

## The combined effects of gradual changes in salinity and temperature on gill tissue of common carp (*Cyprinus carpio*)

Behrooz Heidari<sup>1\*</sup>, Sanaz Avarjeh<sup>2</sup>,  
Hasan Taghavi Jelodar<sup>3</sup>

1. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Iran
2. Former M. Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Iran
3. Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Oceanic Science, University of Mazandaran, Iran

(Received: Mar. 15, 2015 - Accepted: Nov. 16, 2015)

### Abstract

Environmental factors including salinity and temperature can affect the physiology and performance of the growth of fish. There for many of internal organs such as gill may be showed wide range of morphological and functional changes. Fingerling common carp were exposed for 21 days in groups at 20, 25 and 30°C and three salinity levels 0, 5 and 10ppt. Histological changes of gills tissue of common carp with average weight and length  $38.28 \pm 0.58$  g and  $14.04 \pm 0.10$  cm respectively was studied. After biometry, sampling was performed on 7 and 21 and transferred to the laboratory. The gill was fixed in Bouin's solution for 24-48 hours. To evaluate the chloride cells in the gill tissue of the fish, PAS-hematoxylin were used. The results showed that the size and number of chloride cells increased by increasing the temperature and salinity. The maximum number and size of chloride cells was observed at treatment with temperature 30 °C and salinity 10ppt. In conclusion, it could be stated that the number and size of chloride cells in the gill were affected by combined environmental factors, salinity and temperature.

**Keywords:** Salinity, Temperature, Gill, *Cyprinus carpio*.

## اثر تغییرات توأم تدریجی شوری و دما بر بافت آبشش و سلول‌های کلراید ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

بهروز حیدری<sup>۱\*</sup>، ساناز آوره‌آ، حسن تقوی جلودار<sup>۲</sup>

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان
۲. کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان
۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه مازندران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴ - تاریخ تصوب: ۱۳۹۴/۸/۲۵)

### چکیده

فاکتورهای زیست محیطی از جمله شوری و دما می‌توانند بر فیزیولوژی و کارایی رشد در ماهی‌ها مؤثر باشند. از این‌رو ممکن است بسیاری از اندام‌های داخلی آنها از جمله آبشش، دانه و سیعی از تغییرات مورفولوژی و عملکرد را نشان دهد. بدین منظور بچه ماهیان به مدت ۲۱ روز در گروه‌های دمایی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتیگراد در سه سطح شوری صفر، ۵ و ۱۰ ppt نگهداری شدند و تغییرات بافتی آبشش آنها مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه‌برداری در روزهای ۷ و ۲۱ انجام شد، نمونه‌ها پس از بیومتری آبشش آنها جدا و در محلول بوئن به مدت ۲۴-۴۸ ساعت فیکس گردید. به منظور بررسی سلول‌های کلراید در بافت آبشش ماهی از رنگ‌آمیزی پاس-هماتوکسیلین (PAS) استفاده شد. نتایج نشان داد که تعداد و مساحت سلول‌های کلراید با بالا رفتن شوری و دما افزایش یافت و بیشترین تعداد و مساحت سلول‌های کلراید در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری ۱۰ ppt مشاهده شد. در مجموع می‌توان بیان کرد که تعداد و مساحت سلول‌های کلراید آبشش تحت تأثیر توأم دو فاکتور محیطی شوری و دما قرار دارند.

**واژه‌های کلیدی:** شوری، دما، آبشش، کپور معمولی.

**مقدمه**

ماهیان همواره درگیر استرس‌های گوناگون محیطی هستند. تغییر در کیفیت آب، فاکتورهای محیطی، شرایط فیزیولوژیکی ماهیان و میزان تراکم آنها در واحد حجم، هر یک عاملی برای ایجاد استرس در ماهیان هستند (Koeypudsa & Jongjareanjai, 2011). عوامل فیزیوکوشیمیایی آب، تأثیر بسیار زیادی روی رشد، بقاء و متابولیسم ماهی دارند که انحراف از حد مجاز آنها، منجر به بروز مشکلاتی در پرورش ماهیان خواهد شد (Chakraborty & Mirza, 2007). پس باید سعی شود تا در حد امکان عوامل فیزیوکوشیمیایی آب در محدوده مورد نیاز ماهی حفظ شود تا میزان رشد و بازماندگی آن افزایش یابد. فاکتورهای زیست محیطی از جمله شوری و دما می‌توانند بر فیزیولوژی و کارایی رشد در ماهی‌ها مؤثر باشند (Rubio *et al.*, 2005). در هنگام مواجه شدن با استرس ناشی از افزایش شوری آب، ترکیب مایعات داخلی بدن ماهی توسط فرآیند تنظیم فشار اسمزی و از طریق تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک گوناگون آن تنظیم می‌شود (Evans, 1998). بنابراین بقای جانور در مراحل مختلف زندگی بستگی به توانایی تنظیم اسمزی آبیان دارد تا بدین وسیله بتواند بر استرس شوری غلبه کرده و به زندگی خود ادامه دهد (Beyenbach, 2004).

