وزارت جهاد کشاورزی
سازمان ترویج، تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ـ پژوهشکده آبزی پروری (آبهای داخلی)

عنوان :

تعیین اندازه مناسب رها سازی ماهی آزاد دریای خزر *(Salmo trutta caspius)* از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی

مجری :

محمد صیاد بورانی

شماره ثبت
۸۶/۱۵۶۸

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ـ پژوهشکده آبزی ژروری (آبهای داخلی)

عنوان پروژه / طرح : تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی آزاد دریای خزر *(Salmo trutta caspius)* ازطریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی

شماره مصوب : ۸۳۰۹۱-۰۰۰۰-۰۱-۲۰۰۰۰۰-۰۳۱-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارنده گان : محمد صیاد بورانی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : محمد صیاد بورانی

نام و نام خانوادگی همکاران : غلامرضا مهدی‌زاده – سرابستانی – علیرضا ولی پور – عسگر زحمتکش – مهدی مرادی – جواد دقیق روحی – مصطفی رضوانی – حاج حسین عبدالحی – علی حلاجیان – ملک محمد ملکی شمالی – منصور شریفیان – افشین امیری – سهراب دژندیان – رضوان اله کاظمی

محل اجرا : استان گیلان

تاریخ شروع : ۱۳۸۳/۱/۱

مدت اجرا : ۲سال و ۳ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران

شمارگان (تیتراژ) : ۱۵ نسخه

تاریخ انتشار : ۱۳۸۷

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

به نام خدا

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱

۱- مقدمه ۳

۲- روش کار ۸

۳- نتایج ۱۴

۱-۳- زیست سنجی بچه ماهیان ۱۴

۲-۳- فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب ۱۵

۳-۳- درصد تلفات ۱۵

۴-۳- فشار اسمزی ۱۶

۵-۳- نتایج حاصل از سنجش الکترولیت های پلاسما ۱۹

۶-۳- سنجش شاخص‌های مربوط به شبکه گلومرولی ۲۲

۷-۳- هورمون کورتیزول ۲۵

۸-۳- سلول کلراید آبشش ۳۰

۹-۳- میزان فعالیت آنزیم **Na+,K+ - ATPase** ۳۶

۴- بحث و نتیجه‌گیری ۳۷

پیشنهادها ۴۷

منابع ۴۹

چکیده انگلیسی ۵۲

باسمه تعالی

طرح / پروژه : تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی

کد مصوب: ۸۳۰۹۱-۰۰۰۰-۰۱-۲۰۰۰۰۰-۰۳۱-۲

با مسئولیت اجرایی: آقای محمد صیاد بورانی[۱]

در کمیته علمی فنی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران مورد تأیید قرار گرفت.

معاون تحقیقاتی موسسه تحقیقات شیلات ایران

---

[۱]- آقای محمد صیاد بورانی متولد سال ۱۳۴۹ در شهرستان بندرانزلی بوده و دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات می‌باشد و در زمان اجرای پروژه / طرح تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از طریق ارزیابی قابلیت‌های تنظیم اسمزی

در ستاد ☐ پژوهشکده ☑ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت معاون بخش آبزی‌پروری و مدیر گروه فیزیولوژی آبزیان مشغول فعالیت بوده است.

Ministry of Jihad – e – Agriculture
Agriculture Research and Education Organization
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – INLAND WATERS AQUATICS STOCKS RESEARCH CENTER

Title : Determination of suitable Age and Size for Releazing of *Salmo trutta caspius* by evalution of osmotic
Apprpved Number: 2-031-200000-01-0000-13091

Author: Mohammad Sayyad bourani

Executor *:* Mohammad Sayyad bourani

Collaborator *:* Gh. Mehdizadeh, Sara bestani, A. Valipour, A. Zahmatkesh, M. Moradi, J. Paghighroohi, M. Rezvani, A.H. Abdolhay, A.Halajian, M.M. Malekishomali, M. Sharifian, A. Amiri, S.Dazhandian, R. Kazemi

Location of execution : Guilan province

Date of Beginning : 2004

Period of execution : Two years & 3 months

Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*
Circulation : *15*
Date of publishing : *2008*

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURE RESEARCH AND EDUCATION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION-
INLAND WATERS AQUATICS STOCKS RESEARCH CENER

Title:

Determination of suitable Age and size for Releazing of *Salmo trutta caspius* by evaluation of osmotic

Executor :
Mohammad Sayyad Bourani

Registration Number
2008.1568

چکیده

این تحقیق بمنظور تعیین اندازه مناسب رهاسازی و یا امکان انتقال مستقیم بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler,1877) به دریا با استفاده از تعداد ۱۶۱۱ نمونه درگروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در سه تیمار ده روزه شوری آب دریا (۱۱/۵-۱۱ در هزار)، آب ساحل (۷ در هزار) و آب شیرین و با ۳ تکرار انجام شد. خون گیری و تثبیت بافت ها در فواصل زمانی ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت پس از انتقال بچه ماهیان به تیمارهای مورد نظر انجام و شاخصهای اسمولاریته پلاسما با استفاده از اسمومتر، مقادیر یونهای سدیم با فلیم فتومتر، کلر، کلسیم و منیزیوم با روش رنگ سنجی، سطح کورتیزول پلاسما با روش رادیو ایمونو اسی، شاخصهای سلولهای کلراید آبشش، نفرون کلیه با استفاده از بافت شناسی کلاسیک و ریخت سنجی سلولی با استفاده از نرم افزار بیو کام و فعالیت آنزیم Na^+,K^+-ATPase با روش غیر مستقیمِ سنجش فسفر معدنی، و ضریب رشد ویژه مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. براساس نتایجِ تغییرات فشار اسمزی و سطح یون ها در محدوده زمانی ۱۰ روزه، می‌توان قابلیت تنظیم اسمزی و یونی همه گروههای وزنی مورد آزمایش را در شوری ۷ در هزار و قابلیت تنظیم گروههای وزنی ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی‌را در شوری دریای خزر تأیید نمود. متوسط فشار اسمزی بچه ماهیان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی‌در زمان صفر بترتیب معادل ۷/۱±۳۰۱، ۱۴/۶±۳۳۴/۷، ۶±۳۰۷/۷ و ۸/۷±۳۳۱/۳ میلی اسمول در لیتر و متوسط فشار اسمزی پس از ۲۴۰ ساعت ماندگاری در آب دریای خزر بترتیب ۱۳/۴±۳۴۶/۵، ۶/۷±۳۲۵/۳، ۹±۳۲۱ و ۰/۵۳±۳۲۹ میلی اسمول در لیتر محاسبه گردید.

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه نشان داد که این شاخص در گروههای وزنی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرمی طی سه روز از زمان انتقال به آب ۷ در هزار و برای همه گروههای وزنی در آب دریای خزر کاهش می یابد ($p<۰/۰۵$). نتایج سنجش غلظت کورتیزول، در بچه ماهیان ۵ گرمی‌نیز افزایش معنی داری را در زمان ۱۶۸ ساعت (۱۱/۳±۱۰۶ نانوگرم در میلی لیتر) نسبت به زمان ابتدایی آزمایش نشان داد ($p<۰/۰۵$) که بنظر می‌رسد این افزایش در اثر بروز استرس ورود به محیط لب شور (آب دریای خزر) اتفاق افتاده است. در سایر گروه‌های وزنی تغییرات تقریبا متعادل بود.

تعداد سلولهای کلراید (پس از یک هفته) در تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزار برای گروه ۵ گرمی تغییر معنی داری نداشت ($p>۰/۰۵$). در حالیکه گروههای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در تیمار آب دریای خزر و

گروههای ۱۵ و ۲۰ گرمی در تیمار ۷ در هزار با افزایش تعداد سلولهای کلراید مواجه بودند (p<۰/۰۵). این تعداد در تیمارهای یاد شده از ۳ تا ۷ عدد (بین دو لاملای آبششی) متغیر بود. اندازه سلولهای کلراید آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی در مدت زمان های مختلف قرار گیری در آب ۷ در هزار و آب دریا اختلاف معنی داری را با زمان صفر نشان نداد (p>۰/۰۵)، ولی این شاخص در گروه های وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی با افزایش همراه بوده که این افزایش در مقایسه با زمان صفر معنی دار بوده است. متوسط محیط سلول‌های کلراید آبشش در گروه‌های وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی‌در زمان صفر بترتیب ۳/۴±۳۲/۶، ۴/۵±۳۴/۵، ۵/۲±۳۸/۸، ۴/۲±۳۷/۵ میکرومترمکعب بوده و این مقادیر پس از ۱۶۸ ساعت ماندگاری در آب دریای خزر به ۵/۲±۳۳/۵، ۷±۵۰، ۶/۸±۴۷ و ۶/۶±۴۷/۳ میکرومترمکعب رسیده اند. آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی، سطح پایینی از فعالیت آنزیم Na^+,K^+-ATPase را نشان داد (۳/۲ تا ۶/۱ میکرومول فسفات/ میلی گرم پروتئین در ساعت). در گروه ۱۰ گرمی در زمان صفر (قبل از مقابله با آب خزر) سطح بالایی از آنزیم مشاهده شد که دارای اختلاف معنی دار با گروه وزنی ۲۰ گرمی بود (p<۰/۰۵). این وضعیت را می توان به تغییرات متابولیک و گذار به شرایط آمادگی برای مهاجرت نسبت داد (مطابقت با تعریف پار- اسمولت). در صورتیکه بچه ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی‌این مرحله را پشت سر گذاشته و ویژگیهای مرحله اسمولت را نشان می دهند.

