Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۶۹، شماره ۳۱، پاییز ۱۳۹۵

صفحات ۳۳۹-۳۳۱

تأثیر سطوح مختلف شوری بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ماهی سی‌باس آسیایی *(Lates calcarifer)*

شیرین حامدی[۱] روح اله رحیمی*[۲] محمود نفیسی بهابادی[۳] مریم عضدی[۴] زهرا سلیمانی[۵]

۱. *دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، چهار محال بختیاری، ایران*

۲. *استادیار، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، چهار محال بختیاری، ایران*

۳. *دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.*

۴. *کارشناس، مرکز مطالعات دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران*

۵. *دکتری تخصصی بافت شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۱۹ تاریخ تصویب:۱۳۹۵/۱۰/۱۲

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی بافت کلیه ماهی سی باس آسیایی *(Lates calcarifer)* در پاسخ به شوری آب انجام گرفت. برای این تحقیق، پس از ۱۴ روز سازگاری در مخازن، ۴ تیمار ۱۵، ۳۵ و ۵۰ گرم در لیتر شوری و تیمار آب شیرین (تیمار شاهد) با سه تکرار در نظر گرفته شد. بدین منظور بچه ماهیان با میانگین وزنی ۰/۴۱±۳۴/۳۶ گرم برای مدت ۳۰ روز مورد سنجش قرار گرفتند. ۱۵ قطعه بچه‌ماهی به صورت تصادفی در هر یک از ۱۲ مخزن استوانه‌ای فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری توزیع شدند. ماهیان روزانه ۲ نوبت تا حد سیری با غذای پلت تغذیه شدند. جهت سازگاری ماهیان با تیمارهای مورد نظر، روزانه به میزان ۳ گرم در لیتر شوری آب مخازن کم شد تا به شوری‌های مورد نظر در تیمارها رسیدند. در پایان دورهٔ تحقیق، نمونه‌های بافت کلیه جمع آوری شدند. در طول دوره آزمایش در میان تیمارها تلفات مشاهده نگردید. بررسی‌های آسیب شناسی بافت کلیه در تمام تیمارها (به جز شوری ۵۰ گرم در لیتر) برخی تغییرات از جمله هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری، کاهش فضای لومن و افزایش تجمع ملانوماکروفاژها، نفوذ گویچه‌های سفید خون و نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری را نشان داد. به طور کلی، بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، ماهی سی باس سازگاری خوبی در پاسخ به سطوح مختلف شوری بعد از ۳۰ روز نشان داد. اما بطور کلی بیشترین اثرات بافتی متعلق به تیمار صفر و کمترین اثرات متعلق به شوری ۳۵ درهزار بوده است. نتایج بدست آمده نشان داد که این گونه می‌تواند تغییرات شوری در دامنهٔ آب‌های لب‌شور و شوری‌های معمول آب دریا را تحمل کند.

واژگان کلیدی: ماهی سی باس آسیایی ، بافت کلیه، شوری، هیستوپاتولوژی

* نویسنده مسوول: ایمیل: rahimi@nres.sku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

استرس به معنای یک جریان فیزیولوژیک از وقایعی است که در زمانی که جانور سعی در ایجاد دوباره وضعیت پایدار خود بعد از مواجهه با تهدیدات دریافتی را دارد، رخ می‌دهد (Ramsay *et al*., 2006) و به عبارتی شرایطی است که در آن جانور قادر به نگهداری وضعیت فیزیولوژیک طبیعی خود به علت عوامل متغیری که بر وضعیت طبیعی آن تاثیر می‌گذارند، نیست (Makvandi *et al*., 2012). شوری عمده ترین عامل محیطی است که می‌تواند بر روند تنظیم اسمزی در ماهیان اثر بگذارد، اما سیستم اسمزی در ماهیان نمی‌تواند فقط وابسته به شوری باشد. مهاجرت ماهیان بین دو محیط متفاوت از نظر شوری نیازمند مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌باشد. در ماهیان استخوانی سطوح یونی خارج سلولی و تنظیم اسمزی قبل از هر چیز توسط آبشش‌ها، روده و کلیه‌ها کنترل می‌گردد (Sattari, 2002). شوری می‌تواند تاثیر شدیدی بر نمو ماهی از نظر مورفولوژیک و فیزیولوژیک در دریا بگذارد و این ماهیان ممکن است پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوت و معنی‌داری را در شوری‌های مختلف بروز دهند. موفقیت ماهیان در هر زیستگاه با شرایط معین بستگی به توانایی آن در غلبه بر تغییرات شوری در هنگام تنظیم اسمزی دارد(Varsamos *et al*., 2005).