از آنجا که تغییرات شوری و دما از عوامل مهم تأثیرگذار بر بقاء، متابولیسم و پراکنش آبیان می‌باشد، بقای جانور در مراحل مختلف زندگی بستگی به توانایی تنظیم اسمزی آن آبیان دارد تا بدین وسیله بتواند بر استرس شوری غلبه کرده و به زندگی خود ادامه دهد (Richard *et al.*, 2003). با توجه به اینکه آبشش اندامی چند کاره (منظوره) بوده، علاوه بر تبادل گازها، پروسه‌های فیزیولوژیک مهم دیگری نظیر تنظیم اسمزی و یونی، موازنه اسید-باز (pH) و نیز دفع مواد زائد نیتروژنه را بر عهده دارد (Cinar *et al.*, 2009). آبشش‌ها حساسیت ویژه‌ای به تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب داشته و اندام

اصلی به حساب می‌آیند (Fernandes *et al.*, 2007). آسیب‌های بافتی وارده به آبشش در حقیقت با اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک، از قبیل نارسایی تنظیم اسمزی و تنفس همراه بوده که زنگ خطری برای سلامت ماهیان به حساب آمده و می‌تواند آثار مخربی بر تداوم حیات آنها بگذارد (Hinton *et al.*, 1988; Smith *et al.*, 2007). لذا در مطالعه حاضر سعی شده است تا تأثیر توأم دو عامل محیطی مهم یعنی شوری و دما بر اندام حیاتی آبشش، بخصوص سلول‌های کلراید در ماهی کپور معمولی بررسی گردد.

**مواد و روش‌ها****تهیه نمونه و شرایط نگهداری**

جهت انجام این مطالعه، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی کپور معمولی در تیرماه ۱۳۹۲ تهیه گردید. سپس نمونه‌ها به منظور سازگار شدن با شرایط موجود، به مدت ۱۰ روز در مخزن‌های ۱۵۰۰ لیتری حاوی آب چاه با جریان آب ورودی و خروجی و هوادهی مناسب نگهداری شدند. غذادهی به‌طور روزانه به میزان ۲/۵ درصد وزن بدن انجام شد. دمای آب به صورت روزانه کنترل می‌شد.

**تیمار بندی**

برای تیمار بندی بچه ماهیان در ۹ تیمار شامل ۳ گروه دمایی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در سه سطح شوری ۱۰ppt، ۵ppt و آب شیرین، به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند (۱۲ ماهی در هر تیمار). برای تأمین منبع آب شور مورد نیاز از نمک تبخیری استفاده شد و شوری‌های مورد نظر از طریق انحلال مستقیم مقادیر گرم نمک معین در هر لیتر آب چاه استحلال گردید (Luz *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 1997; Albert *et al.*, 2004). در طی دوره تیمار، پس از هر بار تعویض آب (هفته‌ای یک بار)، شوری و دما مجدداً تنظیم شد و سپس ماهیان درون تیمارها قرار داده شدند. آب آکواریوم‌ها هر هفته

نمونه و از هر نمونه ۵ اسلاید و در هر اسلاید ۵ میدان بافتی مطالعه و مساحت سلول‌های کلراید به وسیله برنامه، اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد سلول‌های کلراید بین دو پایه آبششی با عدسی ۴۰ شمارش گردید.

#### روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

جهت آنالیز داده‌ها، ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن آنها، از آزمون کولموگورف-اسمیرنوف (KolmogorofSmirnov) استفاده شد. سپس آزمون آنالیز واریانس سه‌طرفه برای مقایسه میانگین متغیرها در تیمارهای مختلف و در نهایت، از پس‌آزمون توکی برای مقایسه تیمارها استفاده شد. معنی‌داری داده‌ها در سطح خطای  $p < 0.05$  مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های آماری در محیط نرم‌افزار اس پی اس ۱۹ و رسم نمودارها در محیط نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ صورت گرفته است (Uliano *et al.*, 2010).

#### نتایج

در شکل ۱، نمایی از برش طولی بافت آبشش ماهی کپور معمولی نشان داده شده است. در این تصویر انواع مختلف سلول‌های آبششی دیده می‌شود. سلول‌های کلراید در مقایسه با سایر سلول‌ها، بزرگتر و روشن‌تر هستند.

در بررسی ساختار آبشش ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف، سلول‌های کلراید نه تنها روی فیلامنت‌ها و پایه رشته‌های آبششی حضور داشتند، بلکه سلول‌های کلراید روی لاملاها نیز مشاهده شدند، به طوری که در تیمارهای آب شیرین، سلول‌های کلراید در پایه و فیلامنت‌های رشته‌های آبششی و در تیمارهایی با شوری ۱۰ ppt علاوه بر این مکان‌ها، بر روی لاملاها نیز حضور داشتند. همچنین در مقایسه اشکال سلول‌های کلراید در تیمارهای مختلف، نتایج نشان داد که در محیط با شوری ۱۰ ppt در هر سه دمای ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد، سلول‌های کلراید دارای سیتوپلاسم

تعویض و ماهی‌ها توسط غذای آماده تغذیه شدند. در طول مدت آزمایش، میزان اکسیژن محلول ( $N/5 - 7/5$  میلی‌گرم در لیتر) به وسیله اکسیژن متر (ECDO602K, Singapors Eutech instrument) pH ( $9/5 - 7/5$ ) به وسیله pH متر (ECPH502PLUSK, Singapors Eutech instrument) دما توسط دماسنج (Digital Stem Thermometer) و شوری توسط شوری‌سنج چشمی (مدل VBS-1T، ساخت تایوان) هر روز در ساعت مشخص کنترل شدند.

#### نمونه‌برداری

نمونه‌برداری در روزهای ۷ و ۲۱ و از هر تیمار ۵ ماهی به صورت تصادفی انتخاب گردید. به منظور بررسی‌های بافتی دومین کمان آبششی هر ماهی جدا و در محلول بوئن به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت فیکس شد.