با در نظر گرفتن همه بخشهای تحقیق می‌توان آب با شوری ۷ در هزار را با ترکیب خزر برای بقا و رشد بچه ماهیان آزاد خزر از وزن ۵ گرم به بالا مناسب دانست. در شرایط شوری دریای خزر ماهی آزاد از حدود ۱۰ گرم قابلیت رشد و بقا دارد و می‌تواند دستگاه‌های بدن را تنظیم نماید. افزایش اندازه در این جهت اثر مثبتی نشان می‌دهد. در صورت مطرح شده روشهای جدید حفاظت و افزایش ذخایر ماهی آزاد خزر مثل پرورش مقطعی یا کامل آن در قفس‌های دریایی می‌توان با بکارگیری نتایج این تحقیق می‌توان از دوره کارگاهی آنها کاسته و از حدود وزنی ۱۰ گرم بچه ماهیان را به دریا منتقل کرد.

واژگان کلیدی: *Salmo trutta caspius*، تنظیم اسمزی، کورتیزول، گلومرول، سلول کلراید.

۱- مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* Kessler,1877 از جمله ماهیان مهاجر رودرو (آنادرموس) دریای خزر می باشد که از ارزش اقتصادی و مقبولیت ویژه برخوردار است (کازانچف، ۱۳۷۱).

پس از سال ۲۷ – ۱۳۲۶ صید این ماهی کاهش یافت، بطوریکه از حدود ۱۶/۵ تن به حدود ۳/۷ تن در فصل صید ۸۳-۱۳۸۲ رسید، که نسبت به سال های گذشته کاهش چشمگیری را نشان می دهد، هرچند در برخی از سال ها این ماهی در آمار صید مشاهده نمی شود (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۸۳).

این ماهی دارای دو فرم بهاره و پاییزه می باشد. مهاجرت پائیزه این ماهی از ۱۵ شهریور تا ۵ آبان ماه انجام گرفته و برای تخم ریزی به رودخانه های کورا، ترک، سامور و رودخانه های کوچک سواحل جنوبی دریا؛ شفارود، کرگانرود، ناورود، آستاراچای و بویژه تنکابن مهاجرت می کند. ولی در رودخانه های ولگا و اورال بندرت دیده می شود. مهاجرت بهاره در ماههای اسفند و فروردین انجام می گیرد. حدود ۷۰ درصد ماهی آزاد که جهت تخمریزی به رودخانه های ایران کوچ می کنند دارای مهاجرت پاییزه (تخمدان رسیده) و ۳۰ درصد دارای مهاجرت بهاره (نارس) می باشند (کریمپور و حسین پور، ۱۳۶۷).

برای حفظ و ترمیم ذخایر این گونه هر ساله اقدام به تکثیر مصنوعی و رهاسازی آن می شود تا از این طریق بتوان ضریب بازگشت شیلاتی را افزایش داد. گرچه صید در حد بالایی نیست اما به لحاظ حفظ تنوع زیستی و جلوگیری از انقراض نسل، باید سطح رها کرد این ماهی را افزایش داد.

طی سالهای ۸۰-۱۳۷۰ تعداد ۵/۰۶۰/۰۰۰ قطعه بچه ماهی آزاد توسط مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت تولید و به دریای خزر رها سازی شده و با توجه به صید ۵۰/۱۲ تنی در این مدت (با احتساب ۴۰ درصد صید قاچاق، ثبت نشده و صید مولدین) و وزن متوسط۲/۵ کیلوگرمی، ضریب بقاء این ماهیان ۰/۴ درصد محاسبه گردید (غنی نژاد و همکاران، ۱۳۸۱).

یکی از راههای افزایش بقای بچه ماهیان پس از رهاسازی یافتن مناسب ترین اندازه و سن رهاسازی می باشد. که این امر با بررسی وضعیت فیزیولوژیک و شرایط محیطی ماهیان امکان پذیر است. در میان عوامل فیزیولوژیک، دستگاه تنظیم اسمزی و چگونگی تشکیل و تکامل اندام های تنظیم کننده اهمیت بیشتری دارد. شروع رشد ماهیان آزاد در آب شیرین صورت می گیرد و سیستم تنظیم اسمزی آنها در دوره زندگی رودخانه

ای شکل می گیرد. با مطالعه تغییرات فشار اسمزی و بکارگرفتن نتایج و یافته های آن ضریب بازگشت شیلاتی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) از حدود ۱ درصد تا دو برابر افزایش یافته است (کرایوشکینا، ۱۳۷۸).

اندامهای اصلی جهت حفظ تعادل شامل آبشش، کلیه، پوست و در ماهیان دریایی علاوه بر اینها روده می باشد. در ماهیان آب شیرین، شیب غلظتی بین مواد در خون و محیط آبی که با یک غشاء نیمه تراوا از آن مجزا شده، بر اساس خاصیت اسمزی منجر به جریان ممتد آب رو به داخل و در ماهیان دریایی رو به خارج می شود (ودمیر، ۲۰۰۱).

بسیاری از گونه های آزادماهیان یک سال یا بیشتر در رودخانه (در مرحله بچه ماهی) بسر می برند. تعدادی از آنها برای راه یابی به دریا به پایین دست رودخانه مهاجرت می کنند و در این مرحله افزایش قابل ملاحظه ای در سطح کورتیزول خون نشان می دهند (Laidiey and Leatherland, 1988).

بعد از تکامل موفقیت آمیز بچه آزاد ماهیان رهسپار شونده به دریا، آنها از نظر فیزیولوژیک بدون نیاز به دوره زمانی تطبیق، قادر به تحمل انتقال مستقیم به آب دریا خواهند بود. در این مرحله قدری نوسان در آب و یونهای آن رخ می دهد اما سیستم های فیزیولوژیک پس از چند روز بطور طبیعی فعالیت می کنند. انتقال مستقیم به آب دریا برای ماهی قابل تحمل اما با استرس نیز همراه خواهد بود (ودمیر، ۲۰۰۱).

هنگامیکه گونه های دیادروموس با آب دریا سازگار می شوند، غلظت اسمزی خون آنها بیش از گونه های هم نوع در آب شیرین می گردد. در یک ماهی دریایی، آب خارج شده از بدن (از طریق انتشار)، با نوشیدن آب دریا به مقدار ۰/۵ درصد وزن بدن در ساعت جبران می شود. بسیاری از گونه ها با ایجاد تغییراتی در وظایف کلیه، همانند کاهش میزان تصفیه گلومرولی و افزایش بازجذب لوله ای و در نتیجه کاهش ادرار، نسبت به محیط شور پاسخ می دهند. سلولهای ترشحی کلراید آبشش فعال شده و یون های تک ظرفیتی سدیم و کلر را دفع کرده تا تعادل املاح بدن حفظ گردد. در شرایط دریایی ماهیان سدیم را دفع و پتاسیم را جذب می کنند. این واکنش بوسیله آنزیم Na+,K+-ATPase و برخلاف شیب غلظتی انجام می شود، لذا انرژی زیادی باید مصرف گردد و بهمین دلیل تعداد سلولهای کلراید در آبشش ماهیان زیاد است. میتوکندریها در فضای داخلی سلولی قرار داشته و انرژی لازم جهت اعمال حیاتی سلولهای تشکیل دهنده آبشش را ایجاد می کنند. آنزیم‌های گوناگونی در شبکه آندوپلاسمیک این سلولها همانند Na+,K+-ATPase وجود دارد که در انتقال یونهای تک

ظرفیتی شرکت می نمایند (Schmitz, 1992. کرایوشکینا، ۱۳۷۸). همیشه یک شیب غلظتی رو به داخل (Influx) یا به خارج (Efflux)، برای بعضی از مواد در خون و بافت‌های ماهی وجود دارد. در ماهیان آب شیرین، شیب غلظتی بین مواد در خون و محیط آبی که با یک غشاء نیمه تراوا از آن مجزا شده، بر اساس خاصیت اسمزی منجر به جریان ممتد آب رو به داخل و در ماهیان دریایی رو به خارج می شود. ناحیه اصلی ورود اسمزی آب، آبشش ها هستند، زیرا بزرگترین سطح نفوذپذیر را در ماهی فراهم می آورند که از ۱۰-۲ سانتی‌متر مربع به ازای هر گرم وزن بدن به ترتیب در ماهیان بدون تحرک و فعال متغیر است (ودمیر، ۲۰۰۱).

تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی دریایی بصورت تنظیم Hypoosmotic است. در ماهیان آب شیرین تنظیم اسمزی بصورت Hyperosmotic بوده بطوریکه آب از محیط بیرون وارد بدن آنها می شود. خروج آب اضافی بوسیله کلیه و از طریق ادرار انجام می گیرد. این ماهیان ادرار رقیق تولید کرده، یونهای تک ظرفیتی را از طریق سلولهای کلراید جذب می کنند و یونهای دو ظرفیتی را از طریق سلولهای کلیه دفع می کنند (McCormick, 2001). براساس مطالعات کرایوشکینا (۱۳۷۸)، ورود سدیم و کلر محیط آب شیرین به ازای دفع NH4 و HCO3- (متابولیت های سمی) در ناحیه آبشش انجام می گیرد. این یونها از طریق غذا جایگزین می گردند و مکانیسم دیگر جذب یونها از طریق آبشش از محیط می باشد.

مطالعات بسیاری روی پدیده smolting و تنظیم اسمزی ماهیان در آزاد ماهیان انجام گرفته از جمله این مطالعات می توان به موارد ذیل اشاره کرد:

گونه های جنس *Salmo* و *Onchorhynchus* با تغییر شکل از Parr به اسمولت برای زندگی دریایی مهیا می شوند. تغییر شکل Parr–smolt (Smoltification) در بچه ماهیان آزاد، با تغییرات رفتاری، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک همراه است. این تغییرات از نظر فصلی (معمولاً در بهار) اتفاق می افتد و در یک دوره ۱ تا ۲ ماهه توسعه می یابد و ماهیان را برای مهاجرت به پایین دست رودخانه و ساکن شدن در محیط های دریایی سازگار می کند. این تغییرات باعث افزایش فعالیت آنزیم Na+- K+-ATPase شده و این آنزیم آبششی عملکرد تنظیم اسمزی در ماهی را متعادل می کند و به عنوان یکی از بهترین شاخص های Smoltification مورد توجه است (Hoar, 1988; Zaugg and Beckman, 1989).