کلیه بسیاری از ماهیان، اندامی باریک، طویل و به رنگ قرمز تیره است که در امتداد ناحیه‌ی پشتی دیواره‌ی بدن، درست در زیر ستون مهره‌ها کشیده شده است (Ghahremanzadeh *et al*., 2014). کلیه به عنوان یکی از اندام‌های دفعی نقش مهمی در تنظیم اسمزی و حفظ و نگهداری هومئوستازی مایعات بدن ایفا می‌کند (Sattari, 2002). و نقش فعالی در خروج یون‌های دو ظرفیتی و حذف آب اضافی به ترتیب در محیط‌های هایپواسموتیک[۱] و هایپراسموتیک[۲] دارد(Ghahremanzadeh *et al*., 2014). تغییرات و تفاوت‌های کلیه زمانی که گونه‌های آب شیرین و شور مقایسه می‌شوند، قابل مشاهده است چرا که تفاوت‌های محیطی سبب بروز نیازهای متفاوت در ساختار کلیه می‌شوند (Reimschuessel, 2001). ماهیان استخوانی دریایی با اسمز آب و جذب نمک مواجه هستند در نتیجه کلیه به عنوان وسیله‌ای جهت دفع یون‌های کلسیم و منیزیم عمل می‌کند و نقش گلومرول‌ها کمتر می‌شود (Beyenbach and Baustian, 2003; Evans *et al*., 2005; Nishimura and Fan, 2003). تفاوت‌های ساختمانی لوله‌های ترشحی ادراری، در ماهیان استخوانی حقیقی، آب شور و آب شیرین مشخص شده است. به طوری که قسمت لوله‌های پیچیده دور در ماهیان آب شور وجود ندارد. بعلاوه گلومرول‌های ماهیان استخوانی حقیقی، آب شیرین بسیار زیاد و بزرگ هستند در حالیکه در ماهیان استخوانی حقیقی آب شور، تعداد و اندازه آن‌ها کاهش می‌یابد (Pousti and Sedigh marvasti, 1999). در ماهی‌های استخوانی دریایی (آب شور)، خطر دائمی خروج و دفع آب از آبشش‌ها وجود دارد. بنابراین حفظ آب لازم است و از طرفی باید حجم ادرار کم شود (Pousti and Sedigh marvasti, 1999). کلیه نقش مهمی در تنظیم اسمزی یک ماهی استخوانی مقاوم به شوری به نمایش می‌گذارد و با تغییر در میزان جریان ادرار و کنترل تعادل میان ترشح و بازجذب یون‌ها در شوری‌های مختلف محیطی در نگهداری هومئوستاز بدن آبزیان موثر است (Dantzler, 2003). تغییر در مورفولوژی کلیه یکی از استراتژی‌های تنظیم اسمزی در ماهیان مقاوم به شوری می‌باشد. عملکرد، مورفولوژی، اندازه و تعداد لوله‌های کلیوی وابسته به شوری محیط می‌باشد. کلیه نقش مهمی در تنظیم اسمزی ماهیان استخوانی دریایی و آب شیرین بازی می کند، اگرچه نقش کلیه در شرایط آب شیرین و آب شور کاملاً متفاوت می‌باشد (Beyenbach *et al*., 2003). ماهی Lates calcarifer [۳] که به عنوان سوف دریایی غول آسا یا باس دریایی آسیایی شناخته می‌شود، ماهی اقتصادی مهم در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری در آسیا - اقیانوسیه است (Mathew, 2009). از ماهیان رودکوچ[۴] بوده که توانایی سازگار شدن در هر دو محیط آب شور و شیرین را دارد

[۱] Hypoosmotic
[۲] Hyperosmotic
[۳] Bloch
[۴] catadromous

www.SID.ir

Archive of SID

(Paterson *et al*.,2003). پرورش این گونه در سال ۱۹۷۰ در تایلند آغاز، و به سرعت در سراسر آسیای جنوب شرقی گسترش یافته است (Mathew, 2009). سازش پذیری با غذای دستی، تکثیر در شرایط اسارت، نرخ رشد سریع و قیمت بالای محصول در بازار به واسطه کیفیت بالای گوشت از عواملی است که ماهی سی‌باس را به یک گونه مناسب برای آبزی پروری تبدیل می‌کند (Singh, 2000; Mathew, 2009). سی باس دارای رشد سریع می‌باشد، در طول مدت شش ماه تا دو سال به سایز قابل برداشت (۳۵۰ گرم تا ۳ کیلوگرم) می‌رسد (Allen *et al*., 2002). این ماهی دارای محدوده تحمل حرارتی بسیار گسترده (۴۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد و پرورش آنها در درجه حرارت ۳۵-۲۲ درجه صورت می‌گیرد (Robin *et al*., 2005). ماهی سی باس آسیایی به عنوان یک گونه پرورشی به تازگی وارد کشور شده است، این گونه از یک سو دارای اهمیت پرورشی، اقتصادی و بازارپسندی بالایی است و از سوی دیگر با توجه به توانائی تحمل دامنه گسترده شوری می‌تواند به عنوان یک گونه پرورشی مناسب به منابع آب‌های شیرین معرفی شود. به دست آوردن میزان شوری بهینه بعنوان یکی از فاکتورهای مهم در پرورش ماهیان بسیار حائز اهمیت می‌باشد. چنانچه بتوان از آب‌های شور و لب شور منابع داخلی جهت پرورش ماهیانی با ارزش اقتصادی و سازگار با شرایط جدید استفاده کرد تا حدود زیادی می‌توان کمبود پروتئین‌های جانوری را جبران نمود (Hafez Amini, 2003).

بنابراین هدف از این تحقیق تاثیر سطوح مختلف شوری با بررسی تغییرات پاتولوژی بر عملکرد بافت کلیه‌ی ماهی سی باس آسیایی و ارزیابی استرس ناشی از کاهش شوری در طولانی مدت بر این ماهی بوده است. تأثیرات میزان شوری محیط، به خصوص برای پرورش این آبزیان در سیستم‌های پرورشی بسیار مهم است و تنها زمانی که شوری آب در دسترس، با ماهیان مورد نظر سازگار باشد، می‌توان از آب لب‌شور به عنوان یک مزیت برای توسعه آبزی‌پروری یاد کرد.

