



مکان‌یابی ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین‌های انتقال دهنده یون در ساختار
دریچه مارپیچی روده بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)
(Borodin, 1897) طی انتقال ناگهانی از آب شیرین به آب دریای خزر

سیده آیناز شیرنگی^۱، محمد رضا کلباسی^{۲*}، صابر خدابنده^۳، حجت‌الله جعفریان^۴

تاریخ پذیرش: مرداد ۹۵

تاریخ دریافت: خرداد ۹۵

چکیده

در این مطالعه تاثیر انتقال مستقیم از آب شیرین (FW) به آب لب‌شور دریای خزر (CSW) شوری ۱۱% بر توان تنظیم یونی در ریچه مارپیچی در روده بچه تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* (۲/۵۵±۰/۴۱ گرم) بررسی شد. مکان‌یابی پروتئین‌های انتقال دهنده یون مانند Na^+, K^+ -ATPase و Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (NKCC) $Na^+, K^+, 2Cl^-$ (NKA) پس از ۱۰ روز انتقال مستقیم از FW به CSW به روش ایمونوهیستوشیمی انجام شد. مکان‌یابی همزمان NKCC و NKA در سیتوپلاسم دریچه مارپیچی ماهیان نگهداری شده در FW و CSW نشان داد که این دو پروتئین تحت تاثیر شوری قرار نگرفتند. به علاوه، کانال آنیونی CFTR نیز در سیتوپلاسم انتروسیت‌ها و بیشتر متمایل به قسمت راسی سلول شناسایی شد. بر اساس نتایج به دست آمده، دریچه مارپیچی روده بچه تاس‌ماهیان ایرانی بیشتر در جذب مواد غذایی نقش داشت و به طور غیر مستقیم در تنظیم یونی شرکت می‌کرد. به علاوه، این اندام در بچه ماهیان (با وزن ۲-۳ گرم) از لحاظ تکامل فیزیولوژیکی در وضعیت مناسبی قرار داشته، آمادگی بچه ماهیان را برای مواجه شدن با شوری آب دریای خزر فراهم می‌کند.

واژگان کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی، دریچه مارپیچی، تنظیم یونی، Na^+, K^+ -ATPase، انتقال دهنده هم‌جهت $CFTR Na^+, K^+, 2Cl^-$.

- ۱- دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
 - ۲- استاد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
 - ۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
 - ۴- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
- * نویسنده مسئول: kalbassi_m@modares.ac.ir

مقدمه

ماهیان استخوانی علاوه بر هضم و جذب مواد غذایی، ترشح هورمون و حفاظت ایمنی، برای حفظ تعادل الکترولیت‌های بدن (تنظیم اسمزی) در انتقال آب و یون‌ها نیز نقش دارد (Whittamore, 2012). نقش روده در تنظیم اسمزی هنگام مواجه شدن با محیط هیپراسمتیک (آب دریا) در میزان مقاومت به شوری مهم است. ماهیان دریایی برای جلوگیری از خروج آب از بدن، آب موجود در محیط اطراف را از راه دهان وارد بدن کرده، سپس به دنبال جذب آب توسط روده جذب فعال یون‌ها نیز توسط روده این ماهیان انجام می‌شود (Marshall and Grosell, 2006; Giffard-Mena et al., 2006). به دنبال جذب سدیم، کلر و آب، غلظت یون‌های منیزیم و سولفات در لومن روده افزایش می‌یابد، سپس یون‌های اضافی تک ظرفیتی توسط آبشش و یون‌های دو ظرفیتی از طریق کلیه و روده دفع می‌شوند (Whittamore, 2012). مکانیسم دقیق جذب آب ناشناخته باقی مانده است. با این وجود، چندین پروتئین انتقال دهنده برای انتقال آب از غشا شناسایی شده‌اند که ممکن است در حرکت آب بین سلولی در روده ماهیان دریایی شرکت کنند. انتقال آب با جذب فعال

تنظیم اسمزی در ماهیان به تغییرات آنزیمی و سلولی نیاز دارد تا میزان غلظت یون‌ها در پلاسما خون به میزان ثابت حفظ شود (Evans et al., 2005). حفظ اسمولالیتیه خون و غلظت یون‌ها در سطوحی متفاوت از محیط خارجی ماهیان، با جذب یا ترشح یون‌ها بر حسب میزان شوری محیط، به انتقال فعال یون بستگی دارد که با همکاری پمپ‌های یونی، کوترانسپورترها و کانال‌هایی انجام می‌شود که در غشاهای راسی^۱ و قاعده‌ای-جانبی^۲ جانبی^۲ سلول‌های یونی روده قرار دارند (McCormick, 1995). در ماهیان استخوانی، اپیتلیوم آبشش، گلومرول و توبول‌های کلیه و اپیتلیوم روده مهم‌ترین مکان‌های تنظیم کننده جذب یا دفع یون هستند (Varsamos et al., 2005) که بر حسب شرایط محیطی با ایجاد تغییراتی در ساختار آن‌ها، هومئوستازی اسمزی و یونی بدن ماهیان با کنترل فیزیولوژیک (از جمله هورمونی) تنظیم می‌شود (Varsamos et al., 2005; Marshall and Grosell, 2006) و در نهایت افزایش مقاومت ماهیان به شوری فراهم می‌شود. روده در

1- Apical

2- Basolateral

قاعده‌ای- جانبی از طریق کانال‌های کلراید و یا انتقال دهنده هم‌جهت K^+, Cl^- نیز اتفاق افتد (Marshall and Grosell., 2006). در حالی که از دست دادن آب به عنوان یک چالش فیزیولوژیکی در ماهیان دریایی مطرح است، در عوض گونه‌های آب شیرین با استحصال آب اسمزی مواجه هستند. ثابت شده است که فیزیولوژی انتقال یون‌ها و مایعات در دستگاه گوارش ماهیان طی سازگاری با شوری تحت کنترل عوامل محیطی و سیستم اندوکروینی قرار دارد. در نتیجه، دستگاه گوارش نیز مکان مهمی برای تنظیم اسمزی به شمار می‌آید (Veillette et al., 2005).