مهاجرت ها تحت تأثیر وراثت و محیط قرار می گیرند. برای گونه های مختلف آزاد ماهیان که فرآیند تغییرشکل پار به اسمولت را طی می کنند، رشد در آب دریا قابل توجه است (Jonsson, 1993). در ماه های بهار تغییر شکل از حالت پار به اسمولت با افزایش دوره نوری و رشد سریع ایجاد می گردد. بچه ماهیانی که قبل از مرحله اسمولت رهاسازی می شوند، قادر به سازگاری برای زندگی در دریا نیستند. هنگامی که بچه ماهی در زمان های مقتضی (به لحاظ رشد) رها سازی شوند اندازه بزرگتر بچه ماهی به دلیل ظرفیت شنا کردن، فرار از شکارچی و توانایی صید عناصر غذایی سودمندترخواهد بود (Leber *et al*., 2004). براساس مطالعات (L,Abee - Hund *et al*., 1989)، ماهی آزاد قهوه ای مهاجر در مرحله قبل از اسمولت در آب شیرین می ماند که در این مرحله دارای طولی بین ۲۵-۱۰ سانتی‌متر می باشد.

اسمولت ها خواص فیزیکو شیمیایی زادگاه را در حافظه خود نگه می دارند (Imprinting) و پس از رشد در دریا و رسیدن به سن بلوغ به رودخانه مادری مراجعت می کنند. این مهاجرت به homing معروف است (Finstad and Heggberget, 1993).

اسمولت ناقص (Stunt) دارای ویژگیهایی چون نقص در ظرفیت تنظیم اسمزی دریایی، کاهش رشد و تغذیه، غلظت های بالای هورمون رشد (GH) و غلظت های پایین IGF می باشد (Dyre *et al*., 2004). رشد ناقص با اختلال در سیستم GH–IGF افزایش می یابد (Moriyama *et al*., 2000). زمان و جزئیات Smolting در گونه های مختلف آزاد ماهیان متفاوت است (Folmar and Dickhoff, 1980). تغییراتی که بدنبال تغییر شکل Parr به Smolt در ماهی اتفاق می افتد منجر به تنظیم یونی مایعات بدن طی چند روز بعد از ورود به آب دریا می شود و اسمولاریته پلاسما بطور تقریبی در حد ۳۴۰-۳۰۰ میلی اسمول در لیتر نگهداری می گردد (Arnesen *et al*, 1998). مطالعات انجام گرفته پیرامون گونه brook trout دلالت بر این امر دارد که رشد سریعتر بچه ماهیان، سازگاری زودتر به آب دریا را نتیجه داده و این موضوع به لحاظ اقتصادی (از نظر Sea ranching وپرورش دریایی) قابل توجه است (McCormick and Naiman, 1984).

مطالعه تبدیل بچه آزاد ماهیان پار به اسمولت نشان داد که افزایش تعداد و اندازه سلولهای کلراید عامل مهمی‌در آمادگی ماهی جهت زندگی در دریاست (Boeuf , 1993).

در ماهیان دریایی، هورمون کورتیزول جهت سازگاری ماهی در آب شور استفاده می شود. این هورمون از بافت اینترنال ترشح می گردد. هورمون کورتیزول پس از تأثیر ACTH در بافت اینترنال آزاد می شود. این هورمون از کلسترول منشاء می گیرد. مقدار کورتیزول عمدتا در ماهیان آب شیرین بسیار کم است زیرا نقش اصلی کورتیزول آزاد سازی یونهای تک ظرفیتی می باشد. این هورمون در اندام هایی چون کلیه، آبشش و روده تاثیر می‌گذارد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸).

در میان گروه های ماهیان، آزاد ماهیان به واسطه اهمیت اقتصادی و خصوصیات رودکوچی بیش از سایر گروه ها مورد مطالعات فیزیولوژی تنظیم اسمزی قرار گرفته اند و این موضوع در میان مباحث فیزیولوژی از اهمیت بسزائی برخوردار است. با توجه به اینکه تاکنون در مورد ماهی آزاد دریای خزر چنین مطالعاتی انجام نگرفته به نظر می‌رسد از طریق این تحقیق و نتایج حاصل از آن بتوان راهکارهای عملی را به منظور امکان افزایش ضریب بازگشت شیلاتی این ماهی در آینده ارائه داد.

مطالعه تنظیم اسمزی، غلظت الکترولیت ها، سطح کورتیزول خون و زمان تشکیل و تکمیل اندام ها ی مؤثر در تنظیم اسمزی می تواند زمان مناسب مهاجرت ماهی از رودخانه به دریا و در حقیقت اندازه مناسب رهاسازی بچه ماهیان آزاد دریای خزر یا پرورشی در محیط های دریایی را مشخص نماید. در حال حاضر این گونه با اندازه ۱۰-۵ گرمی به رودخانه تنکابن رهاسازی می گردد و این امر بدون پیشینه مطالعاتی قبلی انجام می گیرد. علاوه بر کاربرد در رهاسازی، در پرورش ماهی آزاد دریای خزر در قفس و همچنین موضوع Sea ranching نیز می توان نتایج چنین مطالعاتی را بکار گرفت.

تحقیق حاضر با هدف:

۱) معرفی اندازه مناسب بچه ماهی آزاد دریای خزر به منظور رهاسازی یا پرورش در محیط های دریایی

۲) تعیین روند تغییرات هورمون کورتیزول، آبشش، کلیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر در جریان تغییر شوری محیط

۲- مواد و روش ها

در این تحقیق ازجمعیت بچه ماهیان آزاد دریای خزر(*Salmo trutta caspius Kessler, 1877*) حاصل تولید مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید باهنر کلاردشت از مولدین صید شده (نژاد پائیزه) در نزدیک دهانه رودخانه تنکابن در سال‌های ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲ استفاده شد.

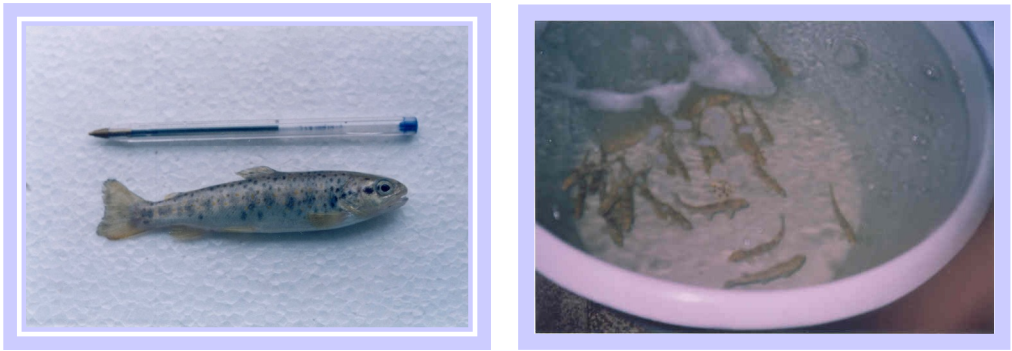
عملیات و اجرای تیمارها در ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (واقع در ساحل غازیان بندرانزلی) در سالهای ۸۳-۱۳۸۲ انجام گرفت. مطالعات بافت شناسی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، سنجش هورمون کورتیزول و الکترولیت ها در آزمایشگاه دکتر فدائی رشت صورت گرفت.

در انتقال بچه ماهیان ایجاد شرایط مناسب برای آنها بوسیله اکسیژن رسانی و حجم آب کافی (مخزن ۸ متر مکعبی) مهیا گردید. جهت تطابق، بچه ماهیان یک ماه در حوضچه های گرد بتونی ایستگاه ساحل غازیان با چرخش آب (آب شیرین) و هوادهی قرار گرفتند. سپس بچه ماهیان بوسیله دستگاه سورتر دستی (ساخت آلمان) در اوزان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی دسته بندی شده و هر گروه وزنی در وانهای ۵۰۰ لیتری با جریان آب ورودی و خروجی و هوادهی قرار گرفتند. پس از یک هفته از زمان تطابق با شرایط جدید، برای انجام عملیات تیمارداری، بچه ماهیان مستقیما به وان های ۱۰۰ لیتری و با ۳ سطح شوری آب شیرین (آب چاه با شوری ۰/۵- ۰ در هزار)، ۷ در هزار و آب دریای خزر (۱۱/۵-۱۱ در هزار) مجهز به سیستم هواده مرکزی انتقال یافتند (تصویر ۱ و ۲). تعداد بچه ماهیان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در هر وان آزمایشی (پلات) بترتیب ۱۰۰، ۵۰، ۳۵ و ۲۵ عدد بوده است.

آب دریای خزر با شوری ۱۱/۵-۱۱ در هزار از سطح دریا در منطقه ای با عمق حدود ۵۰ متری دریای خزر واقع در غرب بندرانزلی به وسیله قایق موتوری تهیه و آب ۷ در هزار نیز از ساحل ایستگاه تحقیقاتی ساحل غازیان تهیه و پس از عبور دادن از فیلتر ۶۲ میکرون به وان های ۱۰۰ لیتری (حجم آب داخل وان ها ۸۰ لیتر بوده است) منتقل شد. استفاده از وانهایی با این حجم توسط McCormick و Naiman (۱۹۸۴) نیز گزارش شده است. بچه ماهیان تحت شرایط نور طبیعی قرار داشتند.