۲. مواد و روشها

مراحل اجرایی تحقیق از دی ماه تا اسفند ماه ۱۳۹۳ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی پژوهشکده دانشگاه خلیج فارس بوشهر به انجام گردید. تعداد ۲۵۰ قطعه بچه ماهی در ابتدا به مدت ۱۴ روز در مخزن‌های ذخیره (به حجم $3m^3$) برای تایید سلامت و سازگاری با شرایط سوله نگهداری شدند.

۱.۲. طراحی سیستم آزمایش

در این آزمایش از ۱۲ مخزن فایبر گلاس استوانه‌ای ۳۰۰ لیتری استفاده گردید. حجم آب موجود در تانک‌ها در طول مدت آزمایش ۲۰۰ لیتر بود. هر مخزن با استفاده از یک سنگ هوا، هوادهی می‌شد که میزان اکسیژن آب در سطح ۸۰ تا ۹۰٪ اشباع حفظ شد. مخزن‌ها در محیط سرپوشیده‌ی سوله قرار داشتند و به صورت کاملاً تصادفی[۱] بین تیمارها تقسیم شدند. برای تأمین منبع آب شور (تیمار ۵۰ گرم) مورد نیاز تحقیق از آب خلیج فارس استفاده شد. برای تأمین آب شیرین از آب یک حلقه چاه موجود در محل استفاده شد. برای تامین آب تیمارهای ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر عمل رقیق سازی با محاسبهٔ نسبت میزان مورد نیاز از آب شور بوسیلهٔ آب شیرین لازم برای مخلوط سازی صورت پذیرفت، سپس با دستگاه شوری سنج صحت شوری‌های تهیه شده بررسی شد تا بطور دقیق بر اساس شوری مورد نظر مخزن برای آزمایش باشد (Moustakas *et al*., 2004).

۲.۲. طرح آزمایش

در شروع آزمایش ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قبل از انتقال به تیمارهای آب شور قطع غذادهی شدند و بعد از انجام عملیات زیست‌سنجی (اندازه گیری وزن)، تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی با میانگین وزن ۰/۴۱±۳۴/۳۶ گرم انتخاب شدند. بچه ماهیان ابتدا در یک طرح کاملاً تصادفی بین ۱۲ مخزن فایبر گلاس توزیع شدند (۱۵ قطعه ماهی به ازاء هر تانک)که اختلاف معنی داری از لحاظ وزنی نداشتند. به منظور بررسی اثرات تیمارهای شوری بر روی عملکرد بافت

[۱] Completely randomized design

www.SID.ir

Archive of SID

کلیه ماهی چهار تیمار(تیمار اول: آب شیرین، تیمار دوم: شوری ۱۵ گرم در لیتر، تیمار سوم: شوری ۳۵ گرم در لیتر و تیمار چهارم: شوری ۵۰ گرم در لیتر) با سه تکرار در نظر گرفته شد که به مدت ۳۰ روز در طول دوره‌ی آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. تنظیم شوری به تدریج و در طی مدت ۱۵ روز انجام پذیرفت که جهت سازگاری ماهیان با تیمارهای مورد نظر، روزانه به میزان ۳ گرم در لیتر شوری آب ماهیان کاهش پیدا کرد تا به شوری‌های مورد نظر رسیدند. غذادهی از شروع تا پایان آزمایش در حد سیری و متناسب با درجه حرارت و به صورت دستی در دو نوبت انجام شد. غذای مورد استفاده ، غذای کنسانتره (پلت خشک) مخصوص سی‌باس (ساخته شده توسط شرکت تعاونی تولیدی بیضاء استان فارس بود. در طول دوره آزمایش، فضولات ماهیان همه روزه به وسیله سیفون کردن مخزن‌ها از محیط خارج و درصدی ازحجم آب مخزن‌ها تعویض می‌گردید و شوری مورد نظر مخزن دوباره تنظیم و وضعیت شنا و تغذیه ماهیان بطور روزانه بررسی می‌شد.

۳.۲. اندازه گیری خصوصیات فیزیکی-شیمیایی آب

در طول مدت آزمایش ویژگی‌های آب به‌صورت روزانه با استفاده از دستگاه پارامترسنج دیجیتال قابل حمل چندکاره (WTW, Germany) اندازه‌گیری و اطلاعات آن‌ها ثبت گردید. دما برحسب درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول برحسب mg/ l و شوری برحسب ppt (گرم در لیتر) اندازه‌گیری شد. تغییرات درجه حرارت آب در محدوده ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، دامنه اکسیژن بین ۷/۵ تا ۸/۵ میلی گرم در لیتر و دامنه تغییرات pH ۷/۳ تا ۸/۵ ثبت گردید. رژیم نوری در نظر گرفته شده در طول دوره پرورش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود و غذادهی ماهیان در طول دوره روشنایی روزانه انجام شد.