#### بافت‌شناسی

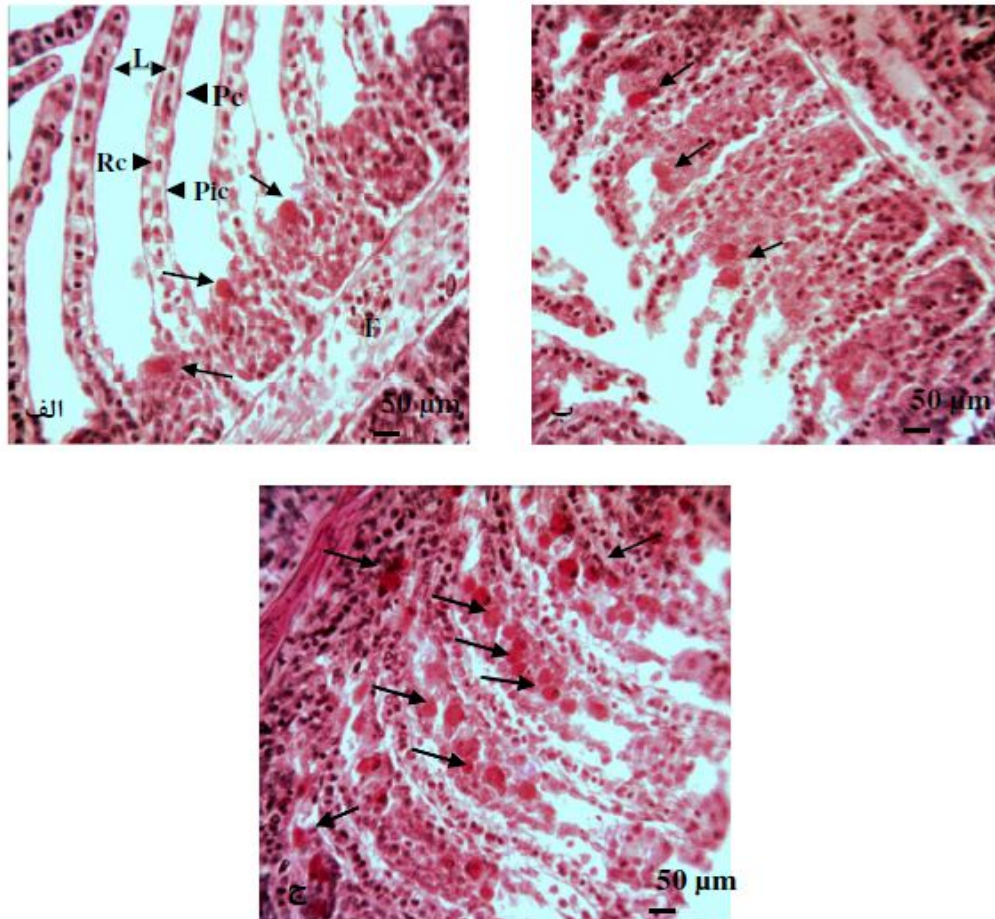
پس از انجام مراحل معمول بافت‌شناسی (آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه، قالب‌گیری) برش‌هایی با ضخامت ۶-۷ میکرون به وسیله دستگاه میکروتوم (مدل Leitz WETZLLAR) تهیه گردید. به منظور شناسایی و بررسی سلول‌های کلراید در بافت آبشش ماهی، از رنگ‌آمیزی اختصاصی استفاده شد. در ابتدا، از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین معمولی جهت مشاهده سلول‌های کلراید استفاده گردید، اما به دلیل عدم وضوح کافی و سختی تشخیص سلول‌ها، روش رنگ‌آمیزی پاس هماتوکسیلین (اسید فوشین) (پوستی و ادیب مرادی، ۱۳۷۹) جهت شناسایی سلول‌های کلراید به کار برده شد.

#### بررسی میکروسکوپی

جهت بررسی میکروسکوپی، لام‌های آماده شده را با میکروسکوپ نوری مجهز به نمایشگر و نرم‌افزار عکسبرداری TS view جهت اندازه‌گیری مساحت و تعداد سلول‌ها، مورد مطالعه قرار گرفتند. از هر تیمار ۳

آبششی دارای اشکال مدور و گرد و نسبتاً منظم‌تری نسبت به محیط‌های شور مشاهده شدند (شکل ۱).

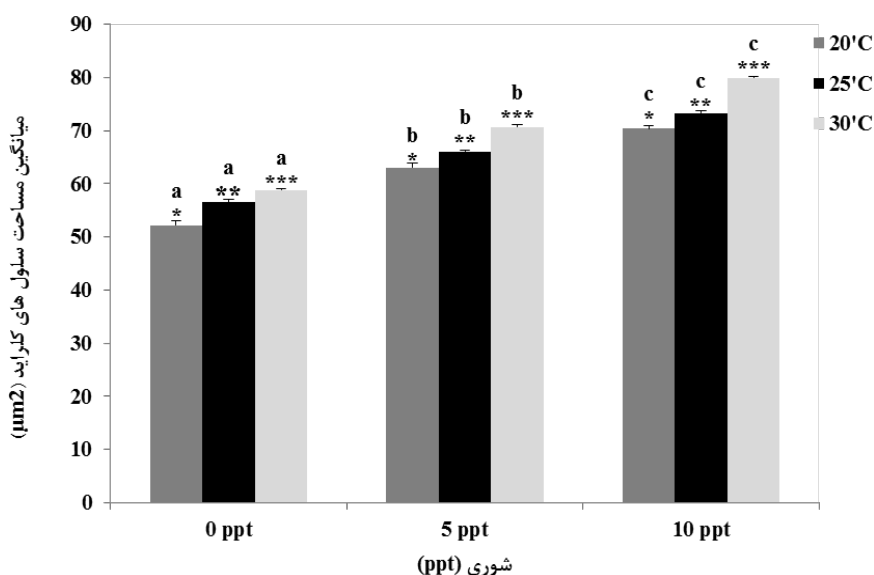
کشیده‌تر و به مراتب بزرگتری نسبت به آب شیرین در هر سه دمای مورد آزمایش بودند. در نمونه‌های آب شیرین نیز، سلول‌های کلراید موجود در پایه رشته‌های



