

## مطالعه اثرات سطوح مختلف شوری بر فراوانی و اندازه سلول‌های

### کلراید در آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) انگشت قد

امید کوهکن

#### چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی توانایی تنظیم اسمزی ماهی بنی توسط سلول‌های غنی از میتوکندری و مطالعه تأثیرات شوری‌های مختلف بر آبشش این ماهی انجام شد. به این منظور تعداد ۱۲۰ ماهی پس از یک هفته سازگاری به ۴ آکواریوم حاوی شوری های ۱۲، ۱۰، ۸ و ۴ گرم در لیتر انتقال داده شدند. نمونه برداری پس از ۹۶ ساعت مواجهه انجام و بافت‌ها جداسازی و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد ثابت شد. پس از انجام مراحل آماده سازی بافت، برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین توسط میکروسکوپ نوری مطالعه گردید. مشاهدات نشان داد که سلول‌های کلراید در ماهی بنی بیشتر بر روی قاعده فیلامنت‌ها قرار داشته و کمتر روی لاملا دیده می‌شود. تعداد و اندازه سلول‌های موکوسی و کلراید با بالا رفتن غلظت نمک افزایش یافته و در برخی تیمارها تغییرات معنی‌دار داشت. تعداد سلول‌های موکوسی در غلظت ۱۲ گرم در لیتر، نسبت به نمونه‌های گروه کنترل و غلظت ۴ گرم در لیتر بصورت معنی‌دار افزایش یافت، اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در مورد سلول‌های کلراید نیز تنها تیمار ۱۲ گرم در لیتر با نمونه‌های شاهد در تعداد سلول‌ها و اندازه اختلاف معنی‌دار داشتند.

واژگان کلیدی: ماهی بنی، آبشش، سلول کلراید، شوری

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۰

#### مقدمه

بیشتر ماهیان عالی، قادر به تحمل شوری‌های مختلف می‌باشند و این امر به دلیل وجود چندین مکانیسم تنظیم اسمزی در اپیتلیوم‌های تنفسی و کلیه و کمک آن به حفظ و نگهداری محیط درونی بدن می‌باشد. یکی از این مکانیسم‌ها، فعالیت پمپ سدیم - پتاسیم است که برای قرارگیری در محیط‌های با شوری جدید ضروری است (۷). محل اصلی قرارگیری این پمپ‌ها در غشای میتوکندریایی سلول‌هاست که به فراوانی در سلول‌های کلراید دیده می‌شوند و به همین دلیل این سلول‌ها نقش مهمی در تنظیم اسمزی دارند. تغییر فعالیت این پمپ در

طی سازگاری با شوری اغلب با تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبشش همراه است چرا که این بخش بیشترین فعالیت یونی را دارد (۲۸ و ۲۶، ۲۵). مکانیسم جذب یون‌ها طی سالهای گذشته همواره مورد بحث بوده است و مدل‌های اولیه محل قرارگیری پمپ  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$  را در غشای راسی سلول در نظر گرفته است (۲۲). اما بعد از آن پیشنهاد شد که این پمپ تنها به غشاهای قاعده‌ای - جانبی سلول‌های غنی از میتوکندری در آبشش محدود بوده و در غشاهای دیگر وجود ندارد (۱۸). اما جدیدترین مدل، مشابه مدل‌های اولیه مبنی بر وجود یک  $\text{ATPase}$  راسی است که با یک  $\text{H}^+ \text{-ATPase}$  بصورت غیرمستقیم پیوند دارد (۲۳). برای حفظ غلظت بالای یونها در خون نسبت به محیط، ماهیان آب شیرین یون‌های  $\text{Na}^+$ ،  $\text{Cl}^-$ ،  $\text{Ca}^{+2}$  را بوسیله جذب فعال از سطح غشاهای اسمزی (عمدتا اپیتلیوم آبشش) و کاهش میزان یونها در ادرار و رقیق سازی ادرار حفظ می‌کنند (۲۳).

توانایی تنظیم اسمزی تقریباً به اندازه و وزن بدن ماهیان بستگی دارد و مواردی از افزایش وزن گزارش شده است که با افزایش توان اسمزی و در نتیجه بالا رفتن تحمل شوری همراه بوده است (۲۴ و ۱۹، ۱۳). البته باید به این نکته توجه داشت که در طبیعت اغلب ماهیان با گذشت چند سال از عمرشان هنوز هم به محدوده وزنی که متناسب با تحمل شوری باشد نمی‌رسند، اما در مزارع پرورش ماهی پس از چند ماه به اندازه مناسب دست پیدا می‌کنند (۷). مطالعات بسیار زیادی بر روی آبشش و تغییرات ایجاد شده در سلول‌های کلراید در اثر مواجهه با شوری‌های مختلف صورت پذیرفته است (۹ و ۸، ۴، ۳).