۴.۲. نمونه برداری

عملیات جداسازی بافت در پایان دوره آزمایش، ۳۰ روز پس از انتقال ماهی‌ها به تیمارهای مورد نظر و با استفاده از ماده‌ی بیهوشی اتیلن اتر[۱] با غلظت ۰/۵ میلی لیتر به ازای هرلیتر آب و در شرایط یکسان برای آن‌ها انجام گرفت. از هر مخزن بطور کاملا تصادفی ۴ قطعه ماهی انتخاب گردید (در کل ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار) و زیست سنجی نمونه (ثبت طول کل و وزن کل) انجام شد. روزانه علائم ظاهری ماهیان ثبت می‌شد و ماهیان تلف شده برای جلوگیری از آلودگی به سرعت از مخازن تخلیه می‌شدند. وزن سایر ماهیان در پایان آزمایش با زیست سنجی توده‌ای ثبت گردید.

۵.۲. بررسی نمونه‌های بافت شناسی

به منظور مطالعه ساختار کلیه در ابتدای آزمایش به صورت کاملاً تصادفی تعداد ۴ قطعه ماهی انتخاب شد و در پایان آزمایش به صورت کاملاً تصادفی از هر یک از مخزن‌ها تعداد ۴ قطعه ماهی انتخاب (در کل ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار) قسمت بافت کلیه آن‌ها جدا و در ظروف جداگانه درون فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. ۲۴ ساعت بعد فرمالین ظروف تعویض و سپس به آزمایشگاه بافت شناسی پژوهشکده دانشگاه خلیج فارس بوشهر منتقل شدند. مبنای انتخاب فرمالین به عنوان ماده تثبیت کننده، قدرت نفوذ مناسب به همراه قابلیت سازگاری آن با انواع بافت‌ها و روش‌های آماده سازی و رنگ آمیزی آن‌ها بود (Pousti and Adib Moradi, 2000). نمونه‌های بافتی برای بررسی بوسیله میکروسکوپ نوری در محلول بوئن تثبیت و سپس برای نگهداری در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند. مراحل آبگیری با استفاده از الکل‌های ۹۰ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً با الکل بوتیلیک (۱۲ ساعت) انجام گرفت. سپس نمونه‌ها با استفاده از گزیلین شفاف سازی شده و به مدت ۱۲ ساعت در داخل آون (دمای ۶۰ درجه سانتی گراد) در پارافین مایع قرار داده و سپس با استفاده از دستگاه پارافین دیسپنسر (مدلPOOYAN MK 1320) قالب‌گیری شدند (Pousti and Adib Moradi, 2000). پس از قالب‌گیری با استفاده از میکروتوم (MICROM HM 360) مقاطع نمونه بافت‌ها به ضخامت ۴ میکرون برش داده شده و به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E)

[۱] ethylene glycol monophenyl ether

www.SID.ir

Archive of SID

رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل نیکون E-600) متصل به برنامه محاسبه‌گر میکروسکوپی (NIKON DIGITAL SIGHT) مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفتند.

۳. نتایج

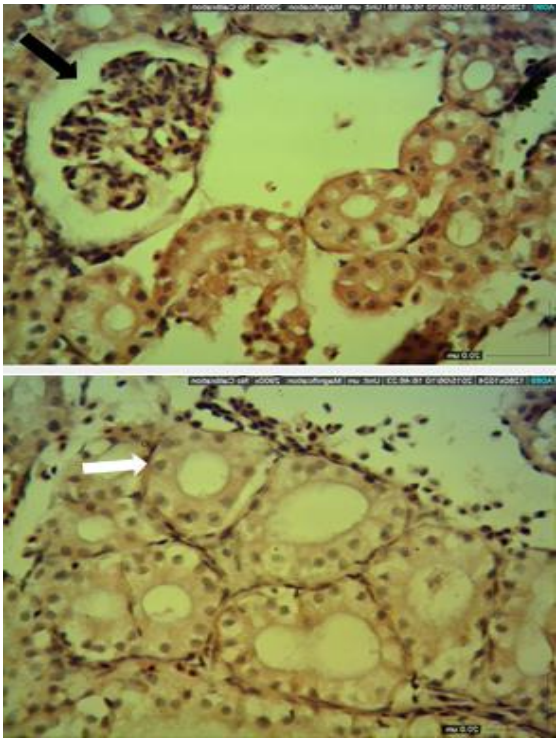
تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از قرار گرفتن در شوری‌های مختلف در بافت کلیه ماهی سی باس آسیایی در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است، اسلایدهای مورد بررسی نشان دادند که در طول مدت مطالعه نمونه‌های تیمار ۵۰ گرم در لیتر همواره ساختار طبیعی اولیه خود را حفظ کردند و در آن‌ها تغییرات بافت شناختی دیده نشد. جسمک‌های کلیوی و لوله‌های ادراری همه ساختار طبیعی داشتند. در تیمارهای مورد بررسی آب شیرین، شوری ۱۵ و ۳۵ گرم در لیتر آسیب‌های تقریباً مشابهی از نظر نوع عارضه مشاهده شد که برخی از این آسیب‌ها مانند هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های بافت پوششی لوله‌ها، کاهش فضای لومن و افزایش تجمع ملانوماکروفاژها از گستردگی بیشتری برخوردار بود، ولی گستردگی و میزان این نوع عوارض به ترتیب با کاهش شوری افزایش پیدا کرد بطوری‌که بیشترین میزان تغییرات پاتولوژیک بررسی شده در بافت کلیه آب شیرین دیده شد. علاوه بر عوارض بافت شناختی مشابه مشاهده شده در تمامی تیمارها، در غلظت ۳۵ گرم در لیتر نفوذ گویچه‌های سفید خون نیز در مقایسه با سایر تیمارها آشکار بود. همچنین در شوری ۱۵ و آب شیرین افزایش تجمع ملانوماکروفاژها در اسلایدهای مورد بررسی مشاهده شد. کاهش فضای لومن مشاهده شده در تیمارهای ۱۵ و ۳۵ در آب شیرین به انسداد این فضا انجامید. در تیمار مورد بررسی آب شیرین، علاوه بر گسترده‌تر بودن عوارض نسبت به اثرات شوری‌های ۱۵ و ۳۵ ، نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری نیز مشاهده شد.

