Archive of SID

مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تأثیر عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو بر رشد، بازماندگی و ریخت شناسی بافت آبشش ماهی آفانیوس *Aphanius dispar* در شرایط دمایی نرمال و استرس بلندمدت حرارتی

اعظم نوری سیبنی[1]، آرش اکبرزاده[1]*، احمد نوری[1]، پریا پرتو[2]، محمد اسدی[1]، علیرضا راضی[1]، مهدی مهدی پور[1]، مرتضی یوسف‌زادی[3]

[1]گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

[2]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه

[3]گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۰۲/۲۴
اصلاح: ۹۳/۰۷/۱۴
پذیرش: ۹۳/۰۷/۲۰

کلمات کلیدی:
آب گرم گنو
استرس دمایی
آفانیوس
سیانوباکتری

چکیده

در تحقیق حاضر تأثیر عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو بر رشد، بازماندگی و وضعیت ریختی بافت آبشش ماهی آفانیوس (*Aphanius dispar*) در شرایط دمایی نرمال و استرس بلندمدت حرارتی بررسی شد. به این منظور ۲۲۸ عدد ماهی به چهار تیمار شامل تیمار کنترل (دمای ۲۵°C) تیمار حرارت (دمای ۳۷-۴۰°C)، تیمار کنترل- سیانوباکتری و تیمار حرارت- سیانوباکتری تقسیم شدند. در پایان آزمایش در روز ۴۴، فاکتورهای رشد شامل ضریب رشد ویژه (SGR)، وزن به دست آمده (WG) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در ماهیان گروه کنترل و کنترل- سیانوباکتری به طور قابل ملاحظه و معنی‌داری بیشتر از تیمار حرارت و حرارت- سیانوباکتری بود (P<۰/۰۵). میزان بازماندگی ماهیان در تیمارهای کنترل و کنترل- سیانوباکتری در پایان آزمایش ۱۰۰ درصد بود، در حالیکه در تیمارهای حرارت و حرارت- سیانوباکتری بقای ماهیان به طور معنی داری کاهش پیدا کرد (P<۰/۰۵). ماهیان نگهداری شده در دمای ۳۷-۴۰°C تغییراتی در بافت آبشش شامل پرخونی و کوتاه شدن رشته‌های ثانویه را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که در شرایط دمایی مشابه با چشمه آب گرم، عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو باعث کاهش عملکرد فیزیولوژیک ماهیان شده و نتوانسته تحمل استرس حرارتی را در ماهی آفانیوس افزایش دهد.

مقدمــه

هنگامی که موجودات آبزی در جمعیت‌های طبیعی تحت شرایط استرس دمایی قرار می‌گیرند ممکن است به تدریج عامل استرس زا را تحمل کرده و در طی چندین نسل نسبت به آن سازگار شوند (Narum *et al.*, 2013). بسیاری از گونه‌های آبزیان با کمک مکانیسم‌های هموستازی خود قادرند تا حد زیادی استرس‌های محیطی را تحمل کنند. با اینحال در صورتی که آبزیان در مدت زمان طولانی در معرض عامل استرس‌زا قرار گیرند ممکن است دچار نقصان سریع در وضعیت فیزیولوژیک بدن خود

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: akbarzadeh@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

شوند (Dove *et al.*, 2005). استرس حرارتی یکنواخت می‌تواند در ماهیانی رخ دهد که ساکن محیط‌های آب گرم به خصوص چشمه های آب گرم هستند. ویژگی‌های زیستی چشمه‌های آب گرم متأثر از چندین عامل است که مهمترین آن دمای بالای آب است. یکی از بارزترین ویژگی‌های چشمه های آب گرم آن است که به دلیل گرمای زیاد آب معمولاً گونه‌های جانوری آب شیرین به ندرت قادر به سکونت در آن هستند. با این حال بعضی از گونه های ماهیان توانسته‌اند به خوبی نسبت به شرایط حاد دمایی چشمه های آب گرم سازگار شوند و در آن بقاء یابند. حضور گونه‌های انگشت شماری از کپورماهیان، کپورماهیان دندان‌دار و سیچیلایدها در چشمه‌های آب گرم گزارش شده است (Coad, 1980; Piazzini *et al.*, 2010; Tutar and Okan, 2012).

ماهی آفانیوس ساکن در اکوسیستم‌های آبی ایران و به خصوص در جنوب کشور معمولاً در شرایط پر از استرس و در محیط‌های آبی با تغییرات شدید درجه حرارت، شوری و اکسیژن به زندگی خود ادامه می‌دهند. در پاره‌ای موارد، گونه‌هایی از ماهی آفانیوس به طور مداوم در معرض استرس حرارتی هستند. بارزترین مثال در این زمینه ماهی آفانیوس گنو (*Aphanius ginaonis*) است که تنها گونه ماهی ساکن در چشمه آب گرم گنو بوده و توانسته نسبت به شرایط استرس حرارتی دائم این اکوسیستم آبی سازگار شود. درجه حرارت این چشمه به طور ثابت بین ۳۷ تا ۴۰ درجه سانتیگراد بوده و اکسیژن محلول آن زیر ۱/۳ میلی گرم در لیتر است. این فرضیه مطرح است که منشأ ماهی آفانیوس گنو همان گونه آفانیوس دیسپار (*A. dispar*) است که سالها قبل وارد این چشمه شده و در آنجا ساکن شده است (Hrbek and Meyer, 2003). ماهی آفانیوس یک ماهی همه چیز خوار است و بیشتر از لارو پشه و حشرات تغذیه می‌کند (Haas and Pal, 1984). با اینحال این ماهی در چشمه آب گرم گنو بیشتر از سیانوباکتری‌ها تغذیه می‌کند، چرا که سرتاسر بستر چشمه آب گرم گنو پوشیده از سیانوباکتری‌هاست و در نتیجه فراوانترین غذای ماهی آفانیوس گنو در این چشمه را سیانوباکتری ها تشکیل می‌دهند (باقری دهباز و همکاران، ۱۳۹۳).