ماهیان خاویاری ساکن در آب‌هایی با شورهای مختلف توانایی تنظیم اسمزی متفاوتی دارند و زمان لازم برای ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی در آنها برای سازش به محیط با شوری جدید بر حسب گونه و محیط زندگی متفاوت است (Allen et al., 2011). تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) یک گونه مهاجر لب‌شور در دریای خزر است. بنابراین، این گونه می‌تواند استراتژی خاصی برای تعادل یونی و اسمزی داشته باشد (Kazemi et al., 2003). میزان ذخایر این گونه ارزشمند در دریای خزر به شدت کاهش

سدیم و کلر در ارتباط است به این ترتیب که در ازای ورود دو یون پتاسیم، سه یون سدیم توسط پمپ Na^+, K^+ -ATPase (NKA) از غشای قاعده‌ای- جانبی سلول‌های اپیتلیوم روده خارج می‌شود. شیب الکتروشیمیایی سدیم ایجاد شده توسط پمپ NKA در قسمت راسی اپیتلیوم، باعث جذب یون‌های کلر و سدیم توسط انتقال دهنده هم‌جهت راسی سدیم- کلر (NCC) و $Na^+, K^+, 2Cl^-$ (NKCC) و یا از طریق مبادله کننده‌های Na^+/H^+ و Cl^-/HCO_3^- می‌شود. بی‌کربنات از غشای قاعده‌ای جانبی از پلاسمای خون وارد سلول می‌شود و یا از طریق تنفس درون سلولی (هیدراته شدن CO_2 توسط آنزیم کربنیک انیدریداز) در داخل سلول‌های انتروسیت روده تشکیل می‌شود. در این حالت بی‌کربنات و یون هیدروژن تشکیل شده از طریق مبادله کننده‌های Cl^-/HCO_3^- و Na^+/H^+ به داخل لومن منتقل می‌شود و نیروی محرک آن توسط NKA تامین می‌شود. سپس یون کلر از طریق کانال‌های کلراید به داخل پلاسمای خون منتقل می‌شود (Whittamore, 2012; Wilson and Castro, 2010). صرف نظر از مسیر راسی ورود کلر به داخل سلول‌های اپیتلیال، به نظر می‌رسد انتقال کلر از غشای

کوچک، دریچه مارپیچی و رکتوم تشکیل شده است (Vajhi et al., 2013). از بین اندام‌های مختلف تنظیم کننده اسمزی در تاس‌ماهیان ایرانی بیشتر مطالعات در زمینه تنظیم یونی سلول‌های کلراید آبشش و دستگاه ادرار این ماهیان انجام شده است (Kazemi et al., 2003; Khodabandeh et al., 2009; Khatooni et al., 2011; Taghizadeh et al., 2011; Taghizadeh et al., 2014; Shirangi et al., 2016) و به مطالعه مکانیسم تنظیم اسمزی و یونی دستگاه گوارش کمتر پرداخته شده است. مطالعه تنظیم اسمزی اندام‌های دستگاه گوارش تاس‌ماهیان ایرانی تنها به مکان‌یابی آنزیم NKA در دستگاه گوارش طی انتوزنی این ماهیان از زمان پس از تفریخ تا اوایل مرحله نوجوانی (۲۵ روز پس از تفریخ) در آب شیرین محدود شده است (تقی‌زاده رحمت‌آبادی، ۱۳۸۶). با وجود مطالعه پروتئین‌های انتقال دهنده یون در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش ماهیان استخوانی دیگر، به غیر از چند مورد مکان‌یابی آنزیم NKA در روده ماهیان خاویاری، هیچ مطالعه‌ای مبنی بر مکان‌یابی و مکانیسم سایر انتقال دهنده‌های یون در ماهیان خاویاری انجام نشده است. از طرف دیگر، در تمام گزارش‌های ارائه شده، به مطالعه سیستم تنظیم اسمزی روده در ماهیان

یافته است و همانند سایر گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر به شدت تحت خطر انقراض^۱ قرار دارد (Gesner et al., 2010). از این رو، برای حفظ ذخایر این ماهی با ارزش، سالانه بچه ماهیان انگشت قد (با وزن ۲-۳ گرم) توسط مراکز تکثیر و پرورش ماهیان تحت نظارت سازمان شیلات در ایران تولید و در مصب‌ها و رودخانه‌های اطراف دریای خزر (از جمله سفید رود و گرگان رود) رهاسازی می‌شوند. در نتیجه، به دلیل تغییرات زیست محیطی، ماهی ممکن است به شدت تحت خطر قرار گیرد و در نهایت در طی سازگاری با شرایط جدید، مرگ و میر بالایی اتفاق افتد.

در لامپری‌ها، ماهیان غضروفی، ماهیان غضروفی-استخوانی و همچنین ماهیان دودمی که روده کوتاهی دارند، دریچه مارپیچی از لایه‌های مخاطی و زیرمخاطی تشکیل شده است. در واقع، دریچه مارپیچی از یک فرورفتگی شیار مانند در دیواره روده رشد می‌کند. دریچه مارپیچی نه تنها سطح جذب روده را بدون افزایش طول روده افزایش می‌دهد، بلکه با عبور آهسته غذا در دستگاه گوارش مرتبط است (Wilson and Castro, 2010).

روده تاس‌ماهی ایرانی نیز از سه بخش روده

1- Critically Endangered Species

۱۳۹۳ تهیه شد. بچه ماهیان، پس از توزین و اندازه‌گیری طول بدن از روستروم تا باله دمی (طول کل)، بر اساس وزن جداسازی و انتخاب شدند.

برای سنجش توانایی سازگاری با استرس شوری، بچه تاس‌ماهیان به وان‌هایی با حجم ۱۰۰ لیتر منتقل شدند و تحت تیمار افزایش شوری ناگهانی قرار گرفتند. به این ترتیب که به طور مستقیم از آب شیرین رودخانه (۰/۸%) وارد آب لب‌شور دریای خزر (۱۱%) شدند. یک تیمار شاهد (آب شیرین) نیز در نظر گرفته شد. هر تیمار با دو تکرار انجام شد (۴ وان) و تعداد بچه ماهی در هر وان ۴۰ قطعه بود. آب لب‌شور مورد نیاز نیز از آب دریای خزر تامین شد و شوری آن با دستگاه شوری‌سنج دیجیتال (WTW, Cond 330i، آلمان) اندازه‌گیری شد. شرایط نگهداری ماهیان شامل درجه حرارت آب ۲۶-۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعته بود. غذادهی به بچه ماهیان با شیرونومید زنده به میزان ۱۰ درصد وزن بدن ماهی (۴ نوبت در شبانه‌روز) انجام شد و آب داخل هر وان سه نوبت در هر روز سیفون شد. غذادهی در تمام طول دوره آزمایش انجام شد و تنها ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری متوقف شد. نمونه‌برداری از ماهیان در روز اول و ۱۰

در آب کاملاً شور پرداخته شده است و تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر مکان‌یابی سایر انتقال دهنده‌های یون در روده تاس‌ماهیان ایرانی به ویژه طی انتقال از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر انجام نشده است. از این رو، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تغییرات ساختار دریچه ماریچی بچه تاس‌ماهیان ایرانی و پمپ‌ها و کانال‌های یونی مربوط به آن شامل NKA، NKCC و CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) به طور همزمان طی انتقال از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر است.