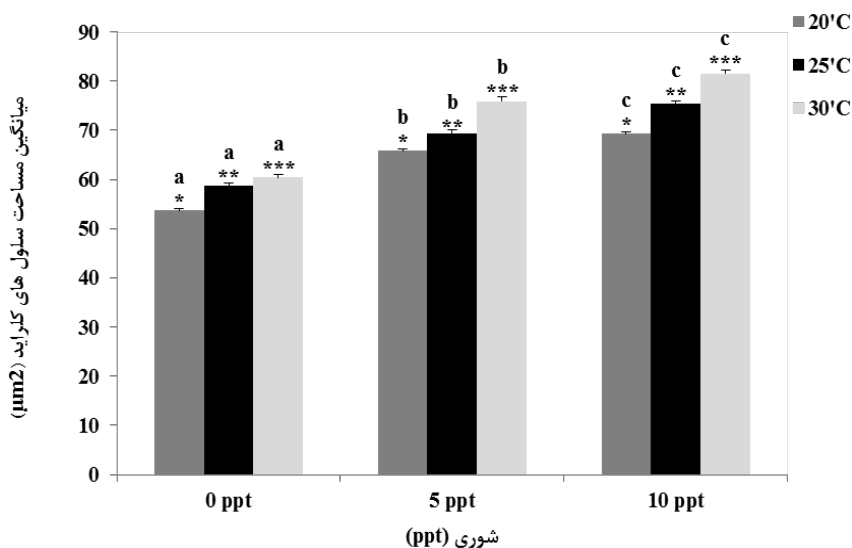
شکل ۱. تغییرات هیستولوژی در سلول‌های کلراید ماهی کپور معمولی (فلش سیاه یک طرفه (←) نشان‌دهنده سلول‌های کلراید، Rc؛ گلبول قرمز، Pc؛ سلول پیلا، F؛ فیلامنت، L؛ لاملا)، (رنگ آمیزی PAS&H). الف) سلول‌های کلراید در آب شیرین و دمای ۲۰°C؛ ب) سلول‌های کلراید در شوری ۵ppt و دمای ۲۵°C؛ ج) سلول‌های کلراید در شوری ۱۰ ppt و دمای ۳۰°C.

و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و حداکثر میانگین مساحت سلول‌های کلراید ( $79/88 \pm 0/19 \mu m^2$ ) مربوط به تیمار ۱۰ppt و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین در روز ۲۱ نمونه‌برداری، حداقل میانگین مساحت سلول‌های کلراید ( $53/67 \pm 0/5 \mu m^2$ ) در تیمار آب شیرین و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و حداکثر میانگین مساحت سلول‌های کلراید ( $81/54 \pm 0/79 \mu m^2$ ) در تیمار ۱۰ppt و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).

بر اساس آزمون آنالیز واریانس سه طرفه به منظور مقایسه میانگین مساحت سلول‌های کلراید بین روزهای ۷ و ۲۱ اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ( $p < 0/05$ ) و بر اساس آزمون توکی مشخص گردید که مساحت سلول‌های کلراید، تحت تأثیر شوری و دما به طور معنی‌داری با بالا رفتن هر دو پارامتر، افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). در روز ۷ نمونه‌برداری، حداقل میانگین مساحت سلول‌های کلراید ( $52/16 \pm 0/87 \mu m^2$ ) مربوط به تیمار آب شیرین



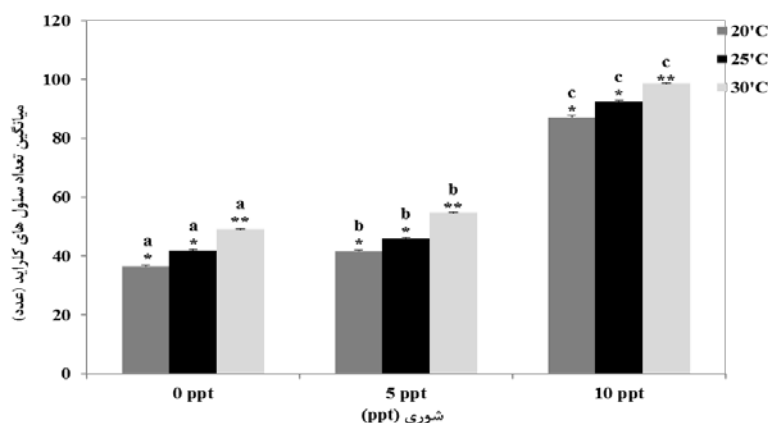
شکل ۲. مقایسه مساحت سلول‌های کلراید در سطوح مختلف شوری و دما در روز ۷ نمونه‌برداری (\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین دماهای مختلف در یک شوری مشخص؛ حروف لاتین نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین شوری‌های مختلف در یک دمای مشخص).