دانستن مکانیسم‌های بیولوژیک، فیزیولوژیک و رفتاری سازگار شدن ماهی آفانیوس گنو در شرایط سخت محیطی چشمه آب گرم گنو می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. به خصوص آنکه منشأ ماهی آفانیوس گنو را گونه *A. dispar* می دانند که سالها قبل وارد این چشمه شده و در آنجا ساکن شده است (Hrbek and Meyer, 2003). در تحقیق حاضر سعی شد تا با شبیه‌سازی شرایط محیطی چشمه آب‌گرم گنو از نظر دمایی در شرایط آزمایشگاهی، تأثیر عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو بر رشد، بازماندگی و وضعیت ریختی بافت آبشش ماهی آفانیوس در شرایط دمایی نرمال و استرس بلندمدت حرارتی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پروژه به مدت ۴۴ روز در آزمایشگاه آبزی پروری دانشگاه هرمزگان انجام شد. به این منظور ۱۲ تانک ۱۰۰ لیتری و ۵ تانک ۳۰۰ لیتری ضد عفونی و آبگیری شدند. ماهیان آفانیوس مورد بررسی از کانال‌های آب موجود در داخل محوطه دانشگاه هرمزگان (۲۷/۲۶ °N, ۵۶/۴۳ °E) به وسیله تور و ساچوک صید شده و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ماهیان پس از سازگاری شوری به تانک‌های ۳۰۰ لیتری برای سازگاری با شرایط آزمایشگاه انتقال داده شدند. ۱۰ روز جهت سازگاری ماهیان در نظر گرفته شد. پس از آماده سازی تانک های ۱۰۰ لیتری ماهیان با کمترین استرس و دستکاری به این تانک‌ها انتقال داده شدند. به طوریکه ۲۲۸ عدد ماهی به چهار تیمار شامل تیمار کنترل (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) تیمار حرارت (دمای ۴۰-۳۷ درجه سانتیگراد)، تیمار غذای حاوی عصاره سیانوباکتری با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و تیمار غذای حاوی عصاره سیانوباکتری با دمای ۴۰-۳۷ درجه سانتیگراد تقسیم شدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. به طوریکه در هر تیمار تعداد ۵۷ عدد ماهی به طور مساوی در سه مخزن ۱۰۰ لیتری مورد آزمایش قرار گرفتند. دمای آب تیمارهای حرارتی با استفاده از بخاری‌های مجهز به ترموستات به دمای مورد نظر رسانیده و ثابت نگه داشته شد.

www.SID.ir

Archive of SID

به منظور به دست آوردن عصاره سیانوباکتری، در ابتدا سیانوباکتریها از چشمه آب گرم گنو به آزمایشگاه انتقال داده شد و بعد از پاکسازی آن از مواد اضافه داخل حلال متانول قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت حلال حاوی سیانوباکتری از کاغذ صافی عبور داده شد، میزان ماده موثره آن بررسی و به میزان ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر در حلال اتانول حل گردید. عصاره سیانوباکتری به نسبت ۱٪ وزن بدن به غذا اسپری گردید. همچنین برای جلوگیری از اینکه در نتیجه آزمایش اشتباهی رخ ندهد به غذای تیمارهای کنترل نیز حلال اتانول اسپری گردید. ماهیان با استفاده از غذای بیومار پودری غذادهی شدند. میزان مواد مغذی در این غذا به صورت زیر بوده است: پروتئین ۴۷ درصد، چربی ۷ درصد، رطوبت ۹ درصد، فیبر ۲/۵ درصد. غذادهی دوبار در روز و تاحد سیری انجام گرفت. pH، دما، و میزان اکسیژن هر تانک با استفاده از دستگاه مولتی متر ۳ بار در روز اندازه گیری شد. جهت تغییر نکردن فاکتورهای کیفی آب هر روز صبح بعد از غذا دهی کف تانکها سیفون می‌شد تا آمونیاک آب بالا نرود. نتایج مربوط به پارامترهای کیفی آب در جدول ۱ آورده شده است.

به منظور سنجش میزان رشد ماهیان، بیومتری شامل وزن بدن به صورت ۱۱ روز یک بار انجام گرفت در این خصوص تمام ماهیان تکرارهای مختلف تیمارهای غذایی توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، وزن شدند و طول این ماهیها به وسیله‌ی خط‌کش بیومتری اندازه‌گیری شد. یک وعده قبل از بیومتری و یک روز بعد از آن غذادهی صورت نگرفت تا میزان استرس وارده به آنها و احتمال تلفات کاهش یابد. پس از اتمام دوره پرورش، برای بررسی عملکرد رشد، در تیمارهای مختلف، فاکتورهای زیر محاسبه شد:

درصد افزایش وزن (WG%) = (میانگین وزن نهایی بدن – میانگین وزن اولیه بدن) / وزن اولیه ×۱۰۰

نرخ ویژه رشد (SGR) = $[(\ln bw2) - (\ln bw1)/(T2) - (T1)] \times ۱۰۰$

که در آن bw1 و bW2 به ترتیب نشان دهنده وزن اولیه و نهایی، و T2 - T1 مدت زمان آزمایش به روز است.