مواد و روش‌ها

تیمار ماهیان و نمونه‌برداری

به منظور بررسی مکانیسم تنظیم اسمزی ساختار دریچه ماریچی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در آب دریای خزر و سنجش قابلیت آن نسبت به تحمل استرس شوری در وزن رهاسازی، از گروه وزنی ماهیان ۲-۳ گرم (با میانگین وزنی $2/55 \pm 0/41$ گرم و میانگین طول $8/8 \pm 0/58$ سانتی‌متر) استفاده شد. بچه تاس‌ماهیان مورد نیاز برای انجام این مطالعه از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت در تابستان

شدند. در این مرحله اسلایدها با روش هماتوکسیلین- فوشین رنگ آمیزی شدند (Martoja and Martoja-Pierson, 1967).

تعدادی از قطعات بافتی نیز بر روی اسلایدهای پوشیده شده با پلی- ال- لیزین قرار داده شدند و برای آزمایشهای ایمونوهیستوشیمی مورد مطالعه قرار گرفتند و پروتئینهای NKA، NKCC و CFTR در دریچه ماریچی روده مکانیابی شدند. برای پارافین زدایی، سطح مقطعهای برش یافته دو بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه داخل محلول Histoclear (Histological Clearing) قرار گرفتند. پس از آبگیری نمونهها از طریق درجات مختلف الکل و شست و شو با محلول PBS^۱ اسلایدها با غلظت‌های مشخصی از آنتی بادی اول پوشیده شدند (جدول ۱). پس از ۲ ساعت انکوباسیون اسلایدهای حاوی مقاطع بافتی در آنتی بادی اول و ۳ مرتبه شست و شوی ۵ دقیقه‌ای در محلول PBS، آنتی بادی دوم (جدول ۱) اضافه شد.

روز پس از انتقال ناگهانی به شوری انجام شد. پس از نمونه برداری، ماهیان با غوطه‌وری در محلول تریکایین متان سولفونات (MS-222) با غلظت 50 mg.L^{-1} قبل از خون‌گیری، بیهوش شدند.

آماده‌سازی برای مطالعات میکروسکوپ نوری و ایمونوهیستوشیمی

مطالعات ساختار دریچه ماریچی روده توسط دو روش بافت‌شناسی کلاسیک و ایمونوهیستوشیمی در آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه مونت پلیه فرانسه انجام شد. بدین منظور، پس از جداسازی بافت مورد نظر، نمونه‌ها از هر تیمار به مدت ۴۸ ساعت داخل محلول فیکساتیو بوئن قرار گرفتند و سپس به الکل اتانول ۷۰٪ منتقل شدند (۴ قطعه ماهی از هر تیمار). پس از شست و شو و آبگیری در درجات افزایشی الکل، نمونه‌ها به پاراپلاست[®] X-TRA (Sigma-Aldrich, P3808، آلمان) منتقل شدند و از آن‌ها بلوک پارافینی تهیه شد. سپس از بافت‌های مورد نظر برش عرضی تهیه شد که این کار با دستگاه میکروتوم (Leitz Wetzlar، آلمان) انجام شد. مقاطع بافتی با ضخامت ۴ میکرومتر برش داده شدند و سپس بر روی اسلایدهای شیشه‌ای قرار داده

1- Phosphate Buffered Saline

جدول ۱: آنتی‌بادی‌های مورد استفاده برای مکان‌یابی پروتئین‌های انتقال دهنده یون

آنتی‌بادی دوم		آنتی‌بادی اول		پروتئین ناقل یون
غلظت ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	نوع	غلظت ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	نوع	
۱۰	Alexa Fluor® 488: Alexa-Fluor 488 donkey anti-mouse	۱۰	(H-300) پلی کلونال خرگوش	NKA
۱۰	Alexa Fluor® 488: Alexa-Fluor 488 donkey anti-mouse	۱۲	T4 منوکلونال موش	NKCC
۱۰	Alexa Fluor® 488: Alexa-Fluor 488 donkey anti-mouse	۱۵	منوکلونال انسان/ موش	CFTR

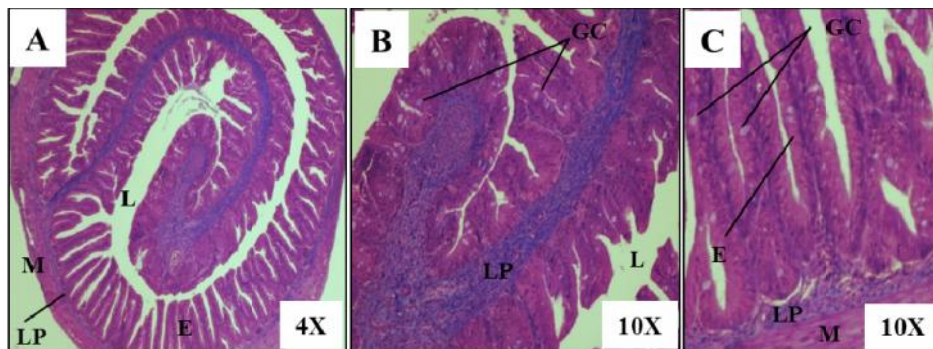
نتایج

مطالعات بافت‌شناسی دریچه ماریچی روده در بچه تاس‌ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*)، هیچ تفاوتی را بین ماهیان آب شیرین و آب دریای خزر نشان نداد (شکل ۱). در مطالعه حاضر، NKA در سیتوپلاسم انتروسیت‌های دریچه ماریچی بچه تاس‌ماهیان ایرانی مشاهده شد. اما به نظر می‌رسد ایمونوفلوئورسانس در غشای قاعده‌ای- جانبی سلول‌ها مشخص‌تر باشد و تعداد سلول‌های دارای NKA، تحت تاثیر شوری قرار نگرفته باشد (شکل ۲-A و B). مکان‌یابی NKCC نیز پراکنش مشابهی با NKA نشان داد (شکل ۲-C و D). به طوری که مکان‌یابی NKA و NKCC حضور همزمان آن‌ها را در انتروسیت‌ها