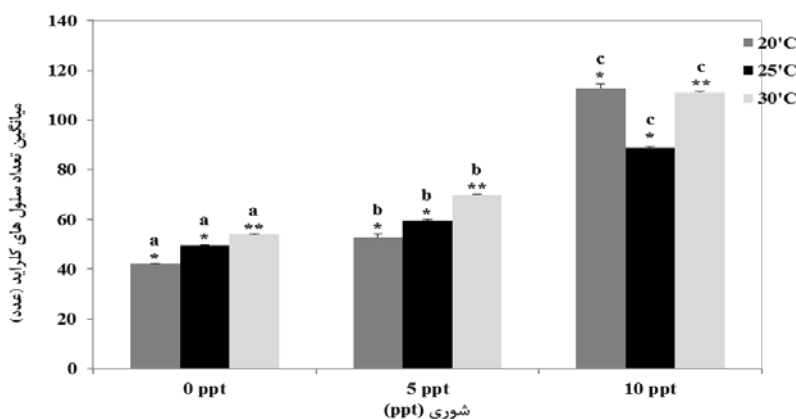
شکل ۳. مقایسه مساحت سلول‌های کلراید در سطوح مختلف شوری و دما در روز ۲۱ نمونه‌برداری (\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین دماهای مختلف در یک شوری مشخص؛ حروف لاتین نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین شوری‌های مختلف در یک دمای مشخص).

بر اساس آزمون آنالیز واریانس سه طرفه به منظور مقایسه میانگین تعداد سلول‌های کلراید بین روزهای ۷ و ۲۱ اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) و بر اساس آزمون توکی، مشخص گردید که بین شوری‌های مختلف، اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P < 0.05$ ) و بین دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دماهای ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در اثر افزایش دو پارامتر شوری و دما، تعداد سلول‌های کلراید افزایش یافته و حداکثر میانگین تعداد سلول‌های کلراید در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری ۱۰ ppt ( $81/54 \pm 0/79$ ) و حداقل میانگین تعداد سلول‌های کلراید در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و آب شیرین ( $53/67 \pm 0/5$ ) پس از ۲۱ روز از شروع آزمایش مشاهده شد (شکل‌های ۴ و ۵).

بر اساس آزمون آنالیز واریانس سه طرفه به منظور مقایسه میانگین تعداد سلول‌های کلراید بین روزهای ۷ و ۲۱ اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) و بر اساس آزمون توکی، مشخص گردید که بین شوری‌های مختلف، اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P < 0.05$ ) و بین دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دماهای ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).



شکل ۴. مقایسه تعداد سلول‌های کلراید در سطوح مختلف شوری و دما در روز ۷ نمونه‌برداری (\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین دماهای مختلف در یک شوری مشخص؛ حروف لاتین نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین شوری‌های مختلف در یک دمای مشخص).



شکل ۵. مقایسه تعداد سلول‌های کلراید در سطوح مختلف شوری و دما در روز ۲۱ نمونه‌برداری (\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین دماهای مختلف در یک شوری مشخص؛ حروف لاتین نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین شوری‌های مختلف در یک دمای مشخص).

جدول ۱. میانگین مساحت و تعداد سلول‌های کلراید آبشش ماهی کپور معمولی در تیمارها و زمان‌های مختلف

نمونه‌برداری روز ۲۱		نمونه‌برداری روز ۷		تیمار
تعداد سلول کلراید	مساحت سلول کلراید (μm <sup>2</sup> )	تعداد سلول کلراید	مساحت سلول کلراید (μm <sup>2</sup> )	
42.2±0.31	53.67±0.5	36.56±0.34	52.16±0.87	20°C-0ppt
52.7±1.41	65.83±0.44	41.63±0.4	63.06±0.82	20°C-5ppt
102.76±1.73	69.31±0.42	87.23±0.5	70.36±0.52	20°C-10ppt
49.56±0.34	58.64±0.59	41.96±0.26	56.47±0.61	25°C-0ppt
59.73±0.28	69.43±0.58	46±0.28	66.06±0.26	25°C-5ppt
88.95±0.24	75.44±0.58	92.56±0.35	73.24±0.46	25°C-10ppt
53.98±0.26	60.4±0.59	49.03±0.31	58.84±0.17	30°C-0ppt
69.9±0.2	75.85±0.87	54.6±0.37	70.64±0.49	30°C-5ppt
111.1±0.32	81.54±0.79	98.5±0.29	79.88±0.19	30°C-10ppt

### بحث و نتیجه‌گیری

(Mirza, 2007). گزارش‌های متعددی در رابطه با تأثیر شدید شوری و دما بر اکسیژن مصرفی از آب شیرین در ماهیان استخوانی ثبت شده است ( Das et al., 2004; Das et al., 2005; Kim et al., 2005;

دما و شوری، دو فاکتور فیزیوشیمیایی هستند که در نوسانات اکسیژن آب مؤثر بوده و در ایجاد استرس‌های محیطی آبریان نقش دارند ( Chakraborty &