نرخ تبدیل غذا (FCR) = کل غذای استفاده شده ماهی (g) / کل وزن تر افزایش یافته (g)

فاکتور وضعیت (CF) = $(bw/sl^3)*۱۰۰$

که در آن bw وزن مرطوب بدن g و sl طول استاندارد cm است.

نرخ بقا (٪) = (تعداد ماهیانی که زنده ماندند/تعداد اولیه ماهی) ×۱۰۰

به منظور عملیات بافت شناسی، ۵ نمونه از ماهی آفانیوس موجود در هر تیمار در انتهای آزمایش برداشته شد. سپس نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین بافره ۱۰٪ و پس از آن به فرمالین بافره ۵ درصد انتقال داده شدند. برای سهولت انجام مراحل برش ماهیان فیکس شده برای کلسیم‌زدایی در محلول EDTA قرار داده شدند تا بافت نرم و برای برش آماده شود. بعد از آماده شدن نمونه‌ها ابتدا آنها را آبگیری کرده و پس از تهیه قالب به کمک دستگاه میکروتوم دورانی مقاطعی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. سپس برشها بر روی لام آغشته به آلبومین قرار گرفت و با رنگ‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد. در نهایت لامها با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

داده های به دست آمده برای بررسی تاثیرات تیمارهای غذایی و دمایی بر فاکتورهای رشد و بازماندگی مورد آنالیز آماری قرار گرفت. در این پروژه، از نرم افزارهای Excel، Sigmaplot و SPSS برای رسم نمودارها و تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. نتایج به صورت میانگین و خطای استاندارد (mean±SE) نشان داده شد. پس از آزمودن نرمال بودن داده ها، جهت مقایسه‌های آماری از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون چند دامنه دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایــج

وضعیت پارامترهای کیفی آب در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج پارامترهای رشد ماهی آفانیوس در تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱. میانگین پارامترهای کیفی آب در تیمارهای مختلف در طول ۴۴ روز (انحراف معیار ± میانگین)

تیمار	دما	اکسیژن محلول	pH
کنترل	۲۴/۱±۰/۱	۶/۷±۰/۱	۸/۲۷±۰/۰۲
استرس دمایی	۳۸/۷±۰/۳	۵/۱±۰/۱	۸/۳۳±۰/۰۵
سیانوباکتری	۲۴/۱±۰/۱	۶/۶±۰/۱	۸/۲۷±۰/۰۲
سیانوباکتری حرارت	۳۸/۱±۰/۳	۵/۰۱±۰/۱	۸/۳۱±۰/۰۵

جدول ۲. نتایج مربوط به SGR، WG، CF و FCR و درصد بقای ماهیان آفانیوس نگهداری شده در ۴ تیمار مختلف در مدت زمان ۴۴ روز (خطای استاندارد ± میانگین). جهت مقایسه‌های آماری از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ استفاده شد. اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار هستند ($p>۰/۰۵$).