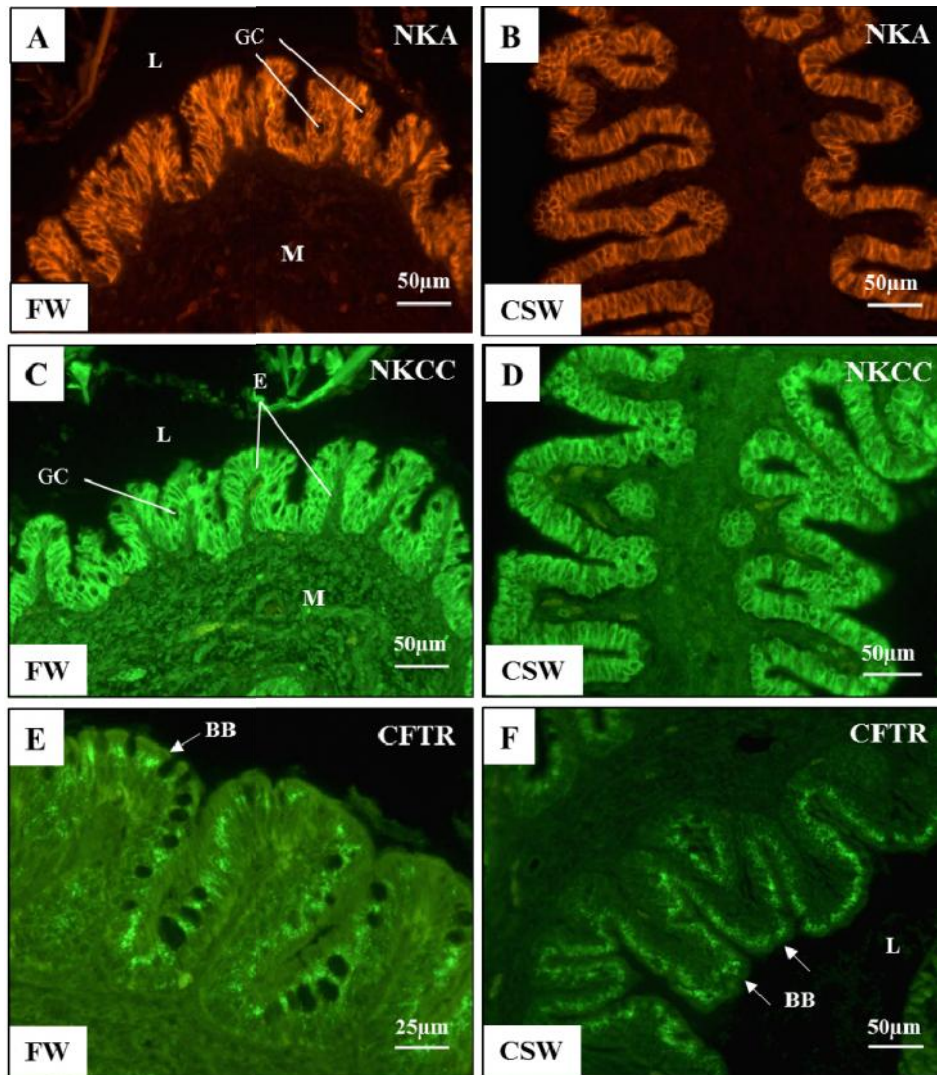
در پایان پس از یک ساعت انکوباسیون و شست و شو با محلول نمکی بافر فسفات (BPS)، سه بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه، اسلایدها با چسب مخصوص ایمونوهیستوشیمی (ImmunoHistoMount، شرکت بیوتکنولوژی سانتاکروز، آمریکا)، حاوی ۸۰٪ گلیسرین، ۲۰٪ PBS به همراه ۲٪ N- پروپیل گالات، پوشانده شدند (Nebel et al., 2005; Khodabandeh et al., 2009). سپس اسلایدهای رنگ‌آمیزی و نشان‌گذاری شده با آنتی‌بادی فلوروسانت با استفاده از میکروسکوپ نوری Leitz Diaplan مجهز به فیلتر فلوروسانت، دوربین دیجیتال (Leica DC 300 F) و نرم‌افزار FW 4000 I (Rueil-Malmaison Leica Microsystems، فرانسه) مورد بررسی قرار گرفتند.

نیز در سیتوپلاسم انتروسیت‌ها و بیشتر متمایل به قسمت راسی شناسایی شد (شکل ۲- E و F؛ شکل ۳- A و A'). بر خلاف NKA و CFTR، تعداد انتروسیت‌های حاوی CFTR پس از انتقال از آب شیرین به آب دریای خزر افزایش یافت.

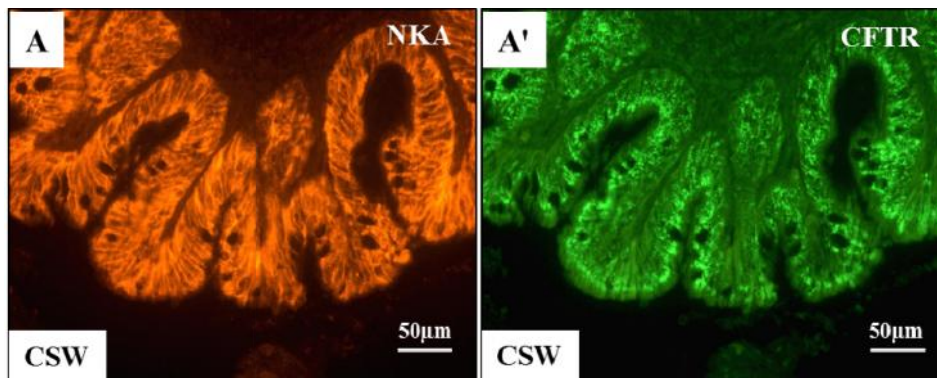
ثابت کرد. به نظر می‌رسد میزان فعالیت NKA و NKCC طی انتقال از آب شیرین به آب لب‌شور دستخوش تغییر نشده باشد و تحت تاثیر شوری قرار نگرفته باشد. موافق با نتایج حاصل از مکان‌یابی NKA و NKCC در انتروسیت‌های دریچه مارپیچی و زائده پیلوریک بچه تاس‌ماهیان ایرانی، کانال آنیونی CFTR



شکل ۱: بافت‌شناسی دریچه مارپیچی روده بچه تاس‌ماهی ایرانی ۲-۳ گرمی (هماتوکسیلین-فوشین). E: انتروسیت (Enterocyte)؛ GC: سلول‌های موکوسی جامی شکل (Goblet Cells)؛ L: لومن (Lumen)؛ LP: لامینا پروپیرا (Lamina Propria)؛ M: بافت ماهیچه‌ای (Muscle Tissue).



شکل ۲: مکان‌یابی پروتئین‌های ناقل یون NKA (A و B)، NKCC (C و D) و CFTR (E و F) به روش ایمونوهیستوشیمی در بافت دریچه مارپیچی روده بچه تاس‌ماهیان ایرانی ۳-۲ گرمی پس از ۱۰ روز نگهداری در آب شیرین (FW) و آب دریای خزر (CSW). BB: نوار مسواکی (Brush Border)؛ E: انتروسیت (Enterocyte)؛ GC: سلول‌های گبلیتی (Goblet Cells)؛ L: لومن (Lumen)؛ LP: لامبنا پروپیرا (Lamina Propira)؛ M: بافت ماهیچه‌ای (Muscle Tissue).