تعداد سلول‌های کلراید در آبشش ماهی بنی در مواجهه با شوری‌های مختلف به منظور مطالعه میزان تحمل شوری در این ماهی است.

### مواد و روش کار

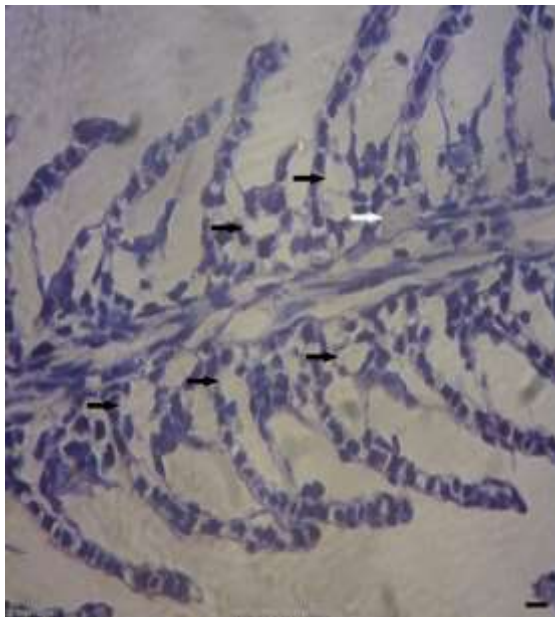
ماهیان بنی انگشت قد با میانگین وزنی ۴-۳ گرم حاصل از تکثیر مصنوعی پس از انتقال به آزمایشگاه و انتقال به آکواریوم‌های ۲۰ لیتری به منظور سازگاری به مدت یک هفته در آب لوله کشی وفق داده شدند. پس از این مدت ماهیان در ۴ تیمار حاوی شوری‌های ۱۲، ۱۰، ۸ و ۴ گرم در لیتر و در هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی با ۳ تکرار با نمک مواجه شدند. نمک مورد نیاز بصورت نمک تبخیری دریا تهیه و به میزان متناسب با هر شوری در آکواریوم‌ها حل گردید. ۳ تکرار نیز به عنوان شاهد (شوری ۱/۶ گرم در لیتر) در نظر گرفته شد. در طول سازگاری و مدت زمان آزمایش متغیرهای موثر فیزیوشیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به طور روزانه ثبت گردید، و غذاهای و هوادهای بطور منظم انجام شد. پس از ۹۶ ساعت مواجهه، نمونه برداری از تیغه دوم آبشش سمت راست انجام گرفت. بافت‌ها در فرمالین بافر ۱۰٪ تثبیت و پس از ۴۸ ساعت مراحل آماده‌سازی بافت، شامل آبیگری، شفاف‌سازی و نفوذ پارافین توسط دستگاه پاساژ بافتی ساخت شرکت پویان انجام گرفت و بلوک‌های پارافینه تهیه گردید. در نهایت بوسیله میکروتوم روتاری شرکت پویان مقاطع ۵ میکرومتری تهیه و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین توسط میکروسکوپ نوری Nikon مطالعه شد. تصاویر توسط دوربین دیجیتال Nikon و نرم‌افزار مخصوص ثبت گردید.

تغییرات کمی در مساحت و تعداد سلول‌های کلراید توسط برنامه Image tool (Version 2) بر اساس کار صیاد بورانی و همکاران (۱۳۹۳) اندازه‌گیری و بصورت میانگین تعداد، متوسط اندازه و درصد سطح اشغالی به سطح کل بیان شد (۹). داده‌های مربوط به هر سنجش بصورت مقدار میانگین  $\pm$  خطای استاندارد

جمیلی در سال ۱۳۷۰ با مطالعه بر روی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) میزان تحمل این ماهیان را نسبت به تغییرات شوری مطالعه کرد (۶). همچنین میزان بقا و تحمل شوری در ماهی باراکودا (*Centropomus parallelus*) توسط Tsuzuki و همکاران (۲۰۰۷) مطالعه شد (۲۷). پورمظفر و همکاران در سال ۱۳۹۳ در مواجهه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با شوری‌های مختلف، کاهش رشد و ضریب رشد ویژه و افزایش ضریب تبدیل را مشاهده کردند (۵). همچنین آنها گزارش کردند که شوری ۱۵ و ۲۵ گرم در لیتر موجب افزایش ۷۰ و ۱۰۰ درصدی در فراوانی سلول‌های کلرایدی گردیده و بنابراین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با شوری با تغییر در فراوانی و اندازه سلول‌های کلراید سازگار می‌شود. عبدی و همکاران (۱۳۸۹) نیز در تحقیقی مشاهده کردند که انتقال مستقیم هامورماهی معمولی به شوری‌های مختلف، در سطح و تعداد سلول‌های کلراید تغییر ایجاد کرد، اما این تغییرات تحت تاثیر شوری و زمان الگوی متفاوتی نشان دادند (۱۰).