پارامتر	تیمار/روز	کنترل	حرارت	کنترل_ سیانوباکتری	حرارت_ سیانوباکتری
WG (%)	روز ۱۱	۱۵/۵۶±۲/۱۸(b)	-۱/۱۵±۲/۶۸(a)	۴/۵۷±۲/۸۲(ab)	-۵/۹±۳/۳۲(a)
	روز ۲۲	۱۵/۰±۶/۳۸(bc)	-۷/۵۴±۷/۵۵(ac)	۱۸/۹۶ ±۳(b)	-۱۱/۱۲±۴/۰۵(a)
	روز ۳۳	۲۲/۰۸±۵/۴۰(b)	-۳/۸۷±۶/۲۸(a)	۲۱/۵۹±۳/۵۵(b)	-۶/۹۳±۲/۰۵(a)
	روز ۴۴	۲۳/۷۴±۷/۵۱(b)	۰/۵۹±۳/۴۷(a)	۲۴/۵۹±۲/۱۳(b)	-۴/۶۶ ±۱(a)
SGR	روز ۱۱	۱/۴۴ ±۰/۱۹(b)	-۰/۱۲±۰/۲۷(a)	۰/۴۴±۰/۱۹(ba)	-۰/۶۲±۰/۰۴(a)
	روز ۲۲	۰/۶۵ ±۰/۲۷(ab)	-۰/۴۱±۰/۴۱(ab)	۰/۸۳±۰/۲۷(b)	-۰/۵۷ ±۰/۳۵(a)
	روز ۳۳	۰/۶۲ ±۰/۱۴(c)	-۰/۱۴ ±۰/۲۱(a)	۰/۶۱±۰/۱۲(bc)	-۰/۲۳±۰/۲۱(a)
	روز ۴۴	۰/۴۹±۰/۱۴(b)	۰/۰۱±۰/۰۸(a)	۰/۵۱ ±۰/۰۹(b)	-۰/۱۱±۰/۰۷(a)
FCR	روز ۱۱	۱/۲۲±۰/۰۸ (a)	-۷/۵۶±۱/۲۴ (a)	۱۴/۳۶±۱/۰۶ (a)	-۹۴/۱۵±۹/۱۹ (a)
	روز ۲۲	۵/۲۱±۳/۲۲(b)	-۳/۸۱±۳/۰۴(a)	۲/۲۶±۰/۳(ab)	۱/۰۰ ±۰/۳۵(ab)
	روز ۳۳	۴/۷۵±۱/ ۹۳ (a)	-۱/۸۵±۱/۱۶ (a)	۴/۱۱±۰/ ۷۱ (a)	-۰/۸±۰/ ۱۷ (a)
	روز ۴۴	۶/۹۰±۳/۵۷(b)	-۱/۰۷±۰/۴۰(a)	۴/۲±۰/۴۱(ab)	-۰/۷±۰/۰۹(a)
CF	روز ۱۱	۲/۰±۰/۴۲ (a)	۱/۷۰±۰/ ۰۱ (a)	۱/۷۵±۰/۰۲ (a)	۱/۶۴±۰/۰۱ (a)
	روز ۲۲	۵/۲۱±۳/۲۲(b)	۱/۶۶±۰/۰۷(a)	۱/۸۹±۰/۰۰۳(b)	۱/۵۳±۰/۰۲(a)
	روز ۳۳	۴/۷۵±۱/۹۳(b)	۱/۷۰±۰/۰۶(a)	۱/۸۵±۰/۰۳(b)	۱/۵۸±۰/۰۱(a)
	روز ۴۴	۶/۹۰±۳/۵۷(b)	۲/۰۲±۰/۰۵(b)	۱/۸۹±۰/۰۳(b)	۱/۶۹±۰/۰۵(a)
درصد بقا	روز ۱۱	۱۰۰/۰±۰/۰ (a)	۹۴/۷±۵/۳ (a)	۱۰۰/۰±۰/۰ (a)	۹۸/۲±۱/۸ (a)
	روز ۲۲	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۶۱/۴±۱۹/۸ (a)	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۶۸/۴±۸/۰ (ab)
	روز ۳۳	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۵۰/۹±۲۱/۳ (a)	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۵۰/۹±۴/۶ (a)
	روز ۴۴	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۴۰/۴±۱۶/۷ (a)	۱۰۰/۰±۰/۰ (b)	۳۵/۱±۱/۸ (a)