شکل ۳: مکان‌یابی همزمان NKA و CFTR به روش ایمونوهیستوشیمی در بافت دریچه ماریچی بچه تاس‌ماهیان ایرانی ۳-۲ گرمی پس از ۱۰ روز نگهداری در آب دریای خزر (CSW).

بحث

(2000). به همین دلیل، تغییر در NKA نسبت به تغییرات شوری در این اندام‌ها از سال‌ها قبل مورد مطالعه قرار گرفته است (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Nielsen et al., 1999؛ Veillette et al., Seidelin et al., 2000). در مطالعه انتوزنی دستگاه گوارش تاس‌ماهیان ایرانی، تا زمان شروع تغذیه فعال (۱۰ روز پس از تفریخ) هیچ یک از سلول‌های سازنده اندام‌های دستگاه گوارش ایمونو-فلوئورسانسی از آنزیم NKA نشان ندادند و ثابت شده است که دستگاه گوارش در مراحل پیش لاروی در فعالیت اسمزی شرکت نمی‌کند اما قابلیت تنظیم اسمزی آن با رشد ماهی و گذر از مرحله لاروی و رسیدن به مرحله نوجوانی افزایش می‌یابد (تقی‌زاده رحمت‌آبادی، ۱۳۸۶).

وظیفه اولیه روده در ماهیان استخوانی و خاویاری، تکمیل فرآیند هضم مواد غذایی است که در معده آغاز شده بود و همچنین این اندام جذب مواد غذایی اصلی مورد نیاز برای متابولیسم، رشد و انتقال نمک‌ها و آب را به عهده دارد. سلول‌های انتروسیت روده که علاوه بر جذب مواد غذایی، در تنظیم یونی نیز شرکت دارند، ایمونوفلوئورسانس قوی را نسبت به NKA نشان می‌دهند (Wilson and Castro, 2010). به طور کلی NKA به تعداد زیادی در اپیتلیوم روده و زوائد پیلوریک یافت می‌شود و محل قرارگیری آن می‌تواند اهمیت زیادی در انتقال نمک‌ها از بخش لومن روده به فضای خارج سلولی داشته باشد (Seidelin et al.,

به طوری که سلول‌های سازنده دریاچه ماریچی در مرحله لاروی ایمونوفلوئورسانس بسیار وضعیفی را نشان دادند و ایمونوفلوئورسانس NKA قابل توجهی در کل سیتوپلاسم و بیشتر در غشای قاعده‌ای- جانبی این سلول‌ها از ابتدای مرحله نوجوانی (۲۵ روز پس از تفریح) مشاهده شد (تقی‌زاده رحمت‌آبادی، ۱۳۸۶). در پژوهش حاضر، مطالعات بافت‌شناسی دریاچه ماریچی در بچه تاس‌ماهیان ایرانی، تفاوتی را بین ماهیان آب شیرین و آب دریای خزر نشان نداد. به علاوه، آنزیم NKA در کل سیتوپلاسم انتروسیت‌های دریاچه ماریچی هم در ماهیان آب شیرین و هم در ماهیان نگهداری شده در آب لب‌شور دریای خزر مشاهده شد. در اپیتلیوم روده ماهی خاویاری ایتالیایی (*A. naccarii*) سازگار شده با آب شور در مقایسه با ماهیان سازگار شده با آب شیرین نیز هیچ تغییر ساختاری مشاهده نشد (Cataldi et al., 1995) و به نظر می‌رسد روده در این ماهیان فقط در جذب مواد غذایی نقش داشته باشد. همچنین در مطالعه فعالیت آنزیم NKA در دریاچه ماریچی تعدادی از ماهیان خاویاری دیگر حتی با انتقال به آب شور تغییری مشاهده نشد (Rodriguez et al., 2002; Jarvis and Ballantyne, 2009; Allen et al., 2003) و یا فعالیت آن به طور موقت افزایش یافت (He et al., 2009). مکان‌یابی انتقال دهنده هم‌جهت NKCC در بچه تاس‌ماهیان ایرانی نیز در سیتوپلاسم همان سلول‌ها، مشابه با آنزیم NKA (مکان‌یابی هم‌زمان NKA و NKCC) بود. به دلیل این که در مطالعه حاضر، تفاوتی در مکان‌یابی NKA و NKCC بین ماهیان آب شیرین و ماهیان نگهداری شده در آب دریای خزر مشاهده نشد، حضور NKA و NKCC در تمام سیتوپلاسم می‌تواند به دلیل وجود چین‌خوردگی‌های زیاد در قسمت قاعده‌ای- جانبی سلول‌ها باشد که این چین‌خوردگی‌ها می‌توانند تا نزدیک بخش راسی کشیده شوند. به نظر می‌رسد میزان فعالیت NKA و NKCC طی انتقال از آب شیرین به آب لب‌شور دستخوش تغییر نشده باشد و تحت تاثیر شوری قرار نگرفته باشند. موافق با نتایج این مطالعه، با مکان‌یابی ایمونوفلوئورسانس NKCC در قسمت راسی و قاعده‌ای انتروسیت‌ها در مارماهی مهاجر *Anguilla anguilla* و کیلی‌فیش *Fundulus heteroclitus* دو نوع سلول روده‌ای شناسایی شد (Cutler and Cramb, 2002; Marshall et al., 2002). بر عکس، NKCC در روده ماهی باس دریایی،

NKCC در غشای راسی انتروسیت‌های دریچه مارپیچی در بچه تاس‌ماهی ایرانی به نظر می‌رسد دستگاه گوارش این ماهیان فاقد ایزوفرم جذبی NKCC (NKCC2) باشد.