با توجه به ۴ گروه وزنی بچه ماهیان، ۳ سطح شوری آب و ۳ تکرار برای هر تیمار (کرایوشکینا، ۱۳۷۸) در مجموع از ۳۶ پلات آزمایشی استفاده گردید.

تصویر ۱: عملیات تیمارداری
(طرح بلوکهای کاملا تصادفی)



تصویر ۲: نمایی از بچه ماهیان آزاد خزر در تیمار آب دریای خزر

میزان تعویض روزانه آب حدود ۲۰ درصد بوده، یعنی روزانه ۲۰ لیتر آب محتوی فضولات وپس مانده غذا از کف وان خارج و آب تازه از بالای وان وارد می شد. غذادهی در تمام مدت آزمایش یکبار در روز بوسیله غذای پلت مخصوص قزل آلا (FFt) به میزان ۲ درصد وزن بدن انجام می گرفت. برای سنجش وزن بچه ماهیان، ابتدا یک محفظه حاوی آب وزن شده و سپس ماهی در محفظه قرار گرفته و دوباره وزن می‌گردد. اختلاف بین اوزان اولی و دومی، وزن ماهی را بدست می‌دهد.

آزمایشهای فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های آب پلات های آزمایش با استفاده از روشهای استاندارد بطور مرتب و روزانه به شرح ذیل انجام پذیرفت.

درجه حرارت: دمای آب بوسیله ترمومتر حساس طی مراحل تیمارداری و در فواصل زمانی معین (سه بار در روز) اندازه گیری گردید.

اکسیژن محلول: این فاکتور با استفاده از روش وینکلر (یدومتری) انجام شد. در این روش با استفاده از محلول کلرورمنگان در مجاورت یدور قلیایی رسوب هیدروکسید منگان ۲MnO(OH) تشکیل و با حل کردن رسوب بوسیله اسید در مجاورت یدور پتاسیم ید آزاد شده متناسب با اکسیژن محلول می باشد که با نمک تیوسولفات در مقابل محلول چسب نشاسته مقادیر اکسیژن محلول تعیین گردید (ASTM, 1989).

pH آب وان‌های ۱۰۰ لیتری و وان‌های ذخیره بطور روزانه بوسیله دستگاه pH متر الکتریکی (WTW) اندازه گیری شد.

نیتریت، آمونیوم و نیترات: اندازه گیری نیتریت با استفاده از سولفانیل آمید در طول موج ۵۴۳ و آمونیوم با استفاده از معرف نسلر در طول موج ۴۲۰ نانومتر و نیترات با استفاده از معرف بروسین در طول موج ۴۱۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر HACH DR 2000 با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب میلی گرم در لیتر اندازه گیری شد (,ASTM) 1989. فاکتورهای فوق در فواصل زمانی مختلف ۰، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت در تمامی‌تیمارهای وزنی و تیمارهای شوری شوری مورد سنجش قرار گرفتند.

تعیین کلر و شوری آب: شوری آب حوضچه ها هر ۲۴ ساعت یکبار بوسیله دستگاه شوری سنج کنترل شد. نظر به اهمیت، سنجش شوری به سه روش محاسبه گردید(ASTM,1989) :

الف) تعیین کلر از طریق روش مور: کرومات پتاسیم بعنوان شناساگر با معرف استاندارد نیترات نقره ایجاد رسوب کرومات نقره نموده و بدین طریق مقدار کلر و شوری آب قابل محاسبه خواهد بود.

ب) سنجش شوری آب بوسیله دستگاه شوری سنج BECKMAN مدلPortable, Rs- 7B: ابتدا بوسیله آب مقطر و محلول استاندارد کلرورسدیم (با شوری ۸/۷۷ در هزار) دستگاه را کالیبره نموده و پس از کالیبراسیون، قابلیت هدایت الکتریکی نمونه ها خوانده شد و با کمک جداول محاسبه شوری دریای خزر، مقدار شوری آب تعیین گردید.

ج) با استفاده از دستگاه اسمومتر نیز شوری آب اندازه گیری شد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸)

تعیین CO_2: میزان CO2 آب در فواصل ۰، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت در تمامی‌تیمارهای وزنی و تیمارهای شوری با توجه به غلظت یونی آب (pH) با معرف فنل فتالئین و متیل اورانژ در مقابل اسید کلریدریک تعیین گردید (ASTM, 1989).

پس از قرار گرفتن بچه ماهیان در پلات ها در فواصل زمانی ۰ (گروه شاهد)، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸، ۲۴۰ ساعت، بچه ماهیان زیست سنجی شدند که طول با دقت ۱ میلی متر و وزن با دقت ۰/۱ گرم اندازه گیری شد. همچنین جهت تعیین سن از ۱۰ عدد فلس‌های نزدیک به باله پشتی استفاده گردید که با شمارش حلقه‌های رشد سالیانه تعیین سن انجام شد. در مجموع از ۲۶۴ نمونه ماهی جهت تعیین سن استفاده شد. سپس خون گیری از ساقه دمی بوسیله لوله های مویین هپارینه انجام گرفته (بدون بیهوشی) و به اپندورف cc ۱/۵ انتقال یافت (2000, Seidelin *et al*;).

همچنین تعداد ماهیان تلف شده هر پلات آزمایشی در مقاطع زمانی مذکور ثبت گردید.

به دلیل کافی نبودن مقدار خون یک بچه ماهی، جهت مطالعات فشار اسمزی روش Pooling بکار رفت. در این تحقیق از ۳ تا ۱۱ قطعه بچه ماهی (با توجه به وزن و جهت دستیابی به مقدار خون حدود ۱ میلی لیتر) بطور تصادفی جهت خونگیری استفاده گردید. محققین دیگر از ۳ تا ۲۵ قطعه بچه ماهی جهت مطالعات تنظیم اسمزی استفاده نموده اند (Krayushkina *et al*.,1996; Cataldi *et al*., 1999).

نمونه های خون پس از جمع آوری (حدود ۰/۸ تا ۱/۵ میلی لیتر)، در سانتریفوژ یخچال دار ۵۵۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه قرار گرفتند (McCormick and Naiman, 1984). بوسیله میکروسمپلر، پلاسما از سلول های خونی جدا گردید. بعد از جداسازی، بلافاصله مقداری از پلاسما جهت سنجش اسمولاریته پلاسما و غلظت الکترولیت ها بکار رفت و برای نگهداری طولانی تر پلاسما به منظور سنجش هورمون کورتیزول، نمونه ها در ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند.

در مجموع، تعداد ۱۶۱۱ قطعه بچه ماهی آزاد مورد زیست سنجی و خونگیری قرار گرفتند که از این تعداد ۶۴۳ قطعه به بچه ماهیان ۵ گرمی، ۴۶۳ قطعه به بچه ماهیان ۱۰ گرمی، ۲۸۶ قطعه به بچه ماهیان ۱۵ گرمی و ۲۱۹ قطعه به بچه ماهیان ۲۰ گرمی اختصاص داشت.

تعداد ماهیان بررسی شده در سطوح شوری آب شیرین، آب ۷ در هزار و آب دریا بترتیب ۶۰۱ قطعه، ۵۰۵ قطعه و ۵۰۵ قطعه بوده است.

برای اندازه گیری فشار اسمزی، از اسمومتر (مدل ۱۳: Type. Nr.9610003، ساخت شرکت Roebling آلمان) استفاده شد (Krayushkina *et al*., 1995).

برای اندازه گیری یون Cl– از دستگاه رایانه ای RA–1000 (TECNICON) استفاده شد. اندازه گیری مواد در این سیستم بر اساس روش رنگ سنجی بوده و شدت جذب نوری با غلظت مواد رابطه مستقیم دارد (Seidelin *et al*., 2000).

کلر در مجاورت تیوسیانات جیوه، کلرور جیوه تولید نموده و تیوسیانات آزاد شده با یون های سه ظرفیتی آهن موجود در معرف ایجاد تیوسیانات فریک می کند که در طول موج های بین ۵۰۰ تا ۵۵۰ نانومتر قابل اندازه گیری است. برای سنجش یون کلر، نیاز به ۱۰ µl نمونه پلاسما، ۱۰ µl استاندارد، ۱۰ µl آب مقطر و ۱/۵ ml معرف می باشد(ASTM, 1989). یونهای سدیم به روش فلایم فتومتر (شعله و نورسنجی)، با دستگاه CORNING-480 اندازه گیری شدند (McCormick and Naiman, 1984; ASTM, 1989).

۱-۲- اندازه گیری هورمون کورتیزول در نمونه های پلاسما

با توجه به یکسانی ساختار مولکولی هورمون کورتیزول در مهره داران (Bone *et al*., 1995)، از کیت انسانی واز روش رادیوایمونواسی برای تعیین غلظت کورتیزول پلاسمای بچه ماهیان استفاده شد (Avella *et al*., 1990). برای انجام این کار از آنتی بادی های تهیه شده بر ضد هورمون کورتیزول انسانی و آنتی ژن آن برای تهیه منحنی استاندارد و اندازه گیری غلظت کورتیزول نمونه ها استفاده شد.

۵۰ µl از نمونه پلاسما یا استانداردها را به ۱ ml بافر رقیق کننده کیت افزوده و پس از کمی به هم زدن، ۱۰۰ µl از آن به داخل لوله هایی با آنتی بادی پوشانده شده انتقال می یابد. سپس ۵۰۰ µl آنتی ژن نشاندار شده با I125 به لوله فوق افزوده شد. لوله ها را در داخل حمام آبی با دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده، پس ازآن مواد داخل لوله ها خالی می‌گردد و بوسیله آب مقطر شستشو می شوند. بوسیله شمارشگر گاما کانتر (دستگاه LKB ساخت فنلاند، تمام اتوماتیک) منحنی استاندارد ترسیم گردیده و مقادیر مجهول از طریق منحنی استاندارد محاسبه شد.