۴. بحث و نتیجه گیری

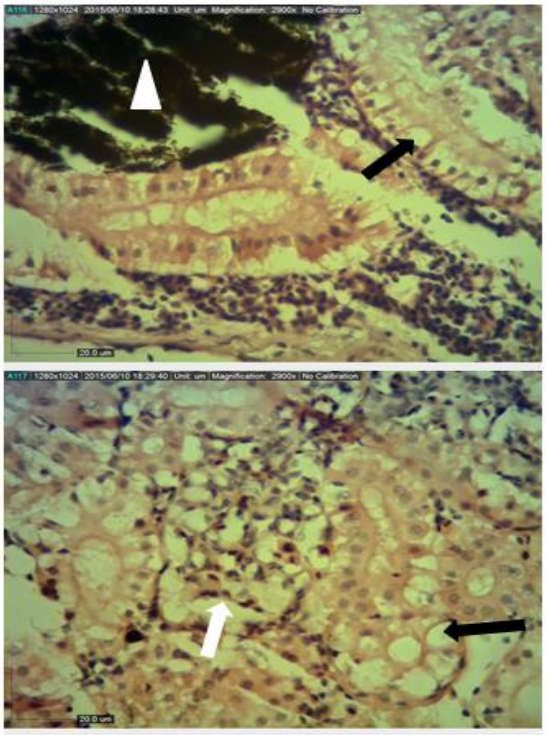
در این تحقیق آسیب‌های هیستوپاتولوژیک ناشی از قرار گرفتن در معرض غلظت‌های مختلف شوری آب در بافت کلیه ماهی سی باس آسیایی شامل هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌ها، کاهش فضای لومن و افزایش تجمعات ملانوماکروفاژی بود. گستردگی این آسیب‌ها با کاهش شوری افزایش پیدا کرد بطوری که بیشترین میزان تغییرات پاتولوژیک بررسی شده در بافت کلیه تیمار آب شیرین مشاهده شد. در غلظت ۳۵ گرم در لیتر نفوذ گویچه‌های سفیدخون نیز آشکار بود. علاوه بر تمامی این موارد در تیمار آب شیرین انسداد فضای لومن و نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری نیز مشاهده شد. تغییرات مهم آسیب شناسی مشاهده شده در بخش‌های میانی کلیه، تغییر شکل گلومرول‌ها و نکروز سلول‌های توبولی است بنابراین تغییر اندازه سلول‌ها و انسداد فضای لومن می‌تواند اختلال عملکردی کلیه را در پی داشته باشد. از نکروز لوله‌های کلیوی که اغلب به دلیل تجمع دانه‌های هیالینی، جریان پروتئین و هیپرتروفی سلول است، تقریبا در همه مطالعات هیستوپاتولوژیک به عنوان یکی از اثرات اصلی و مهم در کلیه ماهیان نامبرده شده است (Dezfuli *et al*., 2006). آسیب‌های سلول‌های کلیوی سرانجام می‌تواند به نکروز سلولی منجر شود (Takashima and Hibiya, 1995). به دنبال نکروز، بازسازی اپیتلیوم توبولی به سلامت غشاء پایه باقی مانده بستگی دارد. در غیر این صورت ترمیم به وسیله فیبروز انجام می‌گیرد (Shahsavani and Movasaghi, 2002). نکروز ضایعه‌ای است که در آن سیتوپلاسم سلول‌ها در تمام قسمت‌ها بطور یکنواخت رنگ‌پذیر می‌شوند. هسته‌ی سلول‌ها کوچک و کروماتین سلول متراکم می‌گردد و به اصطلاح پیکنوزه می‌گردد و در صورت ادامه پیدا کردن در نهایت به دژنره شدن هسته و مرگ سلول ختم می‌شود (Genten *et al*., 2009). انواع دژنرسانس در بافت پوششی لوله‌های ادراری نفوذ گلیکوژن می‌باشد. گاهی تجمع بسیار زیاد گلیکوژن ممکن است در قسمت‌های کوچک یا بزرگی از بافت پوششی لوله‌ها بوجود آید، که سبب نکروز و از بین رفتن تدریجی سلول‌های پوششی می‌گردد (Pousti and Sedigh Marvasti, 1999). بررسی نمونه‌های مربوط به کلیه در تحقیق حاضر مواردی از جمله افزایش مراکز ملانوماکروفاژ را نشان داد. شکل‌گیری مراکز ملانوماکروفاژ واکنش دفاعی این اندام در برابر ماده خارجی تحریک کننده می‌باشد. طی این واکنش