افزایش این دو فاکتور، ساختار آبشش تغییر کرده و بر تعداد سلول‌های کلراید افزوده می‌شود (Uliano *et al.*, 2010). افزایش سلول‌های غنی از میتوکندری در ماهی شانک زرد باله در پاسخ به شوری محیطی پس از ۷ روز افزایش معنی‌دار داشت (Imstrand *et al.*, 2003). در مطالعه بر روی تغییرات فیزیولوژیک آبشش ماهی تیلاپیا مشخص گردید در انتقال تدریجی ماهیان به شوری‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۶ ppt اندازه و تعداد میتوکندری‌های سلول‌ها، به طور قابل توجهی با ازدیاد شوری افزایش یافته و بیشترین اندازه این سلول‌ها متعلق به شوری ۳۶ ppt می‌باشد (Guner *et al.*, 2005)، نتایج مشابهی توسط فیلدر و همکارانش (۲۰۰۷) و ویرابه‌درچری (۱۹۶۱) نیز گزارش شد. بررسی حاضر در جهت مقایسه تعداد و مساحت سلول‌های کلراید تحت دو پارامتر محیطی شوری و دما در ماهی کپور معمولی صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که شوری و دما، سبب ایجاد تغییرات در تعداد و مساحت سلول‌های کلراید موجود در آبشش این ماهیان شد؛ به طوری که حداقل تعداد و مساحت سلول‌های کلراید در آب شیرین و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و حداکثر تعداد و مساحت سلول‌های کلراید مربوط به شوری ۱۰ ppt و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. افزایش دما میل ترکیبی اکسیژن و ظرفیت اکسیژن‌گیری خون ماهی را کاهش می‌دهد. همچنین باعث اختلال در اعمال حیاتی آبزیان می‌گردد؛ به طوری که به ازای هر ۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش دمای آب، اعمال حیاتی مثل تغذیه و تنفس ۲-۳ برابر افزایش یافته و نیاز ماهی به اکسیژن بیشتر می‌شود. از طرفی دیگر با افزایش دمای آب، میزان اکسیژن محلول در آب نیز کاهش می‌یابد و ماهی با شرایط هیپوکسی روبرو می‌شود. لذا ماهی جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز بدن در دماهای بالا، سعی دارد تا مساحت سطح آبششی از جمله لاملا و فیلامنت‌های آن را افزایش دهد که در پی آن سلول‌های کلراید نیز افزایش می‌یابد.

Wuenschel *et al.*, 2005; Graci-lopez *et al.*, 2006). استرس محیطی شامل دما و شوری، بر متابولیسم تنظیم اسمزی و دفع نیترژن در ماهی تأثیر می‌گذارد و احتمالاً این تأثیر به صورت پاسخ تطبیقی است که حیات با شرایط ناسازگار را امکان‌پذیر می‌سازد (Wright *et al.*, 1995; Altinok & Grizzle, 2004; Loong *et al.*, 2008; Uliano *et al.*, 2010). پاسخ متابولیسمی به استرس دما و شوری شدید در *Gambusia* و *Tilapia* تغییرات در سطح آبشش و بخصوص در تراکم سلول‌های غنی از میتوکندری (سلول‌های کلراید)، همراه بوده گزارش شده است (Lin *et al.*, 2004). افزایش اندازه و تعداد سلول‌های کلراید به عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های فیزیولوژیک مؤثر در تنظیم فشار اسمزی در مطالعات انجام شده روی ماهیان استخوانی مانند ماهی آزاد چام (*Oncorhynchus keta*) (Uchida & Kaneko, 1996)، ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (عطائی مهر و همکاران، ۱۳۸۵) و ماهیان غضروفی- استخوانی مانند تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Jabbarzadeh Shaideh *et al.*, 2000) نیز گزارش شده است. البته در تحقیقی که توسط کواینی و همکاران (۱۹۹۱)، روی دو گونه از تیلاپیا *Oreochromis niloticus* و *Oreochromis mossambicus* انجام شد، مشخص گردید که تعداد سلول‌های کلراید در محیط دریایی افزایش نیافت. کابروی و کواینیتو در سال ۲۰۰۰ تحقیقی را بر روی مرحله لاروی و جوانی *Epinephelus coioides* انجام دادند. نتایج نشان داد که افزایش در مساحت سلول‌های کلراید مستقیماً به افزایش در فعالیت آنزیم  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  وابسته است. حداکثر مساحت سلول‌های کلراید در شوری ۳۲ ppt در دماهای ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد یافت شد. همچنین تغییرات شوری و دما بر روند متابولیسم، نیترژن دفعی و تعداد سلول‌های کلراید در آبشش (*Gambusia affinis*) *Gambusia* و *zebrafish* (*Danio rerio*) تأثیرگذار است و با

راهکارهای فیزیولوژیک که کپور ماهیان در راستای مقابله با شرایط استرس‌زای ناشی از افزایش شوری و دما برای تعدیل استرس مذکور و ایجاد سازگاری با شرایط جدید به کار می‌گیرند، در نظر گرفته شود.

مشاهدات بافتی بر روی آبشش نشان داد که با افزایش دما و شوری، علاوه بر اینکه سلول‌های کلراید در پایه رشته‌های آبششی قرار دارند، بر روی فیلامنت‌های آبششی نیز گسترش یافته‌اند. با تحقیقات مایوناس و همکاران (۲۰۰۹) که بر روی گونه‌ای از سوف ماهیان با نام علمی *Umbrina cirrosa* نیز انجام شد، مشخص گردید که بخش اعظم سلول‌های کلراید بر روی فیلامنت‌های اولیه واقع شده‌اند. همچنین افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های کلراید با توجه به افزایش شوری مشاهده گردید.

به طور کلی در بررسی‌هایی که در زمینه تغییرات سلول‌های کلراید تحت شرایط متفاوت شوری و در ماهیان مختلف صورت گرفته است، رفتارهای متفاوتی در ماهیان مشاهده شده است که می‌تواند در نتیجه تفاوت در خصوصیات محیطی از قبیل شوری، pH، آلودگی‌های محیطی، ترشح هورمون‌ها و شرایط فیزیولوژیک ماهی از نظر اینکه در چه مرحله‌ای از حیات قرار دارند مثل مرحله لاروی و یا ماهی در زمان تولید مثل، تغذیه متفاوت ماهیان و ... ایجاد شوند. در نهایت می‌توان گفت، تعداد و مساحت سلول‌های کلراید در آبشش و تعداد و مساحت شبکه گلومرولی در کلیه تحت تأثیر دو فاکتور محیطی شوری و دما قرار دارند.