بافت شناسی: برای تثبیت نمونه های بافت کلیه، آبشش از محلول بوئن و الکل اتانول ۷۰ درجه استفاده شد. مشخصات کامل هر نمونه ماهی داخل فیکساتیو بطور کامل ثبت گردید و این مشخصات شامل تاریخ، مدت زمان قرار گیری، شوری محیط، تکرار، وزن ماهی بود.

برای تهیه مقاطع بافتی، نمونه ها از مراحل آبگیری، شفاف سازی، پارافینه شدن، قالب گیری، برش، رنگ آمیزی و مونته کردن عبور داده شدند (پوستی و مرودستی، ۱۳۷۸؛ کاظمی و بهمنی، ۱۳۷۷). جهت تشخیص بهتر سلولهای مختلف کلیه، آبشش از دو روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین و AZAN (آزوکارمن B) استفاده گردید (کرایوشکینا، ۱۳۷۸).

پس از مراحل فوق الذکر، اسلاید های بافتی با کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی ـ فیلمبرداری مورد مطالعه قرار گرفت. در هر اسلاید بطور متوسط ۱۵ میدان بافتی مطالعه شد و از قسمت های مختلف با بزرگ نمایی های مختلف عکسبرداری گردید. در مورد سلولهای کلراید آبششی و نفرون کلیه، قطر متوسط، قطر بزرگ، قطر کوچک، محیط و مساحت سلولها بوسیله برنامه Biocom اندازه گیری شد. همچنین تعداد سلولهای کلراید ما بین دو پایه آبششی با بزرگنمایی X۱۱۶ شمارش گردید (Eliassen *et al.*,1998).

تعداد، قطر متوسط، قطر کوچک، قطر بزرگ، محیط و مساحت شبکه گلومرولی کلیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر در اوزان و سطوح شوری مختلف با بزرگنمایی ۴۶/۴ برابر بوسیله برنامه Biocom تعیین شد (Krayushkina *et al.*, 1996). در مجموع تعداد ۱۰۱ اسلاید بافتی (با توجه به وضوح بافت و قابلیت اندازه گیری فاکتورها) برای تعیین شاخص های شبکه گلومرولی مورد بررسی قرارگرفتند. نمونه برداری در زمان صفر (زمان قرارگیری درآب شیرین) و پس از۷۲ ساعت قرارگیری درمحیط ۷ درهزار و آب دریای خزر انجام گرفت.

سنجش میزان فعالیت آنزیم Na^{+},K^{+}-ATPase

فعالیت آنزیم Na^{+},K^{+}-ATPase، به عنوان تولید فسفات غیر آلی (Pi) اندازه گیری شد و ارزیابی آنزیم با روش Zaugg (۱۹۸۲) به انجام رسید.

۲-۲- روش پردازش آماری اطلاعات و داده ها

داده های حاصل از زیست سنجی ماهیان، اسمولاریته و غلظت یون ها، مقادیر کورتیزول و آنزیم Na+,K+-ATPase، زیست سنجی سلول های کلراید و اجزاء نفرون با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت و در جداسازی گروه های همگن بر حسب کلاسه های وزنی و شوری و مدت زمان قرارگیری از آزمون توکی استفاده شد. عملیات مزبور در فضای نرم افزار SPSS انجام گرفت. در ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱- زیست سنجی بچه ماهیان

میانگین طول بچه ماهیان زیست سنجی شده در گروه های وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی بترتیب ۰/۲± ۸، ۰/۰۳± ۹/۶، ۰/۰۳ ± ۱۱/۲ و ۰/۰۳۷± ۱۲/۳ سانتی متربود.

نتایج حاصل از زیست سنجی گروههای وزنی بچه ماهیان به تفکیک تیمارهای سطح شوری؛ آب دریا، آب ۷ در هزار، آب شیرین به شرح جدول ۱ می باشد:

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از سنجش وزنی بچه ماهی آزاد خزر در تیمار های مورد مطالعه

تیمار (شوری)	گروه وزنی (گرم)	تعداد (عدد)	میانگین وزن (گرم)	میانگین طول (سانتی متر)
آب دریای خزر (۱۱/۵-۱۱ در هزار)	۲۰	۷۰	۱۹/۳ ± ۱/۱ d	۱۲/۲۵ ±۰/ ۴ e
	۱۵	۱۰۳	۱۴/۳ ± ۰/۸ c	۱۱ ±۰/۲۷ f
	۱۰	۱۳۳	۹/۴ ± ۰/۹۵ b	۹/۵±۰/۳۷ g
	۵	۲۲۵	۴/۶ ± ۱/۲۸ a	۷/۸±۰/۸ h
آب ساحل (۷ در هزار)	۲۰	۷۳	۱۹/۳۵ ± ۱/۲ d	۱۲/۴±۰/۴۳ e
	۱۵	۸۶	۱۴/۵ ± ۱ c	۱۱/۳±۰/۴ f
	۱۰	۱۶۵	۹/۲ ± ۱/۱۸ b	۹/۸±۰/۴۷ g
	۵	۲۰۲	۴/۹۵ ± ۰/۸۹ a	۸/۱±۰/۶ h
آب شیرین (۰/۵-۰ در هزار)	۲۰	۶۴	۱۹/۲ ± ۱/۱ d	۱۲/۳۷±۰/۴ e
	۱۵	۸۵	۱۴/۶ ± ۱/۲ c	۱۱/۳ ±۰/۴ f
	۱۰	۱۵۳	۹/۳ ± ۱/۲ b	۹/۸±۰/۴۴ g
	۵	۲۰۶	۵ ± ۰/۹۳ a	۸/۲ ±۰/۶۲ h

ارقام با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار (آزمون توکی- $p > ۰/۰۵$) می باشند

بر اساس آزمون توکی، بین گروههای وزنی در هر سه سطح شوری با سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی دار وجود دارد.

براساس تعیین سن انجام گرفته، متوسط سن بچه ماهیان ۵ گرمی$^{+}$۰ و بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی$^{+}$۱ بوده است.

۲-۳- فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

از طریق تعویض روزانه آب (به میزان ۲۰ درصد)، هوادهی و سیفون کردن وان ها تعادل شیمیایی محیط آزمایش به شرح جدول ۲ حفظ شد.

جدول ۲: شاخص‌های فیزیکوشیمیایی سنجش شده در پلات های مختلف (Mean ± SD)

عامل / تیمار	pH	Salinity (۰/۰۰)	$^{(mg/l)}O2$	NO_2 (mg/l)	$^{(mg/l)}NH_4$	$^{(mg/l)}CO_2$
آب دریای خزر	۷/۹۴-۸/۱۲	۱۱/۶۸±۰/۸	۸/۳۷±۰/۶۴	۰/۰۰۶±۰/۰۱۹	۰/۰۱±۰/۰۰۳	۰/۵۳۳±۰/۰۵۱
آب ۷ در هزار	۸/۲-۸/۴	۷/۱±۰/۹۶	۹/۳۲±۰/۰۰۶	۰/۰۰۷۶±۰/۰۰۳	۰/۰۱۳	۰
آب شیرین	۸/۲۲-۸/۵۸	۰/۳۴±۰/۰۲	۹/۴۶±۱/۳۶	۰/۰۱۱±۰/۰۲۲	۰/۰۱۴±۰/۰۰۶	۰

مقادیر الکترولیت‌های موجود در تیمارها در جدول ۳ آمده است. غلظت یون های سدیم و کلر در ترکیب آب دریای خزر و آب ساحل حداکثر بوده و درصد بالایی (حدود ۹۰ درصد) را به خود اختصاص داده اند.

جدول ۳: میانگین غلظت الکترولیت ها در تیمارهای شوری

عنوان شده است. Mean ± SD(میلی اکی والان در لیتر). ارقام بصورت

یون / تیمار	Cl^-	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Na^+	K^+
آب ساحل (۷ در هزار)	۸۸/۳ ± ۰/۵۸	۹/۴۸ ± ۰/۱	۷/۲۸ ± ۰/۰۷	۸۲/۵۷ ± ۰/۵	۱/۳۲ ± ۰/۰۳
آب دریای خزر (۱۱/۵-۱۱ درهزار)	۱۲۰ ±۰/۹	۹/۹ ± ۰/۱	۱۰/۱ ± ۰/۱۵	۱۳۰ ± ۱	۲ ± ۰/۰۱

۳-۳- درصد تلفات

در تیمار ۷ در هزار تلفاتی مشاهده نشد و درصد تلفات در تیمار آب دریای خزر برای گروههای وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی کمتر از آب شیرین بود (جدول ۴).

جدول ٤: تلفات بچه ماهیان آزاد خزر طی انتقال مستقیم از آب شیرین به آب ۷ در هزار و آب دریای خزر در طول ۱۰ روز آزمایش

سطح شوری / گروه وزنی	آب دریای خزر		آب ۷ در هزار		آب شیرین		تعداد بچه ماهی در هر پلات
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
۵ گرمی	۶	۲/۵	۰	۰	۰	۰	۸۰
۱۰ گرمی	۴	۲/۹۶	۰	۰	۱	۰/۷۴	۴۵
۱۵ گرمی	۳	۳/۳	۰	۰	۵	۵/۶	۳۰
۲۰ گرمی	۴	۵/۳	۰	۰	۸	۱۰/۷	۲۵

٤-۳- فشار اسمزی

میانگین فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان ۵ گرمی بیش از سایر گروه های وزنی بوده که بیشتر به افزایش فشار اسمزی پس از ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت ماندگاری در آب دریا مربوط می شود.