www.SID.ir

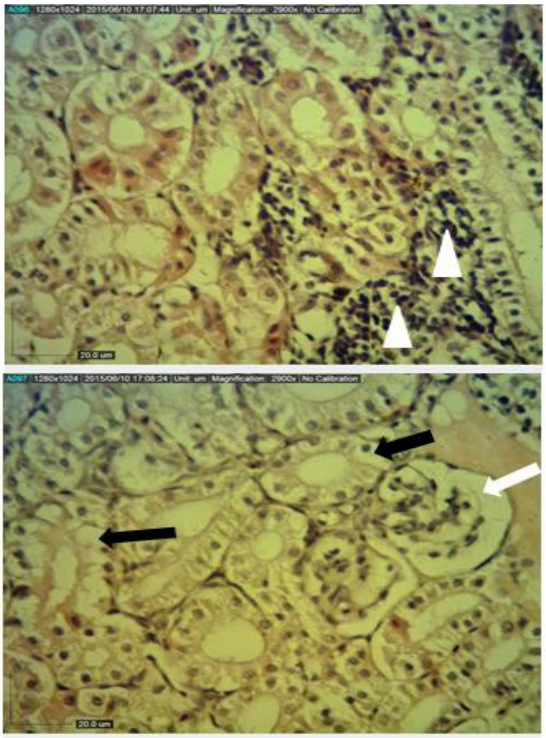
Archive of SID



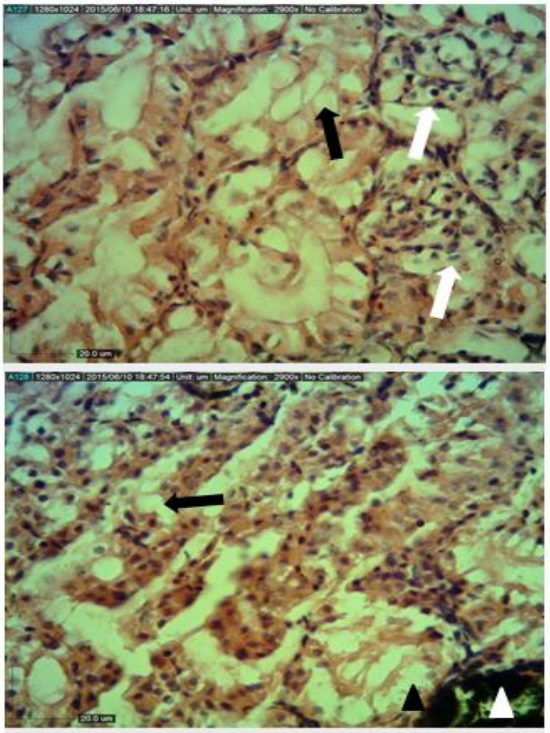
شکل ۱. نگاره میکروسکوپ نوری ساختار بافتی کلیه ماهی سی باس آسیایی در تیمار شوری ۵۰ گرم در لیتر: جسمک‌های کلیوی (فلش سیاه) و لوله‌های ادراری (پیکان سفید) ساختار طبیعی خود را دارند (H&E;×۲۹۰۰).



شکل ۳. نگاره میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کلیه ماهی سی باس آسیایی در تیمار ۱۵ گرم در لیتر: افزایش تجمع ملانوماکروفاژها (سر پیکان سفید)، هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری (پیکان سیاه)، کاهش فضای لومن (پیکان سفید) (H&E;×۲۹۰۰).



شکل ۲. نگاره میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کلیه ماهی سی باس آسیایی در تیمار شوری ۳۵ گرم در لیتر: نفوذ گویچه‌های سفید خون (سر پیکان سفید)، هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری (پیکان سیاه)، کاهش فضای لومن (پیکان سفید) (H&E;×۲۹۰۰).



شکل ۴. نگاره میکروسکوپ نوری تغییرات بافتی کلیه ماهی سی باس آسیایی در تیمار آب شیرین: افزایش تجمع ملانوماکروفاژها (سر پیکان سفید)، هیپرتروفی و واکوئله شدن سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری (پیکان سیاه)، انسداد فضای لومن (پیکان سفید) نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌های ادراری (سر پیکان سیاه) (H&E;×۲۹۰۰).