موافق با نتایج به دست آمده از مکان‌یابی NKA و NKCC در انتروسیت‌های دریچه مارپیچی بچه تاس‌ماهی ایرانی در مطالعه حاضر، کانال آنیونی CFTR نیز در سیتوپلاسم انتروسیت‌ها و بیشتر متمایل به قسمت راسی شناسایی شد. در بعضی از انتروسیت‌های روده کیلی فیش‌های نگهداری شده در آب دریا حضور CFTR در غشای راسی و NKA و NKCC در غشای قاعده‌ای- جانبی انتروسیت‌ها می‌تواند نشان دهنده ترشح نمک باشد (Marshall et al., 2002). معمولا روده ماهیان استخوانی قابلیت دفع یون‌ها و مایعات را از دست داده‌اند. اگرچه ماهیان غضروفی دارای توانایی ترشح یون‌ها هستند. با این وجود، در تاس‌ماهی ایرانی علاوه بر مکان‌یابی ایمونوفلوئورسانس کانال CFTR نزدیک به غشای راسی انتروسیت‌های دریچه مارپیچی، این پروتئین به شکل پراکنده در سیتوپلاسم انتروسیت‌ها نیز مشاهده شد. بنابراین، تاس‌ماهی ایرانی را نمی‌توان از جمله ماهیانی در نظر گرفت که روده آن‌ها دارای قابلیت ترشح یون کلر است

Dicentrarchus labrax سیم دریایی *Sparus aurata* و *Pseudopleuronectes americanus* تنها در قسمت راسی انتروسیت‌ها مشاهده شد و شدت فلئورسانس در ماهیان داخل آب دریا نسبت به ماهیان آب شیرین بیشتر بود (Suvitayavat et al., 1994; Lorin-Nebel et al., 2006; Gregorio et al., 2013). حضور انتقال دهنده هم‌جهت NKCC در بخش نوار مسواکی انتروسیت‌های روده گاوماهی شیشه‌ای (*Oxyeleotris marmorata*) باعث تسهیل جذب کلرید سدیم می‌شود که با عملکرد جذبی مواد غذایی همراه است (Chew et al., 2010). در نتیجه، در این گاوماهیان، NKCC (احتمالا NKCC2) در جذب یون نقش دارد، به طوری که در آب دریا آب بیشتری می‌نوشند و به دنبال آن، برای مبارزه با از دست رفتن آب بدن، یون‌ها و آب بازجذب می‌شود. در مطالعه حاضر، ایمونوفلوئورسانس NKCC در غشای راسی نوار مسواکی انتروسیت‌های دریچه مارپیچی دیده نشد. از طرفی، باید به این نکته توجه شود که آنتی‌بادی مورد استفاده در این مطالعه قادر به تفکیک ایزوفرم ترشچی و جذبی (به ترتیب NKCC1 و NKCC2) از هم نیست. با این حال، با توجه به عدم حضور

بلکه در جذب کلر نقش دارد. از طرف دیگر، جذب کلر یا از طریق NKCC2 توسط سلول‌های دستگاه گوارش انجام می‌شود و یا ممکن است ماهیان با استفاده از سایر انتقال دهنده‌های یون مانند مبادله کننده‌های $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ و Na^+/H^+ این عمل را انجام دهند. با فرض وجود نداشتن ایزوفرم جذبی NKCC در دریچه ماریپیچی بچه تاس‌ماهیان ایرانی، به نظر می‌رسد یون کلر از طریق مبادله کننده $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ وارد انتروسیت‌ها شود. بی‌کربنات یا توسط انتقال دهنده هم‌جهت $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ واقع در غشای قاعده‌ای- جانبی انتروسیت‌ها از پلاسمای خون وارد سلول می‌شود و یا از طریق تنفس اندوژن در داخل انتروسیت‌های روده تشکیل می‌شود. در این حالت از طریق مبادله کننده $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ به داخل لومن منتقل می‌شود که نیروی محرک آن توسط NKA تامین می‌شود (Loretz, 1995; Marshall and Grosell, 2006; Gregorio et al., 2013). ثابت شده است که ترشح کلر توسط کانال کلر می‌تواند مبادله کننده $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ را جهت بازگرداندن کلر از دست رفته فعال کند (Gregorio et al., 2013). در نتیجه، به نظر می‌رسد با ترشح بی‌کربنات طی عمل جذب و هضم مواد غذایی توسط سلول‌های روده به داخل فضای لومن مقادیری از یون کلر توسط مبادله کننده $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ جذب شود که توسط NKA فراهم می‌شود. از طرف دیگر، توسط تنظیم حجم سلول، NKCC عملکردی غیر از تنظیم اسمزی دارد و در ترشح مایعات لومنی نقش دارد (Cutler and Cramb, 2002). مشاهده تعداد بیشتری از سلول‌های ایمونوفلوئورسنت با CFTR در ماهیان نگهداری شده در آب لب‌شور دریای خزر نسبت به ماهیان آب شیرین را می‌توان به دلیل قابلیت دسترسی بیشتر یون کلر در آب دریای خزر در نظر گرفت که به دنبال آن جذب یونی بیشتری انجام خواهد شد.

علاوه بر نقش مستقیم مجاری گوارشی در تنظیم اسمزی، عملکردهای هضمی دستگاه گوارش نیز می‌تواند بر تنظیم اسمزی تمام ماهیان تاثیر داشته باشد. عمل هضم و جذب مواد غذایی توسط ترکیبی از ترشحات آنزیمی صورت می‌گیرد که در تمام موارد شامل انتقال الکترولیت‌ها است (Karasov and Hume, 1997; Wilson and Castro, 2010). به علاوه، فرآیند تغذیه بر تعادل آب بدن تاثیر

نیستند، احتمالاً تغییری در میزان نوشیدن آب حاصل نمی‌شود. در نتیجه، نوشیدن آب در این ماهیان در کمترین سطح قرار دارد، از این رو مجبور نیستند همانند ماهیان آب شور برای جلوگیری از دست دادن آب بدن خود، به طور دائم آب بنوشند و به دنبال آن بازجذب یون انجام دهند (شیرنگی، ۱۳۹۵).

برای جمع‌بندی، ایمونوفلوئورسانس سه پروتئین مهم انتقال دهنده یون NKA، NKCC و CFTR مشاهده شده در بخش‌های مختلف روده بچه تاس‌ماهیان ایرانی و قرار نگرفتن الگوی پراکنش آن‌ها تحت تاثیر افزایش شوری (۸/۰ تا ۱۱٪)، نشان دهنده این است که اندام فوق، بیشتر در جذب مواد غذایی نقش دارد و به طور غیر مستقیم در تنظیم یونی شرکت می‌کند. از طرف دیگر، مطالعه ژنومیک و فیزیولوژیک آبشش بچه تاس‌ماهیان ایرانی با وزن ۲-۳ گرم نشان داده است که این ماهیان در وضعیت بینابینی برای رهاسازی قرار دارند (Shirangi et al., 2016). در نتیجه، به نظر می‌رسد بچه تاس‌ماهیان ایرانی در وزن ۲-۳ گرم از لحاظ تکامل فیزیولوژیکی در بچه مارپیچی در وضعیت مناسبی باشند و آمادگی لازم برای مواجه شدن با شوری آب دریای خزر را داشته