نوسانات فشار اسمزی بچه ماهیان آزاد دریای خزر در تیمارهای مختلف وزنی و شوری در جدول ۵ نشان داده شده است.

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

سطح فشار اسمزی پس از ۲۴۰ ساعت (آب دریای خزر) در مقایسه با زمان صفر افزایشی حدود ۱۵/۱ درصد را نشان میدهد و در سایر زمانها نیز مقدار فشار اسمزی بالاتر از زمان صفر می باشد. بنابراین بچه ماهیان ۵ گرمی موجود در آب دریا قادر نبوده اند سطح فشار اسمزی خود را به سطح اولیه فشار اسمزی پلاسمای خون برسانند. فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان پس از ۳ ساعت در آب ۷ در هزار نسبت به زمان صفر افزایش ۸/۶ درصدی پیدا کرده و تقریبا در یک نسبت ثابت باقی مانده است. افزایش فشار اسمزی پس از ۲۴۰ ساعت نسبت به زمان اولیه حدود ۵ درصد می باشد.

۲) بچه ماهی ۱۰ گرمی

سطح فشار اسمزی در ۷۲ ساعت در مقایسه با زمان صفر حدود ۱/۴ درصد افزایش یافته و در زمان

های ۱۶۸ ساعت و ۲۴۰ ساعت در مقایسه با زمان صفر حدود ۱/۴ درصد و ۲/۸ درصد کاهش نشان میدهد. سطح فشار اسمزی بچه ماهیان ۱۰ گرمی پس از ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت در آب ۷ در هزار در مقایسه با زمان صفر بترتیب ۶/۴ درصد ، ۴/۲ درصد ، ۵/۶ درصد ، ۶/۳ درصد ، ۶ درصد ، ۵/۹ درصد و ۵/۹ درصد کاهش داشته است. شایان ذکر است در زمانهای مذکور تغییرات فشار اسمزی اندک بوده و در حقیقت در حد نسبتا ثابتی باقی مانده است.

سطوح فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان در آب شیرین، به استثنای ماندگاری ۳ ساعت در آب شیرین، در بقیه زمانها در مقایسه با سطوح فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان در آب دریا و آب ۷ درهزار کمتر است.

۳) بچه ماهی ۱۵ گرمی

فشار اسمزی در بچه ماهیان ۱۵ گرمی پس از ۳ و ۶ ساعت در آب دریای خزر تغییر چندانی نیافته و پس از ۷۲ ساعت در آب دریا نسبت به زمان صفر حدود ۱۰/۲ درصد و در زمان ۲۴۰ ساعت ۴/۳ درصد افزایش مشاهده می شود.

در آب ۷ در هزار، سطح فشار اسمزی تا ۷۲ ساعت با افزایش معنی داری در مقایسه با زمان صفر مواجه بوده ($p<۰/۰۵$) و در دو زمان انتهایی آزمایش (۱۶۸و۲۴۰ ساعت) به اسمولاریته پلاسمای خون زمان صفر (آب شیرین) نزدیک شده است ($p >۰/۰۵$). از مجموع مطالب فوق می توان نتیجه گرفت که این بچه ماهیان قابلیت تنظیم فشار اسمزی در آب ۷ در هزار (آب ساحل) و آب دریای خزر را دارند و توانسته اند سطح فشار اسمزی خود را به سطح فشار اسمزی پلاسمای خون در محیط آب شیرین برسانند.

٤) بچه ماهی ۲۰ گرمی

فشار اسمزی بچه ماهیان ۲۰ گرمی در آب دریای خزر بجز زمان ۷۲ ساعت تغییر معنی داری نشان نمی دهد.

بچه ماهیان ۲۰ گرمی موجود در آب ۷ در هزار دارای روند تغییرات فشار اسمزی منظم تری هستند. بطوریکه پس از ۶ ساعت در آب ۷ در هزار، فشار اسمزی کاهش یافته و تقریبا در حد ثابتی باقی مانده است. تغییرات فشار اسمزی در آب شیرین، تقریبا دارای روندی مشابه با تغییرات آن در آب ۷ در هزار می باشد ولی در ساعات ۱۶۸ و ۲۴۰، فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان در آب شیرین پایین تر از آب ۷ در هزار است. از مجموع مطالب فوق می توان به این نتیجه نزدیک شد که بچه ماهیان ۲۰ گرمی در محیط آب دریای خزر و محیط آب

۷ در هزار (آب ساحل) قادر به تنظیم فشار اسمزی می باشند. بطوریکه مقدار فشار اسمزی پلاسمای خون طی ۲۴۰ ساعت در آب دریا ۰/۶ درصد نسبت به زمان صفر افزایش نشان می دهد، در حقیقت پس از ۲۴۰ ساعت به مقدار فشار اسمزی پلاسمای خون در محیط آب شیرین (زمان صفر) نزدیک شده است.

فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان در آب ۷ در هزار نسبت به زمان صفر (پس از ۲۴۰ ساعت) حدود ۴/۸ درصد کاهش نشان می دهد. لازم به ذکر است از زمان ۲۴ ساعت به بعد، میزان فشار اسمزی در حد تقریبا ثابتی است.

جدول ۵: مقادیر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال عنوان شده است. Mean ± SD ارقام بصورت به تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر).

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۶	۱۲	۲۴	۷۲	۱۶۸	۲۴۰
۵ گرمی	آب دریای خزر	^{a}۳۰۱±۷/۱	^{ac}۳۱۱/۷±۴/۶	^{ac}۳۱۹/۷±۶/۴	^{ac}۳۱۸±۳/۶	^{ac}۳۲۱±۴/۴	^{bc}۳۳۲±۱۰/۴	^{ac}۳۱۶/۷±۱۲/۷	^{b}۳۴۶/۵±۱۳/۴
	آب ۷ در هزار	^{a}۳۰۱±۷/۱	^{b}۳۲۷±۵/۲	^{b}۳۳۰/۳±۱/۵	^{bc}۳۲۳/۷±۱/۵	^{bc}۳۲۵/۳±۴/۷	^{ac}۳۱۱/۲±۵/۶	^{bc}۳۲۱/۳±۴/۲	^{ab}۳۱۵/۷±۶/۷
	آب شیرین	^{a}۳۰۱±۷/۱	^{b}۳۲۱/۸±۳/۹	^{b}۳۲۱±۱۰/۱	^{b}۳۲۱/۳±۴/۷	^{bc}۳۱۹/۳±۴/۷	^{ac}۳۰۲/۸±۷/۹	^{ab}۳۱۱/۳±۲/۲	^{ab}۳۱۵±۲
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	^{ac}۳۳۴/۷±۱۴/۶	^{b}۳۱۱±۲	^{bc}۳۱۶±۳	^{abc}۳۲۴±۱/۷	^{abc}۳۲۵±۴/۶	^{a}۳۳۹/۳±۰/۶	^{abc}۳۳۰±۸/۵	^{abc}۳۲۵/۳±۶/۷
	آب ۷ در هزار	۳۳۴/۷±۱۴/۶	۳۱۳±۲	۳۲۰/۷±۱۲/۵	۳۱۶±۲/۷	۳۱۳/۷±۱۱/۷	۳۱۴/۵±۵/۹	۳۱۴/۸±۵/۲	۳۱۵±۶/۷
	آب شیرین	^{a}۳۳۴/۷±۱۴/۶	^{ab}۳۲۰/۳±۱۴	^{bc}۳۰۸±۶/۹	^{ac}۳۱۲/۷±۴/۲	^{bc}۳۰۳/۷±۴/۷	^{bc}۳۰۶/۵±۶/۲	^{ac}۳۰۹/۷±۸/۱	^{ac}۳۱۱/۳±۶/۸
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	^{a}۳۰۷/۷±۶	^{a}۳۰۹/۳±۳/۲	^{a}۳۰۷/۳±۵/۷	^{a}۳۱۲/۳±۴/۶	^{ac}۳۲۱/۳±۵/۱	^{b}۳۳۹±۶/۹	^{bc}۳۳۰/۶±۲/۵	^{ac}۳۲۱±۹
	آب ۷ در هزار	^{a}۳۰۷/۷±۶	^{b}۳۳۸/۵±۰/۷	^{b}۳۳۳±۲/۸	^{b}۳۳۳/۵±۷/۸	^{c}۳۲۱±۰/۱	^{c}۳۲۱/۵±۰/۷	^{a}۳۰۴/۴±۲/۹	^{ac}۳۱۱/۳±۳/۲
	آب شیرین	^{ac}۳۰۷/۷±۶	^{b}۳۳۶/۳±۴/۲	^{ab}۳۲۳±۷/۸	^{ab}۳۲۳±۸/۵	^{a}۳۱۸±۴/۲	^{a}۳۱۷/۵±۳/۵	^{cd}۲۹۶/۳±۴/۲	^{d}۲۸۵/۷±۶/۷
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	^{ac}۳۳۱/۳±۸/۷	^{ac}۳۲۳/۷±۱۳/۳	^{a}۳۰۸/۳±۴/۹	^{a}۳۱۲/۷±۳/۲	^{ac}۳۱۹±۴/۶	^{bc}۳۳۹±۶/۴	^{ac}۳۲۳±۱۸	^{ac}۳۲۹±۰/۵۳
	آب ۷ در هزار	^{ab}۳۳۱/۳±۸/۷	^{ab}۳۲۶/۳±۱۵/۵	^{a}۳۴۰±۶/۲	^{b}۳۰۰/۸±۲۵/۲	^{ab}۳۱۶±۷/۹	^{ab}۳۱۰/۳±۷/۵	^{b}۳۰۲/۳±۷	^{ab}۳۱۵/۳±۷/۶
	آب شیرین	۳۳۱/۳±۸/۷	۳۱۸/۷±۲۴	۳۳۹/۷±۹	۲۹۹/۸±۳۳/۳	۳۰۹±۱۳/۱	۳۰۷/۶±۱۶/۳	۲۸۷/۷±۳۲/۷	۲۹۷±۱۵/۷

ارقام با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار (آزمون توکی- $p > ۰/۰۵$) می باشند. مقادیر بدون حرف فاقد تفاوت معنی دار در آن سطح شوری می باشند. در ضمن مقایسه داده ها به تفکیک شوری و گروه وزنی انجام گرفت.