به نظر می‌رسد ماهی کپور معمولی در پاسخ به روند افزایشی شوری و دما در تحقیق حاضر و برای دفع یون (املاح) تک‌ظرفیتی برخلاف شیب غلظت، به فعالیت بالای میتوکندری‌های موجود در سلول‌های کلراید، شبکه‌های وسیع ریز لوله‌های سیتوپلاسمی و سیستم آنزیمی ویژه  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  نیاز دارد (عبدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Evans, 1998; Hirose; et al., 2003; Kaneko et al., 2008; Marshall et al., 2002). در مطالعه پیش‌رو، با افزایش میزان شوری از آب شیرین تا شوری ۱۰ppt به تدریج بر تعداد و مساحت سلول‌های کلراید افزوده شد. به طوری که لائونت و حبیبی نیز در مطالعات خود مشاهده کردند که با انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به شوری‌های بالاتر، قابلیت عملکردی این مکان‌های فیزیولوژیک در دفع املاح، متناسب با شدت افزایش شوری تغییر می‌کند و این امر از طریق افزایش اندازه یا تعداد سلول‌های مذکور صورت می‌پذیرد (Laurent & Hebebi, 1989) و با ایجاد این تغییرات بافتی در آبشش‌ها، دفع یون‌ها از بدن ماهیان تشدید می‌گردد (Altinok et al., 1998). افزایش اندازه و تعداد سلول‌های میتوکندری به میزان ۳/۵ برابر پس از انتقال شگ ماهیان آمریکایی (*Alosa sapidissima*) از آب شیرین به آب شور (Zydlewski & McCormick, 2001)، می‌تواند نتایج تحقیق حاضر مبنی بر افزایش اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبششی ماهی کپور معمولی با افزایش شوری و دما را تأیید نماید و به عنوان یکی از

## REFERENCES

- Abdi, R.; Pourkhadje MR.; Zolgharnein H.; Hoseinzade SH.; Moroovati H.; (2011). Effect of salinity on mitochondria of chloride cells in gill of juvenile's grouper (*Epinephelus coioides*). J. Anim. Environ.; 2(4):37-42.
- Albert, A.; Vetema, M.; Saat, T.; (2004). Effect of salinity on the development of Peipsi whitefish *Coregonus lavaretus maraenoides* Poljakow embryos. Ann. Zool. Fennici; 41: 85-88.
- Altinok, I.; Galli, SM.; Chapman, FA.; (1998). Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon *Acipenser oxyrinchus*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A; 120: 609-616.
- Altinok, I.; Grizzle, J.; (2004). Excretion



- of ammonia and urea by phylogenetically diverse fish species in low salinities. *Aquaculture*; 238: 499-507.
- Ataimehr, B.; Mojazi Amiri, B.; Abdolhay, H.; Mirvaghefi, A.; (2006). Changes of number and size of gill chloride cells and mortality of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) in different size and salinities. *Iranian Fisheries Journal*; 15: 119-127.
- Beyenbach, KB.; (2004). Kidneys sans glomeruli. *AJP –Renal*; 286: 81- 827.
- Caberoy, N. B. and Quintio, G. F. (2000). Changes in Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity and gill chloride cell morphology in the grouper *Epinephelus coioides* larvae and juveniles in response to salinity and temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*; 23: 83-94.
- Chakraborty, BK.; Mirza, MJA.; (2007). Effect of stocking density on survival and growth of endangered bata, *Labeo bata* (Hamilton–Buchanan) in nursery ponds. *Aquaculture*; 265: 156-162.
- Cinar, K.; Aksoy, A.; Emre, Y.; Aşti, RN.; (2009). The Histology and Histochemical Aspects of Gills of the Flower Fish, *Pseudophoxinus Antalyae*, *Veterinary Research Communications*; 33: 453-460.
- Cioni, C.; Demerich, D.; Cataldi, E.; Cataudella, S.; (1991). Fine structure of chloride cells in freshwater adapted *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J Fish Biol*; 39: 197-209.
- Das, DK.; Pal, AK.; Chakraborty, S.; Manush, S.; Chatterjee, N.; Mukherjee, S.; (2004). Thermal tolerance and oxygen consumption of Indian Major Carps acclimated to four temperatures. *J. Therm. Biol.*; 29: 157-163.
- Das, T.; Pal, A.; Chakraborty, S.; Manush, S.; Sahu, N.; Mukherjee, S.; (2005). Thermal tolerance, growth and oxygen consumption of *Labeo rohita* fry (Hamilton, 1982) acclimated to four temperatures. *J. Therm. Biol.*; 30: 378-383.
- Evans, DH.; (1998). *The physiology of fishes*. CRC Press, 519P.
- Fernandes, C.; Fontainhas-Fernandes, A.; Monteiro, S.; Salgado, M.; (2007). Changes in plasma Electrolytes And Gill Histopathology In Wild Liza Saliens From the Esmoriz-Paramos Coastal Lagoon, Portugal, *Bulletin of environmental Contamination And Toxicology*; 79: 301-305.
- Fielder, DS.; Allan, GL.; Pepperall, D.; Pankhurst, PM.; (2007). The effect of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. *Aquaculture*; 272: 656-666.
- Gracia-Lopez, V.; Rosas-Vazquez, C.; Brito-Perez, R.; (2006). Effects of salinity on physiological conditions in juvenile common snook *Centropomus undecimalis*. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol*; 145 A: 340-345.
- Guner, Y.; Ozden, O.; Cagiran, H.; Altunok, M.; Kizak, V.; (2005). Effect of salinity on the Osmoregulatory functions of the gills in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Turk. Vet. Anim. Sci.*; 29: 1259-1266.
- Hinton, DE.; Lauren, DJ.; Holliday, T.; Giam, C.; (1988). Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity In Fishes: Potential Biomarkers Of Exposure Hirose S, Kaneko T, Naito N and Takei Y(2003) Molecular biology of major components of chloride cells. *J. Com. Biochem. Physiol.*; Part B: 136, 593-620.
- Hirose, S.; Kaneko, T.; Naito, N.; Takei, Y.; (2003). *Molecular biology of major Copponents of Chloride Cell*. *Biochemistry and physiology*. Part3; 136: 593-620.
- Imstrand, AK.; Gunnarsson, S.; Foss, A.; Stefansson, SO.; (2003). Gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity, plasma chloride and

- osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture*; 218: 671-683.
- Jabbarzadeh Shiadeh, SM.; Mojazi Amiri, B.; Abtahi, B.; Nazari, RM.; (2000). Study on the changes of some physiological factors during osmoregulation of juvenile Persian sturgeons (*Acipenser persicus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*; 2(1): 61-74.
- Kaneko, T.; Watanabe, S.; Kyung, Mi L.; (2008). Functional morphology of mitochondrion-rich cells in euryhaline and stenohaline teleosts. *Aqua Bioscience Monograph*; 1(1): 1-62.
- Kim, WS.; Yoon, SJ.; Gil, JW.; Lee, TW.; (2005). Effects of temperature changes on the endogenous rhythm of oxygen consumption in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*; 71: 471-478.
- Koeypudsa, W.; Jongjareanjai, M.; (2011). Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell x *C. macrocephalus*, Gunther). *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*; 33(4): 369-374.
- Laurent, P.; Hebebi, N.; (1989). Gill morphometry & fish osmoregulation. *Canadian Journal of Zoology*; 67: 3055-3063.
- Lin, CH.; Huang, CL.; Yang, CH.; Lee, TH.; Hwang, PP.; (2004). Time-course changes in the expression of Na, K-ATPase and the morphometry of mitochondrion-rich cells in gills of euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during freshwater acclimation. *J. Exp. Zool.*; 301A: 85-96.
- Loong, AM.; Pang, CYM.; Hiong, KC.; Wong, WP.; Chew, SF.; Ip, Y.K.; (2008). Increased urea synthesis and/or suppressed ammonia production in the African lungfish, *Protopterus annectens*, during aestivation in air or mud. *J. Comp. Physiol*; B 178: 351-363.
- Luz, RKM.; Artinez-Alvarez, RM.; Depedro, N.; Delgado, MJ.; (2008). Growth, food intake and metabolic adaptations in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. *Aquaculture*; 276: 171-178.
- Marshall, WS.; Lynch, EM.; Cozzi, RR.; (2002). Redistribution of immunofluorescence of CFTR anion channel and NKCC cotransporter in chloride cells during adaptation of the killifish *Fundulus heteroclitus* to sea water. *J. Exp. Biol.*; 205: 1265-1273.
- Mylonas, CC.; Pavlidis, M.; Papandroulakis, N.; Zaiss, MM.; Tsafarakis, D.; Papadakis, IE.; Varsamos, S.; (2009). Growth performance and osmoregulation in the She drum (*Umbrina cirrosa*) adapted to different environmental salinities. *Aquaculture*; 287: 203-210.
- Pousti, I.; Adib Moradi, M.; (2003). *Comparative Histology and Histiotechnique*. University of Tehran Publications, Tehran, Iran. 531p.
- Richard, JG.; Semple, JW.; Bystriansky, JS.; Schulte, PM.; (2003). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase alpha isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer. *J. Exp.*; 206: 4475-4486.
- Rubio, VC.; Sánchez-Vázquez, FJ.; Madrid, JA.; (2005). Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass. *Physiol. and Behavior*; 85: 333-339.
- Sattari, M.; (2003). *Ichthyology (1) anatomy and physiology*, Press the Mehr in cooperation with the University of Guilan, 659PP.
- Smith, CJ.; Shaw, BJ.; Handy, RD.; (2007). Toxicity of Single Walled Carbon Nanotubes To Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory Toxicity, Organ Pathologies, And Other Physiological Effects, *Aquatic Toxicology*; 82: 94-109.

- Uchida, K.; Kaneko, T.; (1996). Enhanced chloride cell turn over in the gill of chum salmon fry in seawater. *Zoology Science*; 13: 655-660.
- Uliano, E.; Cataldi, M.; Carella, F.; Migliaccio, O.; Iaccarino, D.; Agnisola, C.; (2010). Effects of acute changes in salinity and temperature on routine metabolism and nitrogen excretion in gambusia (*Gambusia affinis*) and zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology; Part A* 157: 283-290.
- Virabhadrachari, V.; (1961). Structural changes in the gills, intestine and kidney of *Etroplus maculatus* (Teleostei) adapted to different salinities. *Quarterly Journal of Microscopical Science*; 102(3): 361-369.
- Wang, JQ.; Lui, H. PH.; Fan, L.; (1997). Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture*; 148: 115-124.
- Wright, PA.; Pärt, P.; Wood, CM.; (1995). Ammonia and urea excretion in the tidepool sculpin *Oligocottus maculosus*: sites of excretion, effects of reduced salinity and mechanisms of urea transport. *Fish Physiol. Biochem*; 19: 111-123.
- Wuenschel, M.; Jugovich, AR.; Hare, JA.; (2005). metabolic response of juvenile gray snapper (*Lutjanus griseus*) to temperature and salinity: physiological cost of different environments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*; 321: 145-154.
- Zydlewski, J.; McCormick, SD.; (2001). Developmental & environmental regulation of chloride cells in young American Shad (*Alosa sapidissima*). *Journal of Experimental Zoology*; 290: 73-87.