www.SID.ir

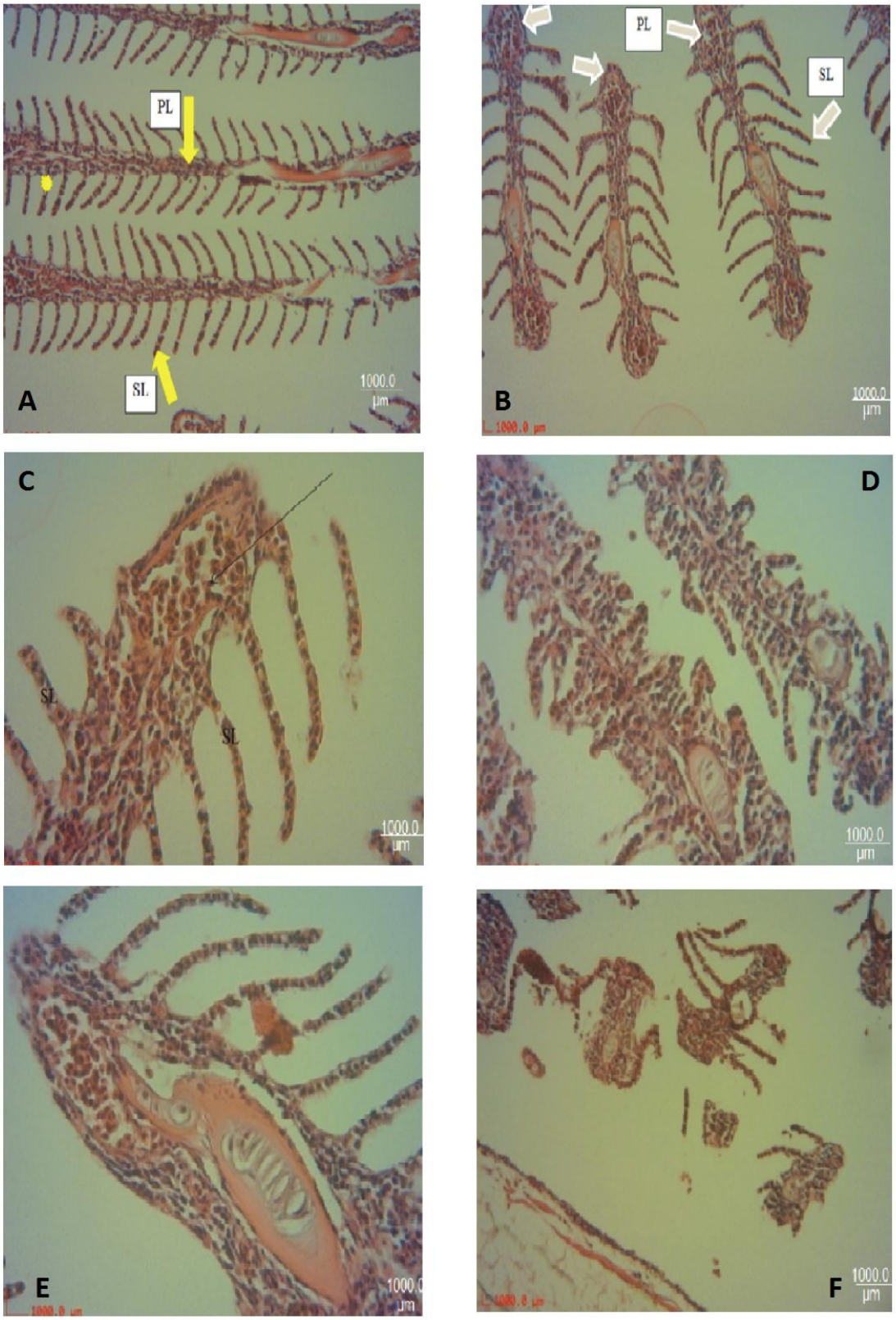
Archive of SID

درصد افزایش وزن ماهیان در پایان روز ۴۴ برای ماهیان گروه کنترل و کنترل- سیانوباکتری به ترتیب ۲۳/۷۴ و ۲۴/۵۹ بود. حال آنکه درصد افزایش وزن ماهیان تیمار حرارت و حرارت- سیانوباکتری به طور قابل ملاحظه و معنی داری (P<۰/۰۵) کمتر بود. به طوریکه درصد افزایش وزن ماهیان تیمار حرارت و حرارت- سیانوباکتری در تمامی روزهای ۱۱، ۲۲، ۳۳ و ۴۴ نزدیک به صفر و یا منفی بود. نتایج نرخ رشد ویژه (SGR) نشان داد که در پایان آزمایش میزان SGR در ماهیان گروه کنترل و کنترل- سیانوباکتری به طور قابل ملاحظه و معنی داری (P<۰/۰۵) بیشتر از تیمار حرارت و حرارت- سیانوباکتری بود. همانند درصد افزایش وزن، میزان نرخ رشد ویژه در ماهیان تیمار حرارت و حرارت- سیانوباکتری در تمامی روزهای ۱۱، ۲۲، ۳۳ و ۴۴ نزدیک به صفر و یا منفی بود (جدول ۲). ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تمام تیمارهای مورد بررسی در طول دوره اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). FCR تیمار کنترل و حرارت در روزهای ۲۲ و ۴۴ تفاوت معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای کنترل و کنترل- سیانوباکتری و همچنین حرارت و حرارت- سیانوباکتری تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان نداد (P>۰/۰۵). فاکتور وضعیت (CF) در روزهای مختلف بیومتری در تیمارهای کنترل، کنترل- سیانوباکتری و حرارت- سیانوباکتری اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) و فقط CF روز ۴۴ تیمار حرارت با بقیه‌ی روزهای آن متفاوت بود (P<۰/۰۵). در مقایسه بین تیمارها، تیمار کنترل و حرارت در روز ۲۲ و ۳۳، و تیمار حرارت با حرارت- سیانوباکتری در روز ۴۴ اختلاف معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). تیمار کنترل و کنترل- سیانوباکتری از این نظر اختلافی نداشتند (P>۰/۰۵). درصد بقای ماهیان در تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. بقای ماهیان مورد آزمایش در روز ۱۱، ۱۰۰ درصد بوده و بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). در روز ۲۲ در کل اختلاف معنی داری مشاهده نشد، اما دو به دو اختلاف معنی دار داشتند (P<۰/۰۵)، در این روز تیمار کنترل با حرارت تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). در روزهای ۳۳ و ۴۴ تیمارهای کنترل و کنترل- سیانوباکتری و همچنین حرارت با حرارت- سیانوباکتری تفاوت قابل ملاحظه ای نشان ندادند ولی تیمار کنترل و حرارت از این نظر تفاوت معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵).

در نتایج بافت شناسی آبشش هیچ ضایعه‌ی پاتولوژیکی در بافت آبشش گروه کنترل مشاهده نشد (شکل ۱A). در تیمار کنترل- سیانوباکتری شاهد پرخونی رشته‌های اولیه بودیم (شکل ۱B). در تیمار حرارت پرخونی و کوتاه شدن رشته های ثانویه مشاهده شد (شکل ۱C). در تیمار حرارت سیانوباکتری از دست رفتن شکل طبیعی لامیناهای آبشش‌ها، هیپرتروفی و بزرگ شدن پیلارسل‌ها (Pillar cell)، از بین رفتن نظم لامینای ثانویه، هیپرپلازی و هیپرتروفی سلولهای اپی‌تلیال در رشته‌های ثانویه (شکل ۱D)، پرخونی شدید در رشته های اولیه (شکل ۱E) و از دست دادن لامینای ثانویه (شکل ۱F) مشاهده شد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. بافت آبشش ماهی آفانیوس پس از گذشت ۴۴ روز از شروع آزمایش. A: تیمار کنترل، PL (لامینای اولیه) و SL (لامینای ثانویه) B: تیمار کنترل- سیانوباکتری، فلش پرخونی را نشان می دهد. C: تیمار حرارت، فلش پرخونی را نشان می دهد. D، E و F: تیمار حرارت- سیانوباکتری. D: هیپرپلازی و هیپرتروفی سلولهای اپی تلیال در رشته‌های ثانویه، هیپرتروفی و بزرگ شدن پیلار سل‌ها- از بین رفتن نظم لامینای ثانویه و از دست رفتن شکل طبیعی لامینای آبشش ها. E: پرخونی شدید. F: از دست دادن لامینای ثانویه.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شرایط دمایی بالا در مدت زمان طولانی، رشد ماهی گونه *A. dispar* را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. به طوریکه در پایان آزمایش اغلب فاکتورهای رشد کاهش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند. فاکتورهایی از قبیل نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در تیمار حرارت مقادیر منفی یا نزدیک به صفر را نشان دادند. این نتایج نشان دهنده منفی بودن رشد ماهی آفانیوس در شرایط دمایی بالا مشابه با آنچه که در چشمه آب گرم گنو وجود دارد می باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که محدوده دمایی ۳۷-۴۰ درجه سانتیگراد مشابه با دمای چشمه آب گرم گنو می تواند برای ماهی آفانیوس استرس زا باشد.