ماهی بنی با نام علمی *Barbus sharpeyi* عضوی از خانواده کپور ماهیان و از جنس باریوس ماهی و ساکن آب شیرین است. نام‌های دیگر این گونه *Mesopotamichthys sharpeyi* و *Barbus faoensis* می‌باشد. ماهی بنی از نسب هندی Torini یک تیره در کپورماهیان است و عمدتاً بومی حوزه دجله و فرات بوده و برخی نواحی ایران از جمله مارش‌های هورالعظیم، تالاب شادگان و رودخانه‌های واقع در بخش شمالی خلیج فارس مانند زهره و تالاب الحامر در کشور عراق زیستگاه این ماهی محسوب می‌شوند. در ایران در رودخانه‌های کارون و کرخه، بهمن‌شیر، هورالعظیم و هور شادگان گزارش شده است (۱۳ و ۱۱، ۲). لذا به منظور بررسی امکان و صرفه اقتصادی انتقال ماهیان آب شیرین به آب‌های لب شور و با نمک بالاتر این آزمایش طراحی گردید تا میزان تحمل‌پذیری ماهی بنی نسبت شوری آب و میزان تغییرات سلول‌های کلراید آن مشخص گردد. هدف از این تحقیق مطالعه تغییر در مساحت و

دلیل افزایش تعداد سلول‌های کلراید در برخی تیمارها افزایش معنی‌داری را نشان داد (نگاره ۲، جدول ۲). همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود اندازه متوسط سلول‌های کلراید بجز در تیمار ۴ گرم در لیتر، در سایر غلظت‌ها کاهش نشان داد اما با این حال هیچکدام از تیمارها در اندازه متوسط تغییر معنی‌دار نشان ندادند، با این حال مجموع اندازه سلول‌ها (نسبت سطح مراکز ملانوماکروفاژ به سطح کل مقطع) در غلظت ۱۲ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). نگاره ۲ به خوبی افزایش تعداد سلول‌های کلراید در تیمار ۱۲ گرم در لیتر را نشان می‌دهد، این در حالی است که اندازه متوسط این سلول‌ها نسبت به سایر تیمارها تغییر چندانی نداشته است. این موضوع در تیمار ۱۲ گرم در لیتر (نگاره ۲) در مقایسه با اندازه سلول کلراید در تیمار ۴ گرم در لیتر (نگاره ۱) قابل مشاهده است.



نگاره ۱- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی مواجه شده با غلظت ۴ گرم در لیتر. هایپرتروفی و افزایش تعداد سلول‌های موکوسی (فلش سیاه) و هایپرتروفی سلول‌های کلراید (فلش سفید) در تمامی نمونه‌های این غلظت مشاهده شد (H&E, 40X).

(means  $\pm$  standard error) نشان داده شد و اختلاف بین نتایج و مقایسه میانگین نمونه‌ها با سطح حداقل ۵٪ ( $p < 0.05$ ) توسط آزمون سنجش واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ صورت پذیرفت.

## نتایج

نتایج نشان دهنده هیچگونه عارضه غیرطبیعی در نمونه‌های کنترل نبوده و آبشش ساختار طبیعی خود را حفظ کرده بود. در مقاطع طولی هر رشته از یک محور مرکزی شامل رگ خونی و غضروف و دو ردیف تیغه آبششی عمود بر محور طولی تشکیل شده است. رشته‌ها و تیغه‌های آبششی توسط یک لایه بافت پوششی تخصص یافته‌ای پوشیده شده اند. بافت پوششی آنها شامل سلول‌های سنگفرشی، سلول‌های موکوسی و سلول‌های کلراید می‌باشد. مشاهده مقاطع بافتی تهیه شده از گروه شاهد نشان داد که سلول‌های کلراید عمدتاً در پایه لاملا و فضای بین لاملائی وجود دارند، اما با این وجود مواردی از سلول‌های کلراید روی خود لاملا نیز دیده شد. شناسایی سلول‌های کلرایدی معمولاً با توجه به رنگ پذیری بیشتر این سلول‌ها نسبت به ائوزین در رنگ آمیزی معمولی هماتوکسیلین و ائوزین است که به دلیل سیتوپلاسم اسیدوفیلی آنهاست.