۵-۳- نتایج حاصل از سنجش الکترولیت های پلاسما

۱-۵-۳- یون سدیم

نتایج حاصل از اندازه گیری یون سدیم در تیمارهای مختلف وزنی و شوری در جدول ۶ آمده است.

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان ۵ گرمی منتقل شده به آب دریای خزر در فواصل زمانی ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت بترتیب ۷/۵ درصد، ۸/۲ درصد، ۹/۶ درصد، ۹/۶ درصد، ۱۳/۲ درصد، ۱۰/۸ درصد و ۱۱/۹ درصد در مقایسه با سطح اولیه افزایش یافت.

در بچه ماهیان انتقال یافته به آب ۷ در هزار تا فاصله زمانی ۶ ساعت سدیم افزایش داشته (۵/۱ درصد) پس از کاهش ۳/۹ درصدی در زمان ۱۲ ساعت دوباره افزایش یافته، در ۷۲ ساعت ۱۱ درصد بالاتر از زمان صفر بود. پس از ۲۴۰ ساعت این یون به سطح اولیه نزدیک تر شده، حدود ۱/۵ درصد بالاتر از سطح اولیه مشاهده شد.

۲) بچه ماهیان ۱۰ گرمی

در بچه ماهیان ۱۰ گرمی پس از گذشت سه ساعت از ماندگاری بچه ماهیان در آب دریای خزر، غلظت یون سدیم پلاسما حدود ۴/۹ درصد کاهش یافته و پس از این زمان، سطح این یون تا زمان ۱۶۸ ساعت روند صعودی طی کرد و پس از ۲۴۰ ساعت از زمان انتقال به سطح اولیه نزدیک گردید. پس از قرارگیری بچه ماهیان در آب ۷ در هزار، غلظت یون سدیم در زمان های مختلف نوسانات اندکی داشت.

۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی

سطح یون سدیم در تیمارهای آب دریای خزر، آب ۷ در هزار و آب شیرین تغییرات معنی داری نشان نداد.

٤) بچه ماهیان ۲۰ گرمی

در تیمار آب دریای خزر، غلظت سدیم پلاسما تا ۷۲ ساعت روند افزایشی داشته (به استثناء ۱۲ ساعت) و ۱۴/۲ درصد بالاتر از سطح اولیه قرار گرفت. بعد از این زمان روند نزولی بوده و پس از ۱۰ روز از زمان انتقال، سطح یون ۴/۹ درصد بالاتر از سطح اولیه بود.

در آب ۷ در هزار نوساناتی پائین تر از سطح این یون در آب دریا مشاهده شد. غلظت یون سدیم پلاسمای خون پس از ۲۴۰ ساعت قرارگیری در آب ۷ در هزار حدود ۵/۹ درصد بالاتر از سطح اولیه بود. تفاوت معنی داری بین مقادیر یون سدیم در تیمارهای مختلف شوری در زمان ۲۴۰ ساعت برای تمامی‌بچه ماهیان مشاهده نگردید.

جدول ٦: غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال عنوان شده است Mean ± SD ارقام بصورت) . به تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۶	۱۲	۲۴	۷۲	۱۶۸	۲۴۰
۵ گرمی	آب دریای خزر	۱۴۰/۵±۹/۱	۱۵۱±۶/۱	۱۵۲±۷/۱	۱۵۴±۵/۳	۱۵۴±۳/۵	۱۵۹±۳/۶	۱۵۵/۷±۶/۵	۱۵۷/۳±۴/۹
	آب ۷ در هزار	۱۴۰/۵±۹/۱	۱۴۷/۷ ±۳/۹	۱۴۷/۷ ±۴/۲	۱۳۵±۹/۹	۱۵۱ ±۳/۵	۱۵۶±۲/۳	۱۵۰/۳ ±۱/۸	۱۴۲/۷±۱/۸
	آب شیرین	۱۴۰/۵±۹/۱	۱۵۰/۷±۲/۷	۱۵۱/۳±۳/۲	۱۴۵/۳±۳/۹	۱۴۴ ±۳/۸	۱۴۸±۱/۷	۱۴۸/۷±۱/۸	۱۴۴±۳/۲
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	۱۵۱±۴/۷	۱۴۳/۷±۴/۷	۱۴۶/۳±۵/۸	۱۵۰/۷±۵/۲	۱۵۷/۳±۳/۸	۱۶۱/۷±۴/۹	۱۶۱±۳/۱	۱۵۰/۷±۲/۴
	آب ۷ در هزار	۱۵۱±۴/۷	۱۴۷/۵ ±۶/۹	۱۴۴ ±۶/۲	۱۴۷/۸±۱/۷	۱۴۸/۵ ±۲/۲	۱۴۷/۵±۳/۸	۱۴۶ ±۲/۷	۱۴۷/۸±۱/۶
	آب شیرین	۱۵۱±۴/۷	۱۳۹/۳±۳/۸	۱۴۰±۴/۷	۱۳۸/۳±۲/۳	۱۳۴/۳ ±۴/۳	۱۴۱/۳±۱/۹	۱۴۱±۴	۱۳۷/۷±۴/۷
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	۱۴۴±۲/۸	۱۴۳/۳±۳/۵	۱۴۸/۵±۲/۳	۱۴۸/۷±۴/۵	۱۵۰/۳±۷	۱۵۴/۳±۳/۹	۱۴۸±۳/۵	۱۴۰/۳±۲/۱
	آب ۷ در هزار	۱۴۴±۲/۸	۱۳۵/۷ ±۲/۸	۱۳۸ ±۳/۲	۱۳۶±۲	۱۴۰/۶ ±۰/۳	۱۴۰±۴/۶	۱۳۹/۷ ±۱/۷	۱۴۳/۳±۱/۸
	آب شیرین	۱۴۴±۲/۸	۱۳۴/۷±۳/۴	۱۳۵/۷±۳/۱	۱۳۱±۶	۱۳۳/۳ ±۲/۳	۱۳۴/۳±۸/۲	۱۳۸/۵±۴/۵	۱۳۱±۲/۱
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	a۱۳۶/۳±۶/۳	[ab] ۴/۱±۱۳۹	ab۱۴۲±۳/۵	ab۱۳۷±۴/۲	ab۱۴۹±۴	b۱۵۵/۷±۲	ab۱۵۰/۳±۵/۸	ab۱۴۳±۲/۴
	آب ۷ در هزار	۱۳۶/۳±۶/۳	۱۳۹ ±۱/۲	۱۴۱/۷ ±۶/۶	۱۳۶/۷±۵/۶	۱۴۴/۳ ±۳/۵	۱۴۸/۷±۰/۷	۱۴۷ ±۲/۷	۱۴۴/۳±۵
	آب شیرین	۱۳۶/۳±۶/۳	۱۴۳/۵±۰/۴	۱۳۹±۱/۷	۱۳۹/۳±۵	۱۳۵ ±۵/۷	۱۴۲±۳/۱	۱۳۲±۸/۵	۱۳۵±۳/۵

در سطرهای حروفگذاری نشده اختلاف معنی دار بین میانگین ها موجود نیست. ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی- $p > ۰/۰۵$)

۲-۵-۳- یون کلر: نتایج حاصل از اندازه گیری یون کلراید در تیمارهای مختلف وزنی و شوری در جدول ۷ نشان داده شده است.

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

سطح یون کلراید پلاسمای بچه ماهیان ۵ گرمی در آب دریای خزر در تمامی زمان ها نسبت به سطح اولیه افزایش نشان داد، که حداکثر این افزایش مربوط به زمان ۲۴۰ ساعت (۱۱/۴ درصد نسبت به سطح اولیه) بود.

سطح کلراید در محیط آب ۷ در هزار در فواصل زمانی مختلف دارای نوساناتی بوده و پس از ۲۴۰ ساعت به سطح نزدیک به محیط اولیه رسید (۱/۱ درصد بالاتر از سطح اولیه).

۲) بچه ماهیان ۱۰ گرمی

سطح یون کلراید پلاسمای بچه ماهیان ۱۰ گرمی در آب دریای خزر از زمان صفر تا ۱۶۸ ساعت روند افزایشی داشته، بطوریکه در ۱۶۸ ساعت، میزان آن ۱۴/۲ درصد بالاتر از سطح اولیه بود، و در زمان ۲۴۰ ساعت نسبت به ۱۶۸ ساعت کاهش، ولی در مقایسه با زمان صفر حدود ۵/۳ درصد افزایش داشت. سطح یون کلراید در آب ۷ در هزار و آب شیرین تغییرات معنی داری نشان نداد.

۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی

مقادیر کلراید پلاسمای بچه ماهیان ۱۵ گرمی در آب دریای خزر تا ۱۶۸ ساعت روند افزایشی تا ۱۲/۸ درصد داشت، ولی در ۲۴۰ ساعت به سطح اولیه نزدیک شد. سطح کلراید در بچه ماهیان قرار گرفته در آب ۷ در هزار در زمان های ۳، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت در مقایسه با زمان صفر بترتیب ۸/۵ درصد، ۵/۹ درصد، ۴/۱ درصد، ۳ درصد و ۱/۸ درصد کاهش داشته لیکن در ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت بترتیب ۰ و ۱/۱ درصد بالاتر از زمان صفر بود.