در موجودات خونسرد میزان فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌تواند در جهت جبران بعضی تغییرات دمایی تنظیم گردد. در ماهیان سازش‌های دمایی عموماً با تغییرات متابولیکی تعیین می‌گردد که در طی آن یک مرحله آغازین استرس دمایی وجود دارد و پس از آن با یک جبران تدریجی همراه است. تغییرات در متابولیسم کربوهیدراتها مانند گلوکز خون می‌تواند به عنوان یک شاخص استرس در نظر گرفته شود. در موجودات خونسرد مکانیسم های فیزیولوژیکی می‌تواند مقدار کمی از تغییرات دمایی را جبران کند. تغییر دما بر سیالیت غشای چربی، فعالیت پروتئین‌ها و ثبات دو رشته DNA مؤثر است (Hochachka and Somero, 2002). از آنجا که این اثرات حرارتی نتایج مهمی برای عملکرد سلولی دارند، موجودات آبزی معمولاً سازگاری‌های تکاملی گسترده‌ای نشان می‌دهند که حد مطلوب دمایی را برای آنها مشخص می‌کند. همچنین موجودات توانایی ایجاد تغییرات فنوتیپی در پاسخ به تغییرات دمایی را در طی دوره زندگی خود دارند (Podrabsky and Somero, 2004).

مطالعات مختلف نشان داده است که افزایش دمای آب بیشتر از دامنه مطلوب دمایی در ماهیان و آبزیان خونسرد دیگری نظیر خرچنگ‌ها باعث کاهش رشد گردیده است. به عنوان مثال بچه ماهیان کپور هندی *Labeo rohita* در دمای ۳۶ درجه سانتیگراد پایین ترین نرخ رشد ویژه را در مدت زمان ۳۰ روز نسبت به دماهای ۲۶، ۳۱ و ۳۳ درجه سانتیگراد از خود نشان دادند (Das *et al*., 2005). همچنین Dove و همکاران (۲۰۰۵) بررسی‌هایی در مورد اثر استرس حرارتی طولانی مدت بر خرچنگ آمریکایی، *Homarus americanus* انجام دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که درجه حرارت در اواخر تابستان اثرات زیانباری در فیزیولوژی خرچنگ دریایی داشته است و ممکن است در دراز مدت برای بقای خرچنگ نامناسب شود.

در این مطالعه برای نخستین بار اثرات سیانوباکتری استخراج شده از چشمه های آب گرم بر رشد، بقاء و پاسخ‌های فیزیولوژیک یک گونه از ماهیان مورد تحقیق قرار گرفت. استفاده از عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو تغییر معنی داری در اغلب فاکتورهای رشد ماهی آفانیوس ایجاد نکرد. با این حال در شرایط استرس حرارتی، اثرات کمی در برخی از فاکتورهای رشد مشاهده شد که اغلب منفی بود. به طوریکه درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در ماهیانی که در شرایط استرس حرارتی با جیره حاوی سیانوباکتری تغذیه می‌شدند کمتر از ماهیانی بود که در شرایط استرس حرارتی با غذای عادی تغذیه می‌شدند. همچنین میزان فاکتور وضعیت در ماهیانی که در شرایط استرس حرارتی با جیره حاوی سیانوباکتری تغذیه می‌شدند به طور معنی داری کمتر از ماهیانی بود که در شرایط استرس حرارتی با غذای عادی تغذیه می‌شدند. درصد بقا نیز در شرایط استرس حرارتی در ماهیانی که با جیره حاوی سیانوباکتری تغذیه شدند کمی کمتر از تیمار حرارت بود. با اینحال در شرایط دمایی نرمال ۱۰۰٪ ماهیانی که با جیره حاوی سیانوباکتری تغذیه شدند زنده ماندند.

امروزه تحقیقات در زمینه استفاده از سیانوباکتری‌ها در جیره غذایی آبزیان رو به گسترش است و از این رو دانستن اثرات مثبت و منفی استفاده از این جلبک‌ها بر سلامتی و مکانیسم های فیزیولوژیک آبزیان بسیار حائز اهمیت است، به خصوص آنکه پاره‌ای از این جلبک‌ها می‌توانند حاوی ترکیبات سمی مضر برای آبزیان باشند. مطالعات گذشته نشان دادند که قرار گرفتن در معرض سیانوباکتری از طریق سیستم معده‌ای می تواند باعث اثرات سمی روی بسیاری از گونه‌های ماهیان شود (Tencalla and Dietrich, 1997; Fischer and Dietrich, 2000; Mohamed and Hussein, 2006). با این حال، تحقیقات

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف نشان داده که رژیم غذایی غنی شده با جلبک در پرورش ماهی می تواند موجب افزایش رشد و بهره وری غذایی، بهبود در فعالیت‌های فیزیکی، پاسخ استرسی، سازگاری گرسنگی و مقاوت در برابر بیماری شود. مشخص شده است که سیانوباکتری‌ها می‌توانند یکی از اجزای مهم رژیم غذایی برای بسیاری از گونه‌های ماهیان مثل تیلاپیا باشند (Zurawell *et al.*, 2005). به طوریکه مصرف رژیم غذایی حاوی سیانوباکتری می‌تواند میزان رشد تیلاپیا را افزایش دهد. همچنین Abdel-tawwab و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* حاوی اسپیرولینا (۱۰-۵ g/kg) به طور معنی‌داری رشد بهتری داشته است. با این حال، استفاده از سیانو باکتری در جیره غذایی ماهی سفید Coregonid باعث کاهش رشد در این گونه شده است (Ernst *et al.*, 2007).

ماهیان آفانیوس نگهداری شده در محدوده دمایی ۴۰-۳۷ درجه سانتیگراد مشابه با دمای چشمه آب گرم گنو در مطالعه‌ی حاضر تغییراتی در بافت آبشش نسبت به ماهیان گروه کنترل نشان دادند. این تغییرات شامل پرخونی و کوتاه شدن رشته‌های ثانویه آبشش بود. از سوی دیگر، استفاده از عصاره سیانوباکتری چشمه آب گرم گنو در شرایط دمایی نرمال تنها در رشته‌های ثانویه آبشش باعث پرخونی می‌شود که آن هم باعث مرگ و میر این ماهیان نشده است. اما درشرایط استرس حرارتی، ماهیانی که در جیره غذایی آنها از عصاره سیانوباکتری استفاده شد ضایعات پاتولوژیک شدیدی را در بافت آبشش خود نشان دادند. با توجه به اینکه در شرایط استرس حرارتی در بافت آبشش ماهیانی که با جیره غذایی نرمال تغذیه شدند تنها پرخونی و کوتاه شدن رشته های ثانویه مشاهده شد می توان این نتیجه را گرفت که استفاده از سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو در جیره غذایی ماهی آفانیوس نه تنها باعث بهبود در پاسخ استرسی آنها نشده، برعکس باعث تشدید اثرات منفی حرارت بالا در بافت آبشش گردیده است.

رشته‌های آبشش اولین مکان برای تبادلات گازی هستند و اغلب سطحی را برای تنفس در آبشش ماهی ایجاد می‌کند. در مقایسه با سایر مطالعاتی که در مورد اثر استرس حرارتی بر بافت آبشش ماهی انجام گرفته، تغییرات بافتی کمتری در بافت آبشش ماهی آفانیوس در محدوده دمایی چشمه آب گرم گنو رخ داد. مطالعه بر روی آبشش ماهی سفید Coregonid تحت تاثیر سیانوباکتری نشان داد که حتی در شرایط دمایی نرمال آبشش دچار خوردگی، چسبندگی، پارگی و هایپر پلازی نوک رشته های آبششی ثانویه، افزایش واکوئل‌ها، ورم، نکروز موضعی در رشته‌های آبششی و پارگی جزئی رشته‌های آبشش و گاهی اوقات برجسته شدن و پوسته پوسته شدن سلولهای آبشش داخل موکوس آبشش شده است (Ernst *et al.*, 2007). استفاده از جیره غذایی حاوی سیانوباکتری در ماهی کپور تغییرات هیستوپاتولوژیک در بافت آبشش را نشان داد که در تطابق با مطالعه‌ی حاضر بود (Carbis *et al.*, 1996). Kim و همکاران (۲۰۱۳) یک مطالعه ۱۰ هفته‌ای در مورد اثرات استفاده از مکمل‌های غذایی اسپیرولینا و کورستین بر روی رشد، پاسخ ایمنی ذاتی، مقاومت در برابر بیماری *Edwardsiella tarda*، و ظرفیت رژیم غذایی آنتی اکسیدان در بچه ماهیان کفشک زیتونی *Paralichthys olivaceus* انجام دادند در پایان آزمایش مشاهدات نشان داد که تغذیه از اسپیرولینا در میزان کارایی رشد این ماهیان اثر معنی داری نداشته است.