در تیمارهای حاوی غلظت‌های بالاتر نمک، سلول‌های کلراید و موکوسی افزایش چشمگیری نشان دادند. این در حالی است که اندازه و سطح این سلول‌ها بصورت نسبی تغییر داشت. عمدتاً تعداد و اندازه سلول‌های موکوسی با بالا رفتن غلظت نمک افزایش نسبی نشان داد، بطوریکه در غلظت ۱۲ گرم در لیتر در تمامی برش‌ها این افزایش مشاهده گردید و با برخی تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد (نگاره ۱)، اما این افزایش در سلول‌های کلراید کمتر بود. در سلول‌های کلراید اندازه هر سلول تغییر زیادی نداشت و حتی تا حدودی کاهش اندازه نیز مشاهده گردید و بین هیچکدام از غلظت‌های مختلف نمک تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید، ولی سطح کل این سلول‌ها به

جدول ۱. مقادیر متوسط اندازه و تعداد سلول‌های موکوسی آبشش ماهی بنی در شوری های مختلف

تعداد	اندازه	تیمار
$12/67 \pm 6/55^a$	$25/6 \pm 10/39$	کنترل
$13/42 \pm 8/86^a$	۱۲	۴ گرم در لیتر
$18/54 \pm 9/23$	۰۴	۶ گرم در لیتر
$24/22 \pm 7/41$	۳۷	۸ گرم در لیتر
$32/19 \pm 10/11^b$	$49/2 \pm 8/4$	۱۲ گرم در لیتر

حروف متفاوت در هر گروه نشاندهنده تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0/05$ )

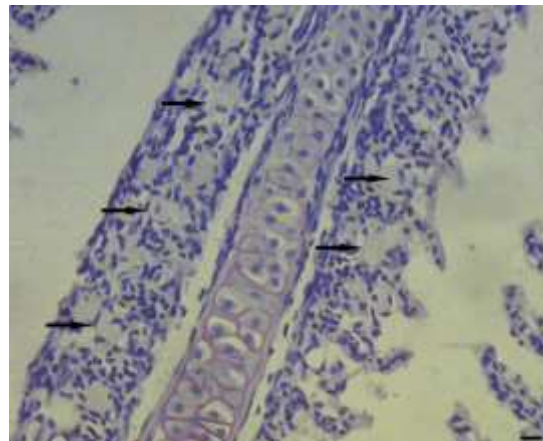
گروه‌ها نمک کمتری دارد. یافته‌ها نشان داد تنها متوسط اندازه سلول‌های موکوسی در تیمار ۱۲ گرم در لیتر با گروه کنترل تفاوت معنی دار نشان داد و سایر تیمارها تفاوت معنی داری باهم نشان ندادند (جدول ۱). متوسط اندازه سلول‌های کلراید در غلظت ۴ گرم در لیتر بصورت نسبی افزایش ناگهانی نشان داد اما با افزایش میزان شوری روند کاهش پیدا کرده و اندازه سلول‌ها کاهش یافت. با این وجود هیچکدام از این تغییرات قابل توجه نبوده و با سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۱). مشاهدات نشان داد که فرکانس سلول‌های کلراید با بالا رفتن میزان نمک محلول دچار یک روند افزایشی گردیده و در تیمار ۱۲ گرم در لیتر تعداد این سلول‌ها شدیداً افزایش یافت. علی رغم این سیر افزایشی تنها تیمار ۱۲ گرم در لیتر نسبت به نمونه‌های شاهد در تعداد سلول‌ها افزایش معنی دار داشت و سایر تیمارها دچار تغییرات قابل توجهی نگردیدند (جدول ۲).

تعداد و گستردگی سلول‌های موکوسی در غلظت ۱۲ گرم نسبت به نمونه‌های گروه کنترل و غلظت ۴ گرم در لیتر افزایش معنی دار داشت اما با سایر تیمارها تفاوت معنی داری نشان نداد. این در حالی است که سایر غلظت‌ها با اینکه اختلاف زیادی در گستردگی و اندازه نشان دادند اما این اختلاف معنی دار نبود. طبق داده‌های موجود در جدول ۱ در تیمار ۱۲ گرم در لیتر میانگین تعداد سلول‌های موکوسی  $32/19 \pm 10/11$  بود که نسبت به گروه شاهد و تیمار ۴ گرم در لیتر بطور معنی دار تغییر نشان داد، اما در غلظت ۸ گرم در لیتر با اینکه افزایش نسبتاً زیادی در فرکانس این سلول‌ها نسبت به گروه شاهد دیده شد، ( $24/22 \pm 7/41$ ) در تیمار ۸ گرم در لیتر و  $12/67 \pm 6/55$  در گروه شاهد) اما این افزایش معنی دار نبود. نتایج موجود در جدول ۲ نشان می دهد که افزایش اندازه سلول‌های موکوسی در تیمارهای دارای نمک، با افزایش میزان شوری ارتباط مستقیم دارد و با بالا رفتن میزان شوری، متوسط اندازه در سلول‌های موکوسی افزایش یافته است. بنحوی که بزرگترین اندازه متوسط ( $49/2 \pm 8/4$ ) مربوط به غلظت ۱۲ گرم در لیتر با بالاترین غلظت نمک و کمترین اندازه ( $25/6 \pm 10/39^a$ ) مربوط به گروه شاهد بود که با غلظت نمک  $1/6$  گرم در لیتر نسبت به سایر