www.SID.ir

Archive of SID

رنگدانه‌ها از سلول‌های رنگدانه‌ای آزاد شده و در برابر عامل مزاحم از اندام دفاع می‌کنند سپس توسط ماکروفاژها بلعیده شده و از بدن دفع می‌شوند (Shahsavani and Movasaghi, 2002). لکه‌های سیاه مشاهده شده در برخی نمونه‌ها همان مراکز ملانوماکروفاژ حاوی ملانین بوده و مکانیسم دفاعی فوق را درکلیه نشان می‌دهد، لذا عارضه پاتولوژیک جدی محسوب نشده و قابل اغماض می‌باشد. مراکز ملانوماکروفاژ، ساختمان‌های کپسول‌دار جداگانه‌ای هستند که علاوه بر طحال، در کبد، کلیه و گاهی سایر نقاط مانند غدد جنسی و تیروئید یافت می‌شوند. این مراکز به عنوان مخازنی برای محصولات نهایی تجزیه سلولی مانند فسفولیپیدها و نیز برای آنتی‌ژن‌ها یا سایر مواد ذره‌ای دیگر عمل می‌کنند. رنگ مراکز ملانوماکروفاژی در ماهی طبیعی از صورتی تا قهوه‌ای طلایی (سروئید یا لیپوفوشین) متغیر است، اما این رنگدانه در ماهی بیمار یا مسن‌تر تیره‌تر (ملانین) می‌باشد (Shahsavani and Movasaghi, 2002). افزایش تعداد مراکز ملانوماکروفاژی به دلیل درگیری آن‌ها در مکانیسم‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی بوده و منجر به افزایش فعالیت فاگوسیتوزی و کموتاکسیک و به دنبال آن مهاجرت لنفوسیت‌ها و افزایش تراکم لنفوسیتی در آن می‌شود (Taheri *et al*., 2014). همچنین آسیب‌های وسیع به لوله‌های ادراری و یا گلومرول‌ها باعث ناپدید شدن تدریجی آن‌ها و جایگزینی بافت لنفاوی بینابینی در آن‌ها می‌گردد، لوله‌های ادراری و گلومرول‌ها مجددا بعد از تمام شدن بیماری دوباره ساخته و ترمیم می‌گردند (Pousti and Sedigh Marvasti, 1999). تصور این است که تغییرات پیشرفته بر اثر افزایش فعالیت سلول‌ها و اندام‌ها قابل برگشت می‌باشد. این تغییرات اغلب در بافت‌های پوششی لوله‌های پیچیده پروکسیمال قابل مشاهده است. سلول‌های هیپرتروفی شده، دانه‌های بسیار ریزی را در سیتوپلاسم نشان می‌دهند. حد و مرز سلول‌ها بوضوح قابل تشخیص نیست و فضای داخلی لوله کاهش می‌یابد، اگرچه هیچ گونه تغییر سلولی قابل ملاحظه‌ای وجود ندارد (Pousti and Sedigh Marvasti, 1999). بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه اثر شوری‌های مختلف (۵، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ گرم بر لیتر) بر تغییرات ساختار کلیه در ماهی صبیتی (Sparidentex hasta) در سال ۱۳۹۰ توسط میرعالی و همکاران، تغییرات در ساختار بافتی کلیه طی ۴۸-۲۴ ساعت پس از استرس وارد شده به حالت پایه باز می‌گردد، که نشان دهنده‌ی غلبه ماهی بر استرس محیطی وارد شده است و به نظر می‌رسد با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مطالعه Rostami and Sohrabi Haghdoust (2006) بر روی ضایعات هیستوپاتولوژی در ماهی، مقدار زیادی رنگدانه در داخل ماکروفاژهای خونی یا بافتی، و همچنین افزایش بافت لمفوئیدی به همراه نکروز توبول‌های کلیوی دیده شد. این محققین، با مشاهده مراکز ملانوماکروفاژی بیان داشتند که این یک سپتی سمی حاد بوده که از مشخصه‌های اختصاصی و واضح این سپتی سمی وجود میزان زیادی از ملانین آزاد است که از مراکز ماکروفاژهای ملانینی بافت خون‌ساز تخریب شده منشأ می‌گیرند و هیچ گونه ضایعات جلدی دیده نشد. محققین با مطالعه آسیب شناسی کلیه ماهی حوض، افزایش ملانوماکروفاژی، پرخونی و نکروز لوله‌های ادراری را مشاهده کردند (Shahsavani *et al*., 2008). همچنین با مطالعه اثر استرس ماده ضدعفونی کننده آکوآجرم بر کلیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و مشاهده همین تغییرات بیان گردید، ضایعات محدود بافتی مشاهده شده عمدتاً عکس العمل طبیعی اندام های مورد مطالعه نسبت به یک ماده خارجی بوده و آسیب پاتولوژیک جدی محسوب نمی‌شوند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارند (Afzali *et al*., 2011). بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت نشانگر مناسبی برای مطالعه پاسخ سلولی و بافتی اندام‌ها به استرس در آبزیان است. پاسخ‌های هیستوفیزیولوژیک در واکنش به استرسورهای محیطی به مدت زمان در معرض بودن، غلظت، گونه ماهی، سن و شرایط فیزیولوژیک آبزی بستگی دارد (Taheri *et al*., 2014). شناخت کمی در مورد اثرات شوری‌های مختلف روی اندام‌های تنظیم اسمزی ماهیان دریایی وجود دارد و تاکنون مطالعات کمی روی تاثیرات انتقال از آب دریا به شوری‌های دیگر روی تغییرات در مورفولوژی کلیه انجام شده است. بنابراین مطالعه این اثرات در برابر شوری‌های مختلف ضروری به نظر می‌رسد زیرا چنین اطلاعاتی ممکن است در طراحی برنامه‌های بازسازی ذخایر و استفاده آبزی پروری از

www.SID.ir

Archive of SID

آب‌های لب‌شور ارزشمند باشد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد تغییرات هیستوپاتولوژیک ایجاد شده در کلیه ماهی سی باس آسیایی پس از مواجهه با شوری‌های مختلف آب نوعی پاسخ فیزیولوژیک است که جاندار برای جلوگیری از آسیب‌های وارده ایجاد کرده است. همچنان که نتایج مطالعه Razmara *et al*., (2014) بر تغییرات بافتی گربه ماهی رنگین کمان نیز موید همین مطلب است. بنابراین سطوح مختلف شوری مورد آزمایش اثرات پاتولوژیک خاصی بر اندام حیاتی کلیه این ماهی نداشت و می‌توان با انجام آزمایش‌ها و مطالعات تکمیلی روی این ماهی و سایر اندام‌های حیاتی آن و بررسی کامل تمامی جوانب رشد و پرورش آن، آن را به عنوان گونه جایگزین در آب‌های لب شور پیشنهاد نمود.