زنده ماندن کمتر از نیمی از ماهیان در پایان دوره ۴۴ روزه آزمایش در محدوده دمایی ۴۰-۳۷ درجه سانتیگراد که دمای چشمه آب گرم گنو می‌باشد نشان می‌دهد که ماهی *A. dispar* توانسته تا حدی نسبت به این شرایط دمایی در آزمایشگاه سازگار شود. مقایسه نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای رشد و بافت آبشش در ماهیان آفانیوسی که در شرایط استرس حرارتی با غذای نرمال و غذای حاوی عصاره سیانوباکتری تغذیه شدند نشان می‌دهد که در شرایط دمایی بالا مشابه با چشمه آب گرم گنو عصاره سیانوباکتری‌های چشمه آب گرم گنو باعث کاهش عملکرد فیزیولوژیک ماهیان شده و نتوانسته تحمل استرس حرارتی را در ماهی آفانیوس افزایش دهد. با این حال جمعیت‌های طبیعی ماهی آفانیوس به خوبی توانسته‌اند در چشمه آب گرم گنو در طی سالیان متمادی با وجود شرایط دمایی بالا و تغذیه از سیانوباکتری ساکن این چشمه سازگار شوند. به منظور پی بردن به مکانیزم سلولی سازگاری این ماهی به چشمه آب گرم گنو نیاز به انجام مطالعات گسترده مولکولی می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابـع

باقری دهبارز، ز.، یوسف‌زادی، م.، نوری، ا.، آرمان.، م. پرتو، پ. ۱۳۹۳. بررسی محتویات لولهٔ گوارش کپوردندان گنو (*Aphanius ginaonis* Holly, 1929) در ارتباط با سیانوباکتری‌های چشمهٔ آب گرم گنو، بندرعباس. فصلنامه شیلات. سال شصت و هفتم، شماره ۲، صفحات ۱۷۶-۱۶۵.

Abdel-tawwab, M.H., Ahmad, M., Abdel-hadi, Y.M., Seden, M.E.A. 2008. Use of Spirulina (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile Tilapia, (*Oreochromis niloticus* L.) fry challenged with pathologic *Aeromonas hydrophila*. International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1015-1031.

Carbis, C.R., Rawlin, G.T., Mitchell, G.F., Anderson, J.W., McCauley, I. 1996. The histopathology of carp, *Cyprinus carpio L.*, exposed tomicrocystins by gavage, immersion and intraperitoneal administration. Journal of Fish Diseases. 19: 199-207.

Coad, B.W. 1980. A re-description of *Aphanius ginaonis* (Holly, 1929) from southern Iran (Osteichthyes: Cyprinodontiformes). Journal of Natural History. 14: 33–40.

Das, T., Pal, A.K., Chakraborty, S.K., Manusha, S.M. 2005. Thermal tolerance, growth and oxygen consumption of *Labeo rohita* fry (Hamilton, 1822) acclimated to four temperatures. Journal of Thermal Biology. 30: 378–383.

Dove, A.D.M., Allam, B., Powers J.J., Sokolowski, M.S. 2005. A prolonged thermal stress experiment on the American lobster, *Homarus americanus*. Journal of Shellfish Research. 24: 761-765.

Ernst, B., Hoeger, S.J., Brien, E.O., Dietrich, D.R. 2007. Phisiological stress and pathology in European whitefish (*Coregonus laveratus*), indused by subchronic exposure to environmental relevant densities of *Planktothrix rubescens*. Aquatic Toxicology. 82: 15-26.

Fischer, W.J., Dietrich, D.R. 2000. Toxicity of the cyanobacterial cyclic heptapeptide toxins microcystin-LR and-RR in early life-stages of the African clawed frog (*Xenopus laevis*). Aquatic Toxicology. 49: 189-198.

Haas, R., Pal, R. 1984. Mosquito larvivorous fishes. Bulletin of Entomological Society of America. 30: 17-25.

Hochachka, P.W., Somero, G.N. 2002. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York. 466 p.

Hrbek, T., Meyer, A. 2003. Closing of the Tethys Sea and the phylogeny of Eurasian killifishes (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae). Journal of Evolutionary Biology. 16: 17–36.

Kim, S.S., Rahimnejad, S., Kim, K.W., Lee, B.J. Lee, K.J. 2013. Effect of dietary supplementation of *Spirolina* and *Quercetin* on growth, innate immune responses, disease resistance against *Edwardsiella tarda*, and dietary antioxidant capacity in the juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Fisheries and Aquatic Sciences. 16: 1-8.

Mohamed, Z.A., Hussein, A.A. 2006. Depuration of Microcystins in Tilapia fish exposed to natural populations of toxic cyanobacteria: A laboratory study. Ecotoxicology and Environmental Safety. 63: 424-429.

Narum. S.R., Campbell, N.R., Meyer, K.A., Miller, M.R., Hardy, R.W. 2013. Thermal adaptation and acclimation of ectotherms from differing aquatic climates. Molecular Ecology. 22: 3090-3097.

Piazzini, S., Lori, E., Favilli, L., Cianfanelli, S., Vanni, S., Manganelli, G. 2010. A tropical fish community in thermal waters of southern Tuscany. Biological Invasions. 12: 2959-2965.

Podrabsky, J.E., Somero, G.N. 2004. Changes in gene expression associated with acclimation to constant temperatures and fluctuating daily temperatures in an annual killifish *Austrofundulus limnaeus*. Journal of Experimental Biology. 207: 2237-2254.

Tencalla, F., Dietrich, D. 1997. Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Toxicon. 34: 583-595.

Tutar, Y., Okan, S. 2012. Heat shock protein70 purification and characterization from Cyprinion *macrastomus macrastomus* and *Garra rufa obtusa*. Journal of Thermal Biology. 37: 95-99.

Zurawell, R.W., Chen, H., Burke, J.M., Prepas, E.E. 2005. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B. 8: 1-37.

www.SID.ir