جدول ۲. مقادیر متوسط اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهی بنی در شوری‌های

تیمار	مختلف	
	اندازه	تعداد
کنترل	۴۲/۶±۱۰/۳۹	۹/۱۳±۳/۴۹ <sup>a</sup>
۴ گرم در لیتر	۴۷/۵۳±۱۰/۱۲	۱۱/۴۰±۴/۵۹
۶ گرم در لیتر	۴۱/۱۷±۴/۰۴	۱۳/۵۶±۴/۶
۸ گرم در لیتر	۴۰/۷۳±۱۱/۳۷	۱۹/۰۸±۲/۸۸
۱۲ گرم در لیتر	۳۵/۲±۸۴/۹	۲۳/۱۴±۳/۴۲ <sup>b</sup>

حروف متفاوت در هر گروه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵)



نگاره ۲. مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی مواجه شده با غلظت ۱۲ گرم در لیتر. افزایش شدید تعداد سلول‌های کلراید (فلش) به خوبی دیده می‌شود (H&E, 40X).

در تنظیم اسمزی در آب شور نقش داشته و ترشح یون را انجام می‌دهند (۹ و ۸). نتایجی که در این تحقیق نیز به دست آمد و همین امر دلیل افزایش سلول‌های این نواحی در شوری بالاتر است.

تعداد و اندازه سلول‌های موکوسی رابطه مستقیم با شوری داشته و با بالارفتن غلظت نمک افزایش یافت. محققان زیادی افزایش سلول‌های موکوسی و میزان موکوس را گزارش داده اند اما اکثر این موارد در مواجهه با فلزات سنگین مشاهده شده است (۱۴). به نظر می‌رسد افزایش تعداد سلول‌ها به منظور بالابردن میزان ترشحات موکوسی بوده و مکانیسمی برای جلوگیری از صدمات بافتی است. آریایی و همکاران (۱۳۹۳) در مواجهه ماهی گورخری با آرسنیک و کادمیوم در آب شور و شیرین افزایش سلول‌های موکوسی و بزرگ شدن اندازه آنها را مشاهده کردند (۱). در تیمار ۱۲ گرم در لیتر هم از نظر اندازه و مساحت سلول‌های ترشچی و هم از نظر فراوانی با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نشان داد. این تیمار از نظر تعداد سلول‌های موکوسی نیز نسبت به تیمار ۴ گرم در لیتر بطور معنی‌داری افزایش

## بحث

تنظیم اسمزی یکی از عوامل فیزیولوژیک موجودات آبی می‌باشد که باعث افزایش ضریب بقا و تحمل پذیری آنها نسبت به استرس‌ها و تغییرات شوری محیط می‌گردد (۹). بنابراین مطالعه تنظیم اسمزی در شوری‌های مختلف می‌تواند میزان تحمل‌پذیری و در حقیقت امکان پرورش ماهیان در محیط‌های مختلف و دریایی را روشن کند. بنابراین به دلیل صرفه اقتصادی انتقال ماهیان آب شیرین به آبهای لب شور و با نمک بالاتر این آزمایش طراحی گردید تا میزان تحمل‌پذیری ماهی بنی نسبت به شوری آب و میزان تغییرات سلول‌های کلراید آن مشخص گردد. همانطور که در نتایج مشخص گردید، سلول‌های کلراید بیشتر در ناحیه پایه تیغه‌ها و ناحیه بین لاملا قرار گرفته اند، اما با افزایش شوری این سلول‌ها حتی در طول خود لاملا هم دیده می‌شوند. این نتایج توسط سایر محققین نیز تایید شده است چرا که سلول‌هایی که در ناحیه پایه لاملا و تیغه قرار دارند بیشتر نقش تنظیم اسمزی را در آب شیرین بر عهده دارند و جایگاه جذب یونی هستند اما سلول‌های ناحیه لاملا بیشتر

به سرعت تغییر کرده و نتیجه آن قابل مشاهده است (۲۲). با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه به نظر می‌رسد ماهی بنی نیز جزو این گروه باشد، چرا که سلول‌های کلریدی در آبشش این ماهی در مدت کمی بصورت معنی‌دار افزایش نشان داد.

سایر محققان نیز افزایش تعداد سلول‌های کلریدی را در اثر افزایش شوری گزارش کرده‌اند. موحدی نیا و همکاران (۱۳۸۸) افزایش ناگهانی تعداد سلول‌های یونوسیت را در ماهی شانک زردباله در مواجهه با شوری ۶۰ppt تنها پس از ۲۴ ساعت گزارش دادند، اگرچه این تغییر معنی‌دار نبود (۱۵). پورخواجه و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیق مشابهی روی هامور ماهی معمولی پس از انتقال ماهیان به شوری‌های مختلف مشاهده کردند که در ساعات اولیه انتقال تعداد و مساحت سلول‌های کلراید در آب لب شور کمتر از آب با شوری بالاتر است و این تفاوت تا پایان آزمایش افزایش یافت (۴). نتایج مشابهی در این تحقیق نیز دیده شد که نشان دهنده رابطه مستقیم تعداد و مساحت سلول‌های کلراید با غلظت نمک است. مطالعات بسیاری با نتایج مشابه که نشان دهنده کاهش و یا افزایش سلول‌های کلراید با تغییر در میزان شوری آب می‌باشد، انجام پذیرفته است (۲۰ و ۱۵، ۴).