۵. تشکر و قدردانی

این تحقیق با مساعدت مرکز تحقیقات دانشگاه خلیج فارس بوشهر و همکاری پرسنل این مجموعه همچنین با یاری صمیمانه‌ی آقای دکتر وحید مرشدی و مهندس هادی ابراهیمی انجام شده که نهایت تشکر از این عزیزان و آرزوی موفقیت برای همه‌ی آن‌ها را داریم.

References

Allen, G.R., Midgley, S.H, Allen, M., 2002. Field guide to the freshwater fishes of Australia. Western Australian Museum, Perth, Western Australia. 394 p.

Afzali, F., Sharifpour, I., Soltani, M., Abtahi, B., 2011. Study of liver and gill tissue changes of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to Aquagerm bathing. *Journal of Renewable Natural Resources* 1, 63-70.

Beyenbach, K. W., Baustian, M. D., 2003. Comparative physiology of the proximal tubule, in Structure and function of the kidney. *American Journal of Physiology* 53, 48-71.

Beyenbach, K. W., 2003. Kidney sans glomeruli. *American Journal of Physiology* 286, 811-827.

Dantzler, W.H., 2003. Regulation of renal proximal and distal tubule transport: sodium chloride and organic anion. *Comparative Biochemistry and Physiology* 136, 453-478.

Dezfuli B.S., Simoni E., Giani L. and Mormera M., 2006. Effects of experimental terbuthylazine exposure on the cells of *Dicertrarchus labrax*. *Chemosphere* 64, 1684–1694.

Evans D.H., Piermarim P.M Choe K.M., 2005. The multifunctional gill: Dominate site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews* 85, 97–177.

Ghahremanzadeh Z., Bani A., Imanpoor Namin J., Hallajian A., 2014. Comparative investigation of kidney tubules of Kutum, *Rutilus frisii kutum* in brackish water (Caspian Sea) and fresh water (Khoshkrood River). *Journal of Animal Researches* 27, 134-142.

Genten F., Terwinghe E., Danguy A., 2009. Atlas of fish histology. *Science publisher*. 92-98, 215 p.

Hafez Amini, P., 2003. The effect of NaCL stress on blood glucose and cortisol in Common carp. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 3, 35-42.

Makvandi, H., Khodadadi, M., Keyvanshokouh, S., Mohamadi Makvandi, Z., 2012. The effect of salinity stress on cortisol and glucose levels in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fingerling. *Journal of Aquatic Animal and Fisheries* 8, 76-84.

Mathew, G., 2009.Taxonomy, identification and biology of Seabass (*Lates calcarifer*). National Training on 'Cage Culture of Seabass' held at CMFRI, Kochi. Central Marine Fisheries Research Institute 38-43.

MirAli, A., Moavahedinia, A., Abdi, R., Salati, A., 2012. Kidney histological responses against various environmental salinity in Sobaity seabream (*Sparidentex hasta*). *Journal of Marine Sciences and Technology* 4, 15-21.

Moustakas C.T., Watanabe W.O. and Copeland K.A., 2004. Combined effects of photoperiod & salinity on growth, survival & osmoregulatory ability of larval Southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture* 229, 159-179.

Nishimura H. and Fan Z., 2003. Regulation of water movement across vertebrate renal tubules. *Comparative Biochemistry and Physiology* 136, 479–498.

Paterson, B.D., Rimmer, M.A., Meikle, G.M., Semmens, G.L., 2003. Physiological responses of the Asian sea bass, *Lates calcarifer* to water quality deterioration

www.SID.ir

Archive of SID

during simulated live transport: acidosis, red-cell swelling, and levels of ions and ammonia in the plasma. *Aquaculture* 218, 717-728.

Pousti, A., Sedigh Marvasti, A., 1999. Atlas of fish histology. University of Tehran Press, 328 p.

Pousti, A. Adib Moradi, M., 2000. Comparative histology and histotechnique. University of Tehran Press, 531 p.

Reimschuessel R., 2001. A fish model of renal regulation and development. *ILAR Journal* 42(4), 285–291.

Rostami Bashman, M., Sohrabi Haghdoust, I., 2006. The study of lesions and infections caused by *Aeromonas veronii* in fish. *Comparative Pathobiology* 1, 53-56.

Sattari, M., 2002. Ichthyology (1). Naghsh Mehr Press, 659 p.

Shahsavani, D., Movasaghi, A., 2002. Systemic Pathology of fish. Ferdowsi Universty of Mashhad, 400 p.

Shahsavani, D., Farhoudi, M., Movasaghi, A.R., Keykha, F., 2008. Clinical and pathological study of effects of phenytoin sodium in gill, liver and kidney of gold fish (*Carassius auratus*). *Iranian Journal of Pazhoohesh & Sazandegi* 74, 150-155.

Singh, R.K., 2000. Growth, survival and production of *Lates calcarifer* in a seasonal rain fed coastal pond of the Konkan region. *Aquaculture* 8, 55-60.

Taheri, R, Salamat, N., Movahadnia, A., 2014. Assessment of the spleen and the anterior part of the kidney pathological changes in (*Euryglossa orientalis*) affected by Musa creek's pollution. Marine Biology Department, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

Taheri, R, Salamat, N., Movahadnia, A., 2014. Assessment of lymphatic organs abnormalities in Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) affected by Musa Creek pollution. Marine Biology Department, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

Varsamos S. and Nebel C., Charmatier G., 2005. Review: Ontogeny of Osmoregulation in Postembryonic Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 141, 401-429.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir