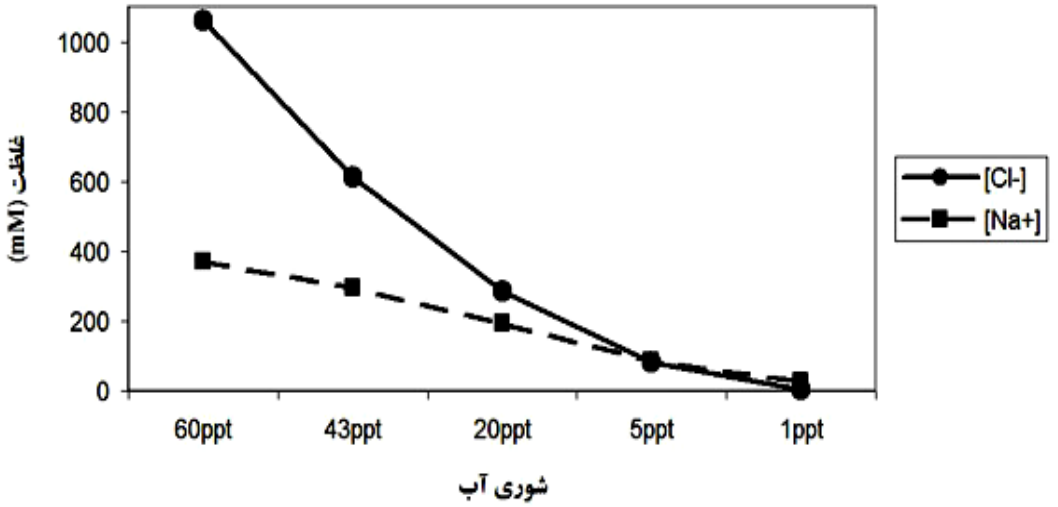
شکل ۱. میانگین وزن ماهیان در تیمارهای مختلف در زمان های نمونه گیری. اختلاف معنی داری بین وزن ماهیان در شوری های مختلف مشاهده نگردید ($P>۰۵/۰$). داده ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد ارایه شده است.



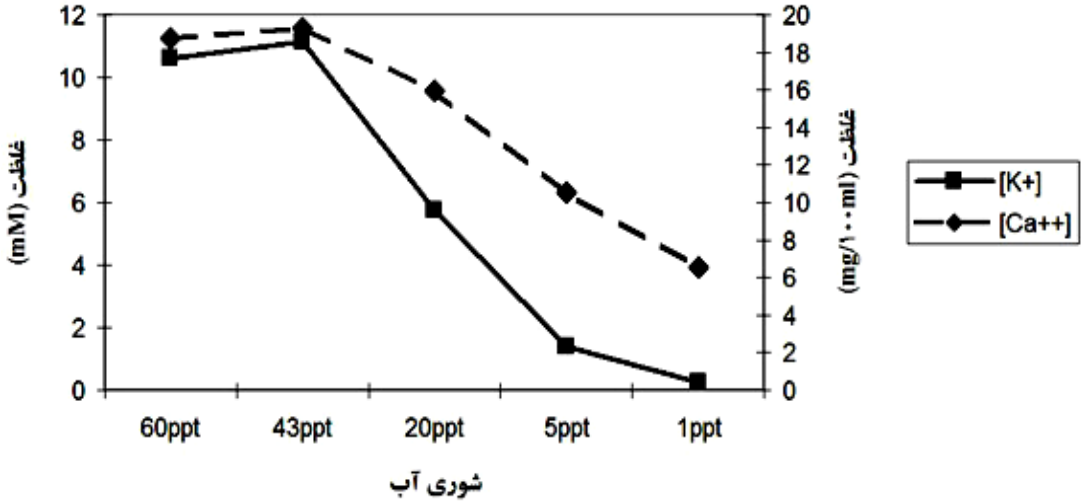
شکل ۲. میانگین طول چنگالی شانک در شوری های مورد مطالعه در زمان های مختلف. اندازه ماهیان در تیمارها در زمان های یکسان اختلاف معنی داری نداشت ($P>۰۵/۰$). داده ها به صورت میانگین±خطای استاندارد ارایه شده اند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. غلظت یون های کلر و سدیم (mM) در شوری های فراهم شده برای تطابق ماهی با شرایط مختلف شوری.



شکل ۴. غلظت یون های پتاسیم (mM) و کلسیم (mg/۱۰۰ml) در شوری های ۶۰٪، ۴۲٪، ۲۰٪، ۵٪ و ۱٪.