مساحت سلول‌های کلراید تغییر زیادی نداشت و حتی تا حدودی کاهش اندازه نیز مشاهده گردید و در نهایت بین هیچکدام از غلظت‌های مختلف نمک تفاوت معنی‌دار دیده نشد. البته در تیمار ۴ گرم در لیتر افزایش مساحت ناگهانی در سلول‌های کلراید مشاهده شد (نگاره ۱) و از آنجا که در تعداد این سلول‌ها تغییر زیادی رخ نداده است، می‌توان گفت که واکنش اولیه یونوسیت‌ها در مقابل شوری، افزایش در فعالیت ترشحی هر سلول و در نتیجه تغییر در اندازه سلول می‌باشد. اما در شوری‌های بالاتر بزرگ شدن سلول به تنهایی کافی نبوده و بنابراین افزایش تعداد سلول‌ها نیز مشاهده می‌شود. این نتایج با مشاهدات پورخواجه و

داشت، که این تفاوت‌های معنی‌دار می‌تواند نشان‌دهنده برگشت ناپذیر بودن این صدمات باشد که در صورت بازگشت به شرایط طبیعی بهبود نخواهند یافت (۱). افزایش سلول‌های موکوسی در مطالعات آسیب‌شناسی بافتی آبشش در مواجهه با شوری‌های مختلف گزارش شده است (۱۲). تغییر در سلول‌های موکوسی عمدتاً در واکنش به عوامل خارجی و آلاینده‌ها از قبیل فلزات سنگین مشاهده می‌گردد (۱) که می‌تواند یک مکانیسم واکنشی در جهت خروج یون‌ها باشد. کوهکن در سال ۱۳۹۵ با مواجهه ماهی بنی با سطوح مختلف شوری، افزایش اندازه و تعداد سلول‌های موکوسی، هایپرپلازی سلول‌های پوششی، افزایش سلول‌های کلراید، جداسدن اپی‌تلیال و بزرگ شدن اندازه سلول‌های موکوسی و کلراید را مشاهده کرد، این تغییرات ممکن است به واسطه افزایش ورود یونها به بدن ماهی باشد (۱۲).

نتایج حاصل در این تحقیق نشان داد که در شوری ۱۲ گرم در لیتر تعداد سلول‌های کلراید در مقایسه با گروه کنترل بصورت معنی‌دار افزایش داشته و ارتباط مستقیم با شوری دارد. اما از نظر اندازه، این نسبت عکس بوده و متوسط اندازه در این سلول‌ها با افزایش شوری کاهش نشان داد. سلول‌های کلراید مهمترین جایگاه تبادل یونی هستند و در تنظیم تعادل اسید-باز و ترشح یون‌ها در آب شور و جذب یونها در آب شیرین نقش دارند (۲۹). این سلول‌ها در ماهیان آب شیرین بزرگ تر ولی تعدادشان کمتر است و برعکس در آب دریا کوچکتر ولی تعداد بسیار بیشتر دیده می‌شود (۹). طبیعتاً قابل انتظار است که پس از انتقال یک گونه آب شیرین به آب حاوی نمک بالاتر، سلول‌های کلراید از نوع آب شیرین به سلول‌های آب دریا تغییر شکل می‌دهند و به جای جذب یون وظیفه ترشح یون را خواهند داشت (۱۶). Maetz و همکاران در سال ۱۹۷۴ اعلام کردند که در برخی از ماهیان استخوانی تعداد سلول‌های غنی از میتوکندری (کلراید) در کمتر از سه روز مواجهه با آب دریا