دارد، زیرا پدیده بلعیدن غذا با وارد شدن مستقیم آب همراه است و همچنین غذاهای مورد نظر حاوی مقادیر متفاوتی آب است. همچنین، ممکن است مقادیری از یون‌ها از طریق ترشحات دستگاه گوارش به داخل مجرای لومن وارد شده باشد و مکانیسم انتقال فعال سلول‌های انتروسیت روده، آن‌ها را به خون باز گرداند. علاوه بر غذا یا آب بلعیده شده در سراسر لوله گوارش، در سراسر بخش‌های دستگاه گوارش مقدار زیادی موکوس و آنزیم‌های گوارشی نیز به مجرای گوارشی ریخته می‌شود. خروج این مواد احتمالاً با خارج شدن مقداری یون از درون سلول‌ها همراه است که باید برای حفظ هموستازی در محیط نسبتاً فقیر از یون آب شیرین، به بدن بازگردانده شوند. از این رو است که در سراسر روده بازجذب یونی صورت می‌گیرد (Narasimham and Parvatheswarao, 1974). ثابت شده است انتقال مایع روده‌ای در ماهیان استخوانی همانند سایر بافت‌های تنظیم کننده یونی به کمک NKA انجام می‌شود (Wilson and Castro, 2010). به علاوه، چون تاس‌ماهیان ایرانی پس از انتقال به آب دریای خزر در محیط ایزواسمیتیک قرار دارند (Shirangi et al., 2016) و با از دست دادن آب مواجه

باشند. با این وجود، بررسی دقیق سایر اندام‌های تنظیم کننده اسمزی به ویژه در سطح مطالعات ژنومیک ضروری است. پیشنهاد می‌شود برای تکمیل مطالعات مکانیسم تنظیم یونی در دریچه ماریپیچی ماهیان به سنجش فعالیت آنزیم NKA در دستگاه گوارش و شناسایی سایر انتقال دهنده‌های یون مانند مبادله کننده‌های Na^+/H^+ و $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ نیز پرداخته شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه تربیت مدرس (دانشکده علوم دریایی) و دانشگاه مونت پلیه

فرانسه به جهت حمایت مالی برای انجام این پژوهش قدردانی می‌شود. از سازمان شبلات ایران نیز به دلیل صدور مجوز استفاده از این گونه تحت خطر انقراض سپاسگزاری می‌شود. همچنین نویسندگان از جناب آقای مهندس عباسعلی‌زاده ریاست سابق محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی و جناب آقای مهندس علیزاده، کارشناس محترم تکثیر ماهیان خاویاری این مرکز که بدون حمایت ایشان انجام این پژوهش میسر نبود، کمال تشکر را دارند.

منابع

- تربیلوئید در انتقال مستقیم به شوری‌های متفاوت آب. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۴(۱): ۱۴۲-۱۲۹.
- شیرنگی س.آ. ۱۳۹۵. ارزیابی شیوه‌های انتقال مستقیم و تدریجی در سازگاری بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به شوری آب دریای خزر با استفاده از برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و ژنومیک. رساله دکتری، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۵۱ص.
- Allen P.J., Cech Jr. J.J. and Kultz D. 2009.** Mechanisms of seawater acclimation in a primitive, anadromous fish, the green sturgeon. *Journal of Comparative Physiology B*, 179: 903-920.
- Allen P.J., McEnroe M., Forostyan T., Cole S., Nicholl M.M., Hodge B. and Cech Jr. J.J. 2011.** Ontogeny of salinity tolerance and evidence for seawater-entry preparation in juvenile green sturgeon, *Acipenser medirostris*. *Journal of Comparative Physiology B*, 181: 1045-1062.
- Cataldi E., Ciccotti E., Di Marco P., Di Santo O., Bronzi P. and Cataudella S. 1995.** Acclimation trials of juvenile Italian sturgeon to different salinities: Morphophysiological descriptors. *Journal of Fish Biology*, 47: 609-618.
- Chew S.F., Tng Y.Y.M., Wee N.L.J., Tok C.Y., Wilson J.M. and Ip Y.K. 2010.** Intestinal osmoregulatory acclimation and nitrogen metabolism in juveniles of the freshwater marble goby exposed to seawater. *Journal of Comparative Physiology B*, 180 (4): 511-520.
- Cutler C.P. and Cramb G. 2002.** Two isoforms of the $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter are expressed in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1566: 92-103.
- 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. *Review of Physiology*, 85: 97-177.
- Gesner J., Freyhof J. and Kottelat M. 2010.** *Acipenser persicus*. The
- تقی‌زاده رحمت‌آبادی ز. ۱۳۸۶. تغییرات ریزساختار و پراکنش سلول‌های یونوسیت در مراحل اولیه لاروی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۵۸ص.
- رحیمی خ.، کلباسی م.ر.، خدابنده ص.، فروزنده م. و سلطان کریمی س. ۱۳۹۰. سازگاری ماهیان هیبرید (*Oncorhynchus mykiss* × *Salmo trutta caspius*)

- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015-2, from www.iucnredlist.org.
- Giffard-Mena I., Boulo V., Aujoulat F., Fowden H., Castille R., Charmantier G. and Cramb G. 2006.** Aquaporin molecular characterization in the sea-bass (*Dicentrarchus labrax*): The effect of salinity on AQP1 and AQP3 expression. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology A*, 148: 430–444.
- Gregorio S.F., Carvalho E.S.M., Encarnacao S., Wilson J.M., Power D.M., Canario A.V.M. and Fuentes J. 2013.** Adaptation to different salinities exposes functional specialization in the intestine of the sea bream (*Sparus aurata* L.). *The Journal of Experimental Biology*, 216: 470–479.
- He X., Zhuang P., Zhang L. and Xie C. 2009.** Osmoregulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) during brackish water adaptation. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 35 (1): 223–230.
- Jarvis P.L. and Ballantyne J.S. 2003.** Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum*. *Aquaculture*, 219: 891–909.
- Karasov W.H. and Hume I.D. 1997.** Vertebrate gastrointestinal system. P: 409–480. In: Dantzler W.H. (Ed.). *The Handbook of Physiology, Comparative Physiology*. The American Physiology Society, Oxford University Press. England.
- Kazemi R., Kraushkina L.S., Pourkazemi M. and Ogorzalek A. 2003.** Changes in blood serum osmolarity and ultrastructure of gill chloride cells in young Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) (Borodin) of different sizes during adaptation to sea water. *Zoologica Poloniae*, 48 (1-4): 5–30.
- Khatooni M.M., Amiri B.M., Hoseinifar S.H., Jafari V. and Makhdomi N. 2011.** Acclimation potential of *Acipenser persicus* post-larvae to abrupt or gradual increase in salinity. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 528–32.
- Khodabandeh S., Khoshnood Z. and Mosafer S. 2009.** Immunolocalization of Na⁺,K⁺-ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. *Aquaculture Research*, 40(3): 329–336.
- Loretz C.A. 1995.** Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. P: 25–56. In: Wood C.M. and Shuttleworth T.J. (Eds.). *Fish Physiology*, Vol. 14, Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation. Academic Press-Elsevier, USA.
- Lorin-Nebel C., Boulo V., Bodinier C. and Charmantier G. 2006.** The Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter in

- the sea bass *Dicentrarchus labrax* during ontogeny: Involvement in osmoregulation. *Journal of Experimental Biology*, 209(1): 4908–4922.
- Marshall W.S. and Grosell M. 2006.** Ion transport, osmoregulation, and acid–base balance. P: 177–230. In: Evans D.H. and Claiborne J.B. (Eds.). *The Physiology of Fishes*. CRC Press. Florida, USA.
- Marshall W.S., Howard L.A., Cozzi R.R.F. and Lynch E.M. 2002.** NaCl and fluid secretion by the intestine of the teleost *Fundulus heteroclitus*: Involvement of CFTR. *Journal of Experimental Biology*, 205: 745–758.
- Martoja R. and Martoja-Pierson M. 1967.** *Initiation aux Techniques de l'Histologie Animale*. Masson, Paris. 345P.
- McCormick S.D. 1995.** Hormonal control of gill Na⁺,K⁺-ATPase and chloride cell function. P: 285–315. In: Wood C.M. and Shuttleworth T.J. (Eds.). *Fish Physiology*, Vol. 14, Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation. Academic Press-Elsevier, USA.
- Narasimham C. and Parvatheswarao V. 1974.** Adaptations to osmotic stress in a fresh-water euryhaline teleost, *Tilapia mossambica* X. Role of mucopolysaccharides. *Acta Histochemica*, 51(1): 37–49.
- Nebel C., Romesand B., Negre-Sadargues G., Grousset E., Ajoulat F., Bacal J., Bonhomme F. and Charmantier G. 2005.** Differential freshwater adaptation in juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*: Involvement of gills and urinary system. *Journal of Experimental Biology*, 208: 3859–3871.
- Nielsen C.N., Madsen S.S.M. and Bjorsson B. 1999.** Changes in branchial and intestinal osmoregulatory mechanisms and growth hormone levels during smolting in hatchery-reared and wild brown trout. *Journal of Fish Biology*, 54: 799–818.
- Rodriguez A., Gallardo M.A., Gisbert E., Santilari S., Ibarz A., Sanchez J. and Castello-Orvay F. 2002.** Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 345–354.
- Seidelin M., Madsen S.S., Blenstrup H. and Tipsmark C.K. 2000.** Time-course changes in the expression of Na⁺/K⁺-ATPase in gills and pyloric caeca of brown trout (*Salmo trutta*) during acclimation to seawater. *Physiology and Biochemistry Zoology*, 73(4): 446–453.
- Shirangi S.A., Kalbassi M.R., Khodabandeh S., Jafarian H. and Lignot J.H. 2016.** Salinity effects on osmoregulation and gill morphology in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*).

- Fish Physiology and Biochemistry, 42(6): 1741–1754.
- Suvitayavat W., Dunham P.B., Hass M. and Rao M.C. 1994.** Characterization of the proteins of the intestinal $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ cotransporter. American Journal of Physiology, 267 (2): 284–292.
- Taghizadeh Rahmat Abadi Z., Khodabandeh S., Abtahi B., Charmantier G. and Charmantier-Daures M. 2011.** Ultrastructure and osmoregulatory function of the kidney in larvae of the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Journal of Fish Biology, 78: 1359–1374.
- Taghizadeh Rahmat Abadi Z., Khodabandeh S., Charmantier G., Charmantier-Daures M. and Lignot J.H. 2014.** Ontogeny and osmoregulatory function of the urinary system in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897). Tissue and Cell, 46: 287–298.
- Vajhi A.R., Zehtabvar O., Masoudifard M., Moghim M. and Akhtarzade M. 2013.** Digestive system anatomy of the *Acipenser persicus*: New features. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(4): 939–946.
- Varsamos S., Nebel C. and Charmantier G. 2005.** Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish. Comparative Biochemistry and Physiology A, 141: 401–429.
- Veillette P.A., White R.J., Specker J.L. and Young G. 2005.** Osmoregulatory physiology of pyloric ceca: Regulated and adaptive changes in chinook salmon. Journal of Experimental Zoology A, 303: 608–613.
- Whittamore J.M. 2012.** Osmoregulation and epithelial water transport: Lessons from the intestine of marine teleost fish. Journal of Comparative Physiology B, 182: 1–39.
- Wilson J.M. and Castro L.F.C. 2010.** Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. P: 1–55. In: Grosell M. (Ed.). The Multifunctional Gut of Fish, Vol 30, Fish Physiology. Elsevier Inc, Burlington, USA.



Immunolocalization of ion transporter proteins in spiral valve of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*, Borodin, 1897) juveniles during abrupt transfer from freshwater to the Caspian Sea water

Seyedeh Ainaz Shirangi¹, Mohammad Reza Kalbassi^{2*}, Saber Khodabandeh³,
Hojatollah Jafarian⁴

Received: June 2016

Accepted: August 2016

Abstract

In this study, the effect of abrupt transfer from freshwater (FW) to the Caspian Sea Water (CSW, 11‰) on ion-regulation capacity of intestine spiral valve were investigated in juvenile Persian sturgeon *Acipenser persicus* (2.55±0.41g). Immunofluorescence localization of ion transporter proteins including Na⁺,K⁺-ATPase (NKA), Na⁺,K⁺,2Cl⁻ (NKCC) and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) were performed 10 days after abrupt transfer. Co-localization of NKA and NKCC in the cytoplasm of enterocytes for both FW- and CSW-acclimated fish indicated that these two proteins were not affected by salinity transfer. Furthermore, CFTR was also found in the cytoplasm but mostly in apical membrane of spiral intestine enterocytes. Based on the obtained results, the main function of spiral valve is nutrient absorption and indirectly has a minor role in ion regulation in juvenile Persian sturgeon. Furthermore, this organ has good physiological development condition in 2-3g fish and it prepares their ability to expose to the Caspian Sea water salinity.

Key words: *Persian Sturgeon, Spiral Valve, Ion-Regulation, Na⁺,K⁺-ATPase, Na⁺,K⁺,2Cl⁻ Cotransporter, CFTR.*

1- Ph.D. Student in Fisheries, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

2- Professor in Fisheries Department, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

3- Associate Professor in Marine Biology Department, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

4- Associate Professor in Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran.

*Corresponding Author: kalbassi_m@modares.ac.ir