۳-۲-. هورمون ها

با اعمال شوری ۶۰٪، کورتیزول پلاسما پس از ۱۲ ساعت، به‌میزان معنی‌داری از تیمارهای کنترل و ۲۰ بیشتر بود. در این زمان سطح هورمون کورتیزول در تیمار ۵٪ اگرچه از مقادیر آن در ماهیان کنترل و محیط هایپراسموتیک رقیق شده (۲۰٪) بیشتر و از ۶۰٪ کمتر بود ولی با هیچ‌کدام از آن‌ها تفاوت معنی دار نداشت ($P>0.05$) (شکل ۵).

میانگین سطح کورتیزول خون در محیط ۱۵۰٪ شوری دریا (۶۰٪) پس از ۲۴ ساعت و روز سوم همچنان بیشتر از سایر تیمارها بود اما در روز هفتم و ۲۱ تفاوت معنی داری بین هیچ یک از تیمارها وجود نداشت. بدین ترتیب بالاترین مقدار اندازه گیری شده کورتیزول در این شوری مربوط به نمونه گیری پس از ۱۲ ساعت چالش با شوری جدید بود

www.SID.ir

Archive of SID

که تا روز سوم همچنان بالا باقی ماند اما از روز ۷ به سطوح عادی و همسان با سایر تیمارها بازگشت.

در شرایط سازش تدریجی با آب شیرین، سطوح هورمون کورتیزول پس از ۲۱ روز تفاوت معنی داری با تیمارهای تغییر سریع شوری در همین زمان نداشت.

سطوح هورمون T_3 در تیمار کنترل از ثبات بیشتری در مقایسه با هورمون کورتیزول برخوردار بود و روند یکنواخت تری را نشان داد. این هورمون اگرچه در ماهیان تطابق یافته با سایر شوری ها تغییراتی نشان می‌داد (شکل ۶) اما در هیچکدام از زمان های نمونه گیری در بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P>۰۵/۰$).

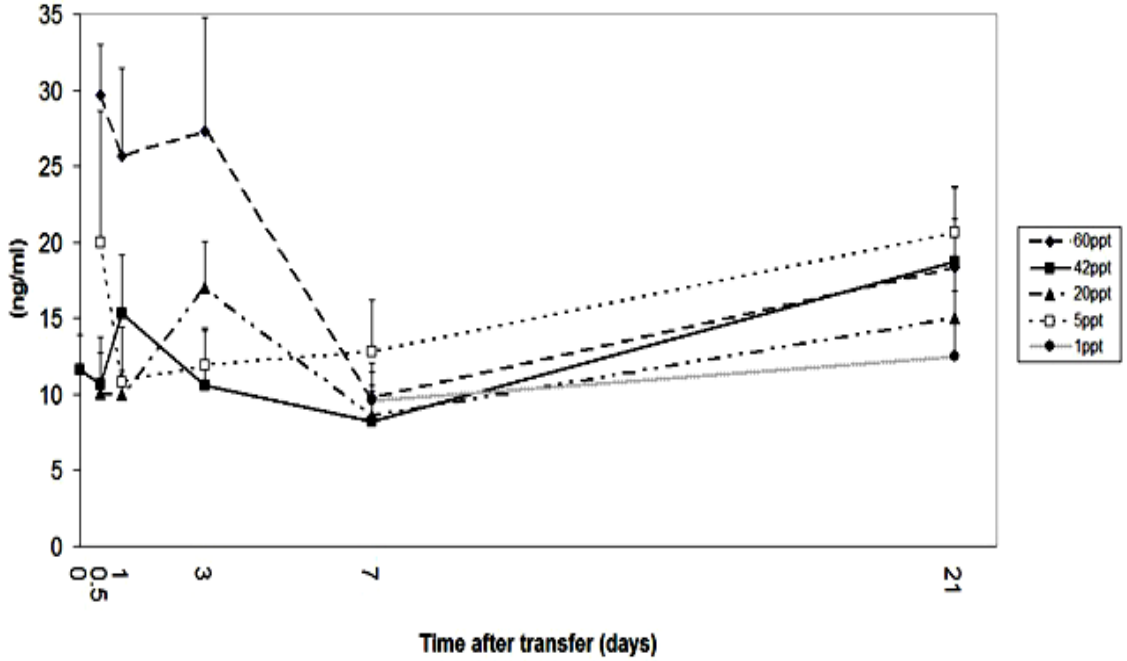
۴. بحث

در مطالعه حاضر سطح هورمون کورتیزول پس از انتقال به شوری بالاتر از آب دریا به سرعت افزایش یافت، به‌طوری‌که غلظت آن در خون ماهیان، ۱۲ ساعت پس از انتقال به آب دریای غلیظ شده، تفاوت معنی داری با نمونه های کنترل داشت ($P<۰۵/۰$). همچنین این مقدار در مقایسه با شوری ۲۰ افزایش معنی داری داشت. این سطوح افزایش یافته تا روز سوم پس از انتقال همچنان وجود داشت. اما بازگشت مقادیر آن به سطوح عادی از روز هفتم به بعد، نشان می دهد که ماهی شانک قادر است با بکارگیری مکانیسم های بافتی در پاسخ به افزایش شوری، با استرس وارد شده به خوبی مقابله نماید. این پاسخ های ثانویه می تواند شامل سازش های بافتی و سلولی در آبشش ، کلیه و روده و همچنین تغییر رفتار باشد (Kelly and Woo, 1999; Movahedinia *et al.*, 2009). نتایج مطالعه انتقال سفیدماهی آزاد (*Coregonus lavaretus*) از آب شیرین به آب دریا نیز نشان داد غلظت هورمون کورتیزول و فعالیت Na^+/K^+-ATPase پس از قرارگیری این ماهی در محیطی با شوری بیشتر افزایش می‌یابد که نشان دهنده ی به کار گیری مکانیسم های هایپواسمورگولاتوری در این ماهی می‌باشد (Madsen *et al.*, 1996).

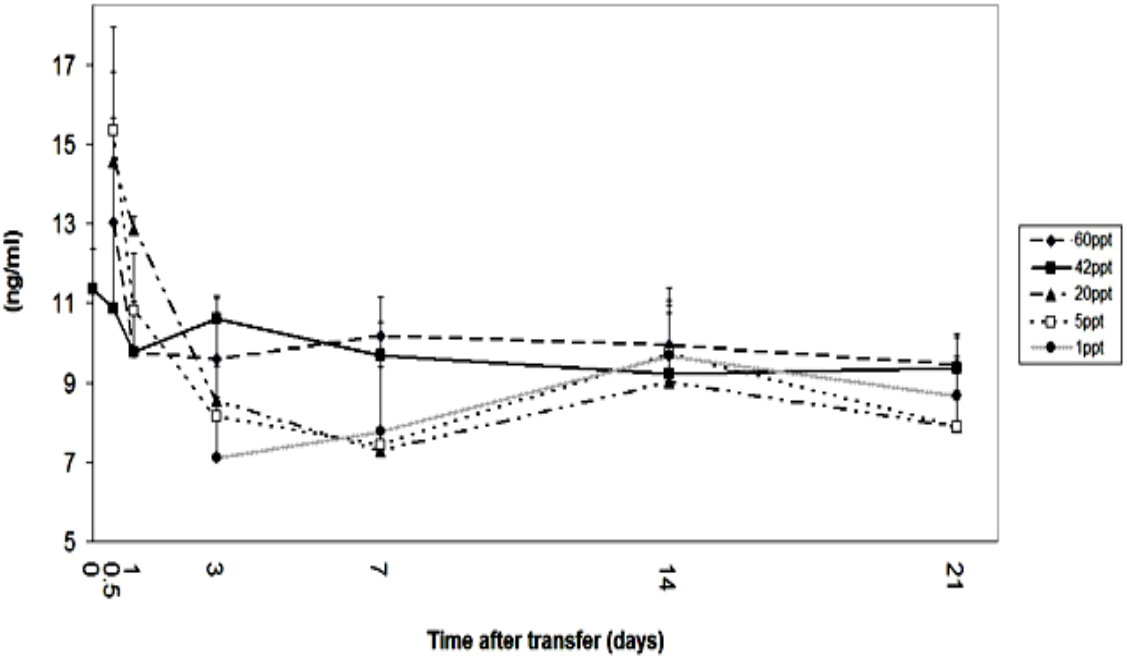
کورتیزول بطور کلاسیک یک هورمون ارتقای تطابق با آب شور توصیف شده است و مدارک نقش هیپواسمورگولاتوری کورتیزول در چندین گونه از ماهیان استخوانی نشان داده شده است. کورتیزول سطوح یونی و اسمولالیتی پلاسما را در ماهیان استخوانی سازگار شده با آب شور کاهش و مقاومت به شوری را پس از انتقال از آب با شوری کم به آب با شوری بالاتر را ارتقا می بخشد (Laiz-Carrion *et al.*, 2003). یکی از مکانیسم‌هایی که کورتیزول به وسیله آن در تطابق ماهی با آب شور فعالیت می‌کند، تحریک تمایز سلولی یونوسیت ها و فعالیت Na^+/K^+-ATPase آبششی است (McCormick, 1995). Na^+/K^+-ATPase، آنزیمی محوری در انتقال یون و تنظیم اسمزی است و عمل آن در اپی تلیوم آبشش و کلیه با سازگاری ماهی به آب دریا افزایش می یابد. هولوپروتئین Na^+/K^+-ATPase تترامری شامل دو زیرواحد α و دو زیرواحد β است (Baldisserotto *et al.*, 2007). همچنین سینرژیسم بین کورتیزول و هورمون رشد بر روی فعالیت Na^+/K^+-ATPase ، تعداد سلول های کلراید و مقاومت شوری در قزل آلای قهوه‌ای گزارش شده است (Madsen, 1990).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. تغییرات سطوح هورمون کورتیزول در سازش با شوری های محیطی مختلف.