- و کادمیوم در شرایط آب شور و آب شیرین، نشریه دامپزشکی (پژوهش و سازندگی)، ۲۷(۴): ۶۷-۵۷.
۲. بساک کاهکش، ف.، نیک پی، م. (۱۳۸۹): پرورش توام ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) با کپور ماهیان چینی و مقایسه اقتصادی آن با روش پرورش مرسوم، مجله علمی شیلات، ۴(۳): ۸۵-۷۳.
۳. بیک زاده تاکری، الف.، ایمانپور، م.، تقی زاده، و. (۱۳۹۳): اثر تنش شوری بر سلول‌های کلراید و هیستوپاتولوژی آبشش ماهیان کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد تغذیه شده با کورتیزول خوراکی، مجله زیست‌شناسی جانوری، ۷(۲): ۲۴-۱۳.
۴. پورخواجه، م.ر.، عبدی، ر.، ذوالقرنین، ح.، حسین زاده صحافی، ه.، مروتی، ح. (۱۳۹۳): مطالعه اثرات شوری‌های مختلف بر فراوانی و مساحت سلول‌های کلراید در آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*)، مجله علمی شیلات، ۲۳(۲): ۱۱-۱.
۵. پورمظفر، س.، نفیسی بهابادی، م.، موحدی نیا، ع.، محمدی، م.، پذیر، خ. (۱۳۹۳): بررسی اثر شوری بر عملکرد رشد، متغیرهای خونی و سلول‌های کلراید آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۲(۴): ۲۲-۹.
۶. جمیلی، ش.، عریان، ش.، سیف‌آبادی، ج. (۱۳۷۲): نقش شوری در میزان رشد و قدرت تحمل ماهی بنی *Barbus sharpeyi*، مجله علمی شیلات ایران، ۲: ۵۵-۴۵.
۷. رجبی، ح.، خدابنده، ص. (۱۳۹۲): ارتباط وزن بدن بچه ماهیان دوتابستانه آزاد خزر (*Salmotruttacaspis*) با توان تنظیم اسمزی در آب لب شور (ppt)، مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۶(۴): ۴۰۵-۳۹۴.
۸. رجبی، ح.، خدابنده، ص.، فلاح، س.، امیری مقدم، ج. (۱۳۹۰): تعیین الگوی پراکنش سلول‌های کلراید آبشش در بچه ماهیان دوتابستانه آزاد خزر (*Salmotruttacaspis*) سازگار با آب شیرین، مجله علمی شیلات، ۲۰(۲): ۶۰-۴۹.
۹. صیادبورانی، م.، احمدنژاد، م.، مقصودی‌کهن، ح.، دژندیان، س.، شریفیان، م. (۱۳۹۳): بررسی فراوانی و پراکنش

همکاران (۱۳۹۳) مطابقت دارد و به نظر می‌رسد به دلیل اختلاف در اسمولالیته و غلظت یون‌ها بین بدن و محیط باشد (۴). بنابراین در یک پاسخ سازشی، موجود با افزایش مساحت و تعداد سلول‌های کلراید، میزان آنزیم و پمپ‌های Na-K ATPase را افزایش می‌دهد (۱۷).

در مطالعات مختلف الگوهای متفاوتی از تغییرات تراکم در سلول‌های کلرایدی گزارش شده است، به عنوان مثال پورمظفر و همکاران (۱۳۹۳) با قراردادن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در محیط‌های پراسمیتیک تغییر در سلول‌های کلرایدی را مشاهده کردند که با افزایش شوری تعداد و اندازه این سلول‌ها نیز افزایش یافت (۵). در حالی که در مطالعه حاضر تعداد سلول‌های کلرایدی افزایش یافت اما اندازه این سلول‌ها بصورت جزئی کاهش نشان داد. همچنین Yoshikawa و همکاران (۱۹۹۳) مشاهده کردند که تعداد و تراکم سلول‌های کلرایدی در ماهی گل‌خورک (*Gillichthys mirabilis*) در مواجهه با آب دریا تغییر نکرد (۳۰). در مطالعه ای دیگر، گزارش شده است که فراوانی سلول‌های غنی از میتوکندری پس از سازگاری با آب دریا و آب شیرین تغییر نداشته و تنها اندازه آنها افزایش یافته است (۲۱ و ۵).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده این است که ماهیان بنی قادر به تحمل شوری تا محدوده ۱۲ گرم در لیتر بوده و نسبت به افزایش نمک در محیط سریعاً واکنش نشان می‌دهند. این ماهیان بیشتر از طریق افزایش فراوانی و تراکم یونوسیت‌ها باعث حفظ حالت هموستازی بدن شده افزایش اندازه سلول‌ها در محدوده کم نمک نقش دارد.

## فهرست منابع

۱. آریایی، م.، حمیدیان، الف.، ایگدیری، س.، اشرفی، س. (۱۳۹۳): بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*) در مسمومیت با آرسنیک

- ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different temperatures and salinities. *Aquacult.* 218: 671-683.
18. Karnaky KJ, Jr., Kinter, L.B., Kinter, W.B., Stirling, C.E. (1976): Teleost chloride cell. II. Autoradiographic localization of gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in killifish (*Fundulus heteroclitus*) adapted to low- and high-salinity environments. *J. Cell. Bio.* 70(1): 157-177.
  19. Khodabandeh, S., Khoshnood, Z., Mosafer, S. (2009): Immunolocalization of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry. *Aquacult. Res.* 40(3): 329-336.
  20. Laize-Carrion, R., Gaurreirou, M., Fuentes, J., Canario, A.V.M., Del Rio, M.P., Mancera, J.M. (2005): Branchial osmoregulatory response to salinity in the Gilthead Sea Bream, *Sparus auratus*. *J. Exp. Zoo.* 303:563-570.
  21. Madsen, S.S., McCormick, S.D., Young, G., Endersen, J.S., Nishioka, R.S., Bern, H.A. (1994): Physiology of seawater acclimation in the striped bass, (*Morone saxatilis*) *Fish Phys. Biochem.* 13: 1-11.
  22. Maetz, J. (1974): Aspects of adaptation to hypoosmotic and hyperosmotic environments. In: Malins DC, Sargent JR, editors. *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology.* New York: Academic Press. PP: 167.
  23. Marshal, W.S. (2002): Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> Transport by Fish Gills: Retrospective Review and Prospective Synthesis, *J. Exp. Zoo.* 293(3):264-283.
  24. Salman, N.A., Eday, F.B. (1987): Response of chloride cell number and gill Na ATPase activity of freshwater trout (*Salmo gairdneri*) to salt feeding. *Aquacult.* 61(1): 41-48.
  25. Skamoto, T., Uchida, K., Yolota, S. (2001): Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of teleost fishes to different salinities. *Zoo.Sci.* 18(9): 1163-1174.
  26. Tipsmark, C.K., Madsen, S.S., Seidelin, M., Christensen, A.S., Cutler, C.P., Cramb, G. (2002): Dynamics of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup> cotransporter and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase expression in the branchial epithelium of brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Exp. Zoo.* 293(2): 106-118.
  27. Tsuzuki, M.Y., Cerqueira, V.R., Teles, A., Doneda, S. (2007): Salinity tolerance of laboratory reared juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus*. *Brazilian J. Ocean.* 55(1): 97-102.
- سلول‌های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید در مواجهه با شوری آب دریای خزر، مجله توسعه آبی پروری، ۸(۲): ۴۴-۳۵.
۱۰. عبدی، ر.، پورخواجه، ح.، ذوالقرنین، ح.، حسین زاده صحافی، ه.، مروتی، ح. (۱۳۸۹): اثر شوری بر میتوکندری‌های سلول‌های کلراید آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*)، فصلنامه محیط زیست جانوری، ۲(۴): ۳۷-۴۲.
  ۱۱. کبریتی، م.، پیغان، ر.، محمدیان، ب. (۱۳۸۹): بررسی تلفات و ضایعات پاتولوژیکی ناشی از حمام نمک ۱ و ۲۴ ساعته در آبشش ماهیان انگشت قد کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، فصلنامه تالاب، ۲(۶): ۴۹-۵۶.
  ۱۲. کوهکن، الف. (۱۳۹۵): آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مواجهه با سطوح مختلف شوری، پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۱۳(۱): ۱۸۵۵-۱۸۶۲.
  ۱۳. کوهکن، الف.، عبدی، ر.، سلیقه زاده، ر.، جادی، ی. (۱۳۹۳): آسیب‌شناسی بافتی ناشی از مسمومیت تحت حاد علف کش پاراکوات در بافت کبد ماهی بنی انگشت قد (*Barbus sharpeyi*)، مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۱۱(۱): ۱۱۷۲-۱۱۶۷.
  ۱۴. محمدزاده، پ.، جمیلی، ش. (۱۳۹۳): بررسی اثر نترات سرب بر بافت ماهی کلمه *Rutilus rutilus caspius*. زیست‌شناسی کاربردی، ۲۷(۱): ۷۹-۹۶.
  15. Fielder, D.S., Allan, G.L., Pepperall, D., Pankhurst, P.M. (2007): The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. *Aquacult.* 272:656-666.
  16. Hiroi, J., McCormick, S.D., Kaneko, R.O., Kaneko, T. (2005): Functional classification of mitochondrion-rich cells in euryhaline Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) embryos, by means of triple immunofluorescence staining for Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, ATPase, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup> cotransporter and CFTR anion channel. *J. Exp. Bio.* 208: 2023-2036.
  17. Imsland, A.K., Gunnarsson, S., Foss, A., Stefansson, S.O. (2003): Gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-physiology. *The physiology of developing*



28. Wagner, H.H. (1974): Seawater adaption independent of photoperiod in steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Canadian. J.Zoo. 52(7): 805-812.
29. Wood, C.M., Marshall, W.S. (1994): Ion balance, Acid-base regulation and chloride cell function in the common killifish, *Fundulus heteroclitus* a euryhaline estuarine teleosts. J. Estuaries. 17: 34-52.
30. Yoshikawa, J.S.M., McCormick, S.D., Young, G., Bern, H. (1993): Effects of salinity on chloride cells and Na ATPase activity in the teleost (*Gillichthys mirabilis*). Com.Biochem. Phys. 105: 311-317.