شکل ۶. غلظت های هورمون T_3 پلاسمای شانک طی چالش سریع و تدریجی با شوری های محیطی مختلف (آب شیرین تا شوری ۶۰‰).

www.SID.ir

Archive of SID

علاوه بر این، سطوح هورمون کورتیزول در چالش سریع با محیط هایپواسموتیک، نسبت به نمونه های کنترل و ۲۰٪، در کوتاه مدت (۱۲ ساعت) افزایش نشان داد ولی افزایش آن نسبت به ۶۰٪ کمتر است. البته این افزایش کورتیزول پلاسما در تیمار ۵٪ تفاوت معنی داری با تیمارهای دیگر ندارد ($P>0/05$). مقادیر پلاسمایی کورتیزول در این تیمار در عرض ۲۴ ساعت به مقادیری مشابه ماهیان کنترل بازمی گردد و روند مشابه با آن را در ادامه ی دوره ی آزمایشی نشان می دهد. این نتایج نشان می دهد که کاهش شوری محیط به کمتر از میزان اسمولالیتی مایعات بدن ماهی، موجب افزایشی سریع و گذرا در ترشح کورتیزول می شود. با توجه به اینکه این افزایش در مقایسه با قرارگیری ماهی در شوری ۱۵۰٪ آب دریا کمتر است، می توان پیش بینی کرد که هورمون های دیگری مانند پرولاکتین در با همکاری کورتیزول در تنظیم یونی در محیط هایپواسموتیک کمک نموده و بدین ترتیب ماهی قادر به غلبه سریع بر استرس کاهش شوری می گردد. مک کورمیک و همکاران (۲۰۰۱) نیز علاوه بر نقش کلاسیک هیپواسمورگولاتوری کورتیزول نقش جدید از این هورمون در جذب یون در ماهی تطابق یافته با آب شیرین یا لب شور نیز پیشنهاد کرده اند. مک کورمیک نقشی دوگانه برای کورتیزول در تنظیم اسمزی پیشنهاد کرد، فعالیتی تحریکی بر دفع یون با همکاری محور GH/IGF-I در محیط های هایپراسموتیک و افزایش جذب یون با همکاری پرولاکتین در محیط های هایپواسموتیک (McCormick, 2001).

ماهی شانک در چالش سریع با محیط آب دریای رقیق شده (۲۰٪) تفاوت معنی داری با نمونه های کنترل نشان نمی دهد که نشان می دهد ویژگی های بافتی و مکانیسم های فیزیولوژیک ماهی در تنظیم هیدرومینرال پاسخگوی حفظ هومئوستاز بدن در شرایط شوری هایپراسموتیک کمتر از آب دریا نیز می باشد.

در سازش تدریجی ماهی با آب شیرین، با توجه به اینکه ماهی کاهش آرام و روزانه در شوری محیطی را طی ۱۰ روز تجربه می کند، فرصت کافی برای سازش با آب شیرین دارد و لذا استرس چندانی (با توجه به سطوح کورتیزول آن در مقایسه با نمونه های کنترل) متحمل نمی شود.

بررسی سطوح هورمون تیروئید (T_3) نشان می دهد با توجه به اینکه این هورمون در تحریک نرخ متابولیک پایه در جانوران نقش دارد (Baldisserotto *et al.*, 2007)، ماهی شانک زردباله در شرایط اسمزی مختلف (هایپواسموگولاتوری و هایپراسمورگولاتوری) بیشتر از آن که نیاز به افزایش متابولیسم و صرف انرژی بسیار بیشتر داشته باشد، نیازمند تنظیم مصرف انرژی و ایجاد تغییرات ساختاری در اندام های دخیل در تنظیم اسمزی، جهت حفظ هومئوستاز است. به نظر می‌رسد که هورمون های تیروئیدی در رفتار مهاجرتی نیز درگیر باشند و قسمتی از تغییرات سازش‌پذیری در جهت تنظیم‌اسمزی آزادماهیان در زمان مهاجرت به آب شور که با یک افزایش موقت در هورمون های تیروئیدی پلاسما در طول این انتقال همراه است، متأثر از آن است (Baldisserotto *et al.*, 2007).

به نظر می رسد در ماهیان مهم ترین هدف عمل T_3، Na^+/K^+-ATPase باشد. چندین مطالعه به عمل تنظیمی تیمار T_3 روی عملکرد Na^+/K^+-ATPase آبشش، کلیه و کبد ماهیان استخوانی اشاره دارند که نشانه ی حساسیت زیرواحدهای پمپ سدیم به T_3 است. این ویژگی، هورمون های تیروئیدی را یک

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین کننده مهم تنظیم اسمزی در برخی ماهیان استخوانی می سازد. در سالمونیدها، غلظت های تیروکسین مرتبط با فعالیت Na^+/K^+-ATPase آبششی شناخته شد. برعکس، فعالیت های این آنزیم در تعدادی از گونه های ماهیان استخوانی با تیمار T_3 یا T_4 تغییر نیافته یا حتی کاهش یافت. ماهی شانک می تواند بدون افزایشی چشمگیر در مقادیر T_3 خون، تحت تأثیر دیگر هورمون ها مانند کورتیزول سازش های بافتی لازم در تنظیم اسمزی را ایجاد کند و به این ترتیب با شریط شوری مختلف از آب شیرین تا محیط های بسیار شور سازش موفقی داشته باشد. البته مقایسه بین داده های مربوط به نمونه های قرارگرفته در شرایط آزمایش شده، افزایش این هورمون در صورت تغییر شوری محیطی را نسبت به نمونه های کنترل در کوتاه مدت نشان می دهد. البته این افزایش سریع در میزان T_3 خون، در بررسی آماری، تفاوت معنی داری بین تیمارها را نشان نمی دهد ($P<۰۵/۰$) و بازگشت آن به مقادیری مشابه نمونه های کنترل مبین همین مطلب است که حتی اگر شانک نیاز به متابولیسم بیشتر برای تطابق با شوری های مختلف داشته باشد، این نیاز تنها در ساعات اولیه پس از انتقال با افزایشی جزئی در T_3 همراه است و پس از آن با مکانیسم های دیگری تأمین می شود.

قدردانی

نویسندگان مقاله ی حاضر بر خود لازم می دانند از آقایان علی فلاحتی مروست، دکتر حیدری، صحرائیان و دکتر کیوان شکوه که در انجام مراحل مختلف پروژه و آقای مهدی ملکی که در سنجش های هورمونی ما را یاری نمودند تقدیر نمایند. همچنین از مدیریت و کارکنان ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی بخاطر تأمین ماهی و کمک در انجام پروژه قدردانی می شود.

منابع

Abou-Seedo, F. S., Dadzie S. and Al-Kanaan K.A. 2003. Sexuality, sex change and maturation patterns in the yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Teleostei: Sparidae) (Houttuyn, 1782). J. Appl. Ichthyol. 19: 65–73.

Altinok, I., Galli, S.M. and Chapman, F.A. 1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi*. Comp. Biochem. Physiol. A 120: 609–616.

Baldisserotto, B., Mancera, J.M. and Kapoor, B.G. 2007. Fish osmoregulation. Science Publishers, Enfield, USA. pp 527.

Barton, B.A. 2002. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. Integ. Comp. Biol. 42: 517-525.

Biswas, A.K., Seoka, M., Takii, K., Maita, M. and Kumai, K. 2006. Stress responses of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. Aquacult. 252: 566–572.

Boutet, I., Long Ky, C.L. and Bonhomme, F. 2006. A transcriptomic approach of salinity response in the euryhaline teleost, Dicentrarchus labrax. Gene 379: 40–50.

Chang, I.C., Lee, T.H., Yang, C.H., Wei, Y.Y., Chou, F.I. and Hwang, P.P. 2001. Morphology and Function of Gill Mitochondria-Rich Cells in Fish Acclimated to Different Environments. Physiol. Biochem. Zool. 74: 111–119.

Eckert, S.M., Yada, T., Shepherd, B.S., Stetson, M.H., Hirano, T. and. Grau, E.G 2001. Hormonal control of osmoregulation in the channel catfish *Ictalurus punctatus*. Gen. Comp. Endocrinol. 122: 270–286.

www.SID.ir

Archive of SID

hyposmotic exposure. J. . Fish Biol. 55: 732–750.

Laiz-Carrion, R., Sangiao-Alvarellos, S., Guzman, J.M., Martin del Rio, M.P., Miguez, J.M., Soengas, J.L. and Mancera, J.M. 2003. Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action. Fish Physiol. Biochem. 27: 179–188.

Lee, K.M., Kaneko, T., Katoh, F., and 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.

Madsen, M. 1990. The roll of cortisol and growth hormone in seawater adaptation of hypoosmoregulatory mechanism in sea trout parr. Gen. Comp. Endocrinol. 79:1-11.

Madsen, S.S., Larsen, B.K. and Jensen, F.B. 1996. Effects of freshwater to seawater transfer on osmoregulation, acid base balance and respiration in river migrating white fish (*Coregonus lavaretus*). J. Comp. Physiol. B 166: 101-109.

McCormick, S. D.1995. Hormonal control of gill Na K ATPase and chloride cell function. In: Wood C.M. and Shuttlewoth T.J. (eds) Cellular and Mollecular Approaches to fish Ionic Regulation. Fish. Physiology XIV. Academic Press, San Diego, CA. pp: 285-315.

McCormick, S.D. 2001. Endocrine control of osmoregulation in fish. Am. Zool. 41: 781–794.

Moron, S.E., Oba, E.T., De Andrade, C.A. and 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. 298: 93–104.

Movahedinia, A.A., Savari, A., Morovvati, H., Kochanian, P., Marammazi, J.G. and 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.

Sakamoto, K., Uchida, K. and Yokota, S. 2001. Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of

Evans, D.H. 2002. Cell signaling and ion transport across the fish gill epithelium. J. Expl. Zool. 293: 336–347.

Evans, D.H., Piermarini, P.M. and 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.

Fielder, D.S., Allan, G.L., Pepperall, D. and Pankhurst, P.M. 2007. The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. Aquacult. 272: 656–666.

Hazen, N., and Balment, R.G.1997. In: Evans, D.H. (ed.). The physioilogy of fishes. 2nd ed. CRC Press, BocaRaton, Florida. pp. 441-463.

Hesp, S.A., I.C. Potter and N.G. Hall, 2004. Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environ. Biol. Fish 70: 257–272.

Hirose, S., Kaneko, T., Naito, N.and Takei, Y. 2003. Molecular biology of major components of chloride cells. Comp. Biochem. Physiol. B 136: 593–620.

Hosoya, S., Johnson, S.C., Iwama, G.K., Gamperl, A.K. and Afonso, L.O.B. 2007. Changes in free and total plasma cortisol levels in juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) exposed to long-term handling stress. Comp. Biochem. Physiol. 146: 78-86.

Jean, C.T., Lee, S.C. and 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.

Jiang, S., Zhang, D., Li, J.and Liu, Z. 2008. Molecular characterization, recombinant expression and bioactivity analysis of the interleukin-1β from the yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). Fish Shellfish Immunol. 24: 323-336.

Kelly, S.P. and Woo, N.Y.S. 1999. The response of sea bream following abrupt

www.SID.ir

Archive of SID

teleost fishes to different salinities. Zool. Sci. 18: 1163–1174.

Schreiber, A.M. and Specker, J.L. 2000. Metamorphosis in the Summer Flounder, *Paralichthys dentatus:* Thyroidal Status Influences Gill Mitochondria-Rich Cells. Gen. Comp. Endocrinol. 117: 238–250.

Stefanson, S.O., Berge, A.I. and 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. Aquacult. 168: 271–277.

Xia, J.H., Xia, K.F. and Jiang, S.G. 2006. Characterization of 11 polymorphic microsatellite loci in the yellowfin seabream *Acanthopagrus latus*. Mol. Ecol. Notes 6: 484–486.

www.SID.ir