٤) بچه ماهیان ۲۰ گرمی

غلظت یون کلراید پلاسمای خون بچه ماهیان موجود در آب دریای خزر در تمامی ساعات بالاتر از سطح اولیه بود. مقادیر یون تا زمان ۷۲ ساعت روند افزایشی داشت ولی پس از آن روند نزولی مشاهده می شود، بطوریکه پس از ۲۴۰ ساعت سطح یون کلراید ۷/۴ درصد بالاتر از سطح اولیه می باشد. در تیمار ۷ در هزار و آب شیرین تفاوت معنی داری در غلظت یون کلراید مشاهده نشد.

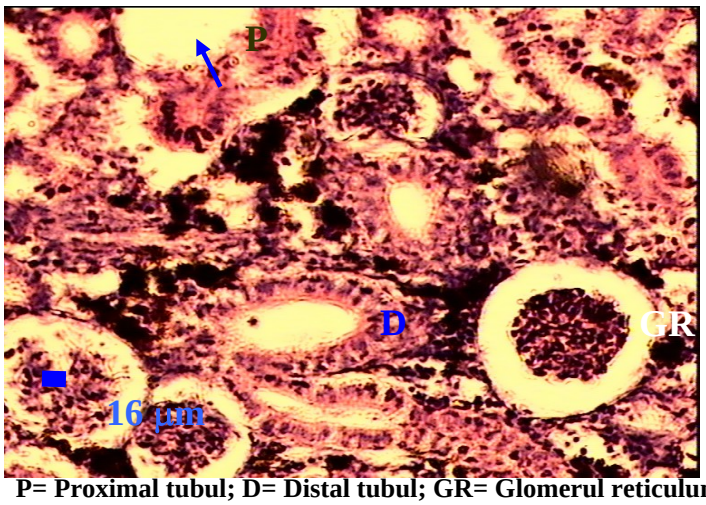
جدول ۷: غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان آزاد دریای حزر در گروه شاهد و پس از انتقال به عنوان شده است.Mean ± SDارقام بصورت تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر).

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۶	۱۲	۲۴	۷۲	۱۶۸	۲۴۰
	آب دریای خزر	۱۱۴±۳/۹	۱۱۶/۷±۰/۹	۱۱۷/۷±۳/۲	۱۲۶/۳±۶/۹	۱۲۳/۷±۲/۸	۱۲۵±۱/۵	۱۲۵/۵±۴	۱۲۷±۱/۳
۵	آب ۷ در هزار	۱۱۴±۳/۹	۱۱۰ ±۱	۱۰۸/۳ ±۱/۷	۱۱۲±۳/۵	۱۱۴/۳ ±۱/۸	۱۱۳/۳±۱/۴	۱۱۵/۳ ±۱/۳	۱۱۵/۳±۱/۹
گرمی	آب شیرین	۱۱۴±۳/۹	۱۰۹/۳±۲/۳	۱۱۰/۳±۲	۱۱۰±۲/۷	۱۱۲ ±۳/۲	۱۱۳/۷±۳	۱۱۴/۳±۰/۴	۱۱۴/۷±۰/۷
	آب دریای خزر	a۱۱۴±۱/۵	ab۱۱۷/۳±۰/۹	ab۱۱۸/۷±۰/۳	ab۱۲۰/۷±۱/۴	cd۱۲۷/۷±۰/۹	cd۱۲۹/۳±۲/۴	c۱۳۰/۳±۱/۴	ab±۱ ۱۲۰
۱۰	آب ۷ در هزار	۱۱۴±۱/۵	۱۱۳ ±۵/۲	۱۱۲/۳ ±۷/۷	۱۱۰/۷±۲/۵	۱۱۰ ±۱/۷	۱۱۱/۷±۱/۸	۱۱۰/۷ ±۲/۴	۱۱۴/۳±۲/۹
گرمی	آب شیرین	۱۱۴±۱/۵	۱۱۱/۷±۵/۸	۱۱۱±۴/۶	۱۰۹/۳±۳/۱	۱۰۷/۳ ±۲/۳	۱۱۱±۱/۹	۱۱۲/۳±۰/۹	۱۱۱/۷±۱/۴
	آب دریای خزر	a۱۱۳/۷±۰/۶	ac۱۱۷±۱/۵	a۱۱۸±۰/۵۷	ac۱۲۲/۷±۱/۲	bc۱۲۲/۷±۱/۲	b۱۲۶/۷±۱/۸	b۱۲۸/۳±۱/۸	ac۱۱۹±۱/۲
۱۵	آب ۷ در هزار	a۱۱۳/۷±۰/۶	b۱۰۴ ±۲/۶	ab۱۰۷ ±۲/۶	ab۱۰۹±۰/۶	ab۱۱۰/۳ ±۲/۳	ab۴ ۱۱۱/۷±۰/	a۱۱۳/۷ ±۱/۷	a۱۱۵±۱/۷
گرمی	آب شیرین	۱۱۳/۷±۰/۶	۱۰۳/۷±۱/۲	۱۰۷/۳±۲/۲	۱۰۱/۷±۴/۶	۱۰۸ ±۰/۶	۱۰۶/۳±۶/۲	۱۱۲/۵±۲/۲	۱۰۲±۳
	آب دریای خزر	a۱۱۰/۳±۷/۳	ab۱۱۵/۷±۱/۴	ab۱۱۷±۱/۷	ab۱۱۸/۷±۰/۷	ab۱۲۱±۱/۷	b۱۲۶±۱/۵	ab۱۲۲/۵±۳/۸	ab۱۱۸/۵±۴/۲
۲۰	آب ۷ در هزار	۱۱۰/۳±۷/۳	۹۹/۷ ±۴/۶	۱۱۰ ±۳/۶	۱۰۲/۳±۶/۲	۱۱۲/۷ ±۲/۴	۱۱۲±۲/۱	۱۱۶/۳ ±۲/۴	۱۱۵/۳±۱/۲
گرمی	آب شیرین	۱۱۰/۳±۷/۳	۱۰۸±۱/۶	۱۰۲/۷±۱/۳	۱۰۳/۳±۸/۹	۱۱۰/۵ ±۰/۴	۱۱۱/۷±۲/۳	۱۰۱/۷±۹/۴	۱۱۰±۴/۷

در سطرهای حروفگذاری نشده اختلاف معنی دار بین میانگین ها موجود نیست. ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی- $p > ۰/۰۵$)

٦-۳- سنجش شاخص های مربوط به شبکه گلومرولی

واحد ترشحی ادرار (نفرون) شامل جسم مالپیگی، لوله‌های پروکسیمال، دیستال بوده که به لوله‌های جمع کننده و میزنای متصل می‌گردد. جسمک کلیه شامل گلومرول و کپسول است. در تصویر **۳**، نمایی از برش عرضی بافت کلیه بچه ماهیان آزاد خزری نشان داده شده که شبکه گلومرولی، لوله‌های دیستال و لوله‌های پروکسیمال به وضوح دیده می‌شوند. در رنگ آمیزی نمونه ها از روش ائوزین – هماتوکسیلین و آزان استفاده شده و در هر دو روش اجزاء مختلف نفرون به وضوح دیده می‌شود.



P= Proximal tubul; D= Distal tubul; GR= Glomerul reticulum

تصویر ۳: نمایی از برش عرضی بافت کلیه بچه ماهی آزاد دریای خزر با بزرگنمایی X۲۳/۲ (H&E)

شبکه گلومرولی از مویرگ‌های منشعب شده تشکیل یافته و در اطراف این کلاف مویرگی، کپسول بومن به خوبی دیده می‌شود. لوله خمیده نزدیک با حرف P نشان داده شده و دارای سلول‌های پوششی مکعبی مژه دار هستند. سلول‌های این بخش بزرگ، کروی یا بیضی شکل هستند. حفره داخلی آن دارای سطحی مضرسی یا برسی (ناصاف) است. لوله خمیده دور با حرف D مشخص شده و این بخش در مقایسه با لوله پروکسیمال دارای سلول‌های اپی تلیومی‌بیشتری است. حفره داخلی این لوله زیر میکروسکوپ نوری صاف دیده می‌شود. سلول‌های این قسمت در مقایسه با پروکسیمال کمتر رنگ می‌گیرند.

جدول ۸: نوسانات مساحت (Mean±SD) شبکه گلومرولی کلیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر پس از قرارگیری در تیمارهای شوری مختلف (به μm^2)

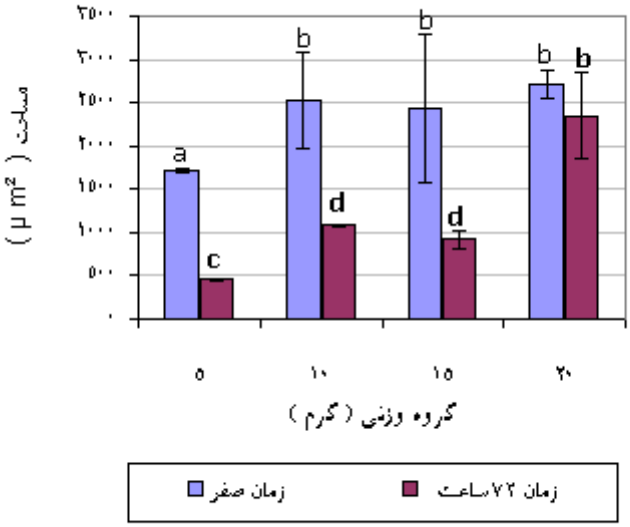
گروه های وزنی	۵ گرمی	۱۰ گرمی	۱۵ گرمی	۲۰ گرمی
آب شیرین	۱۷۲۰/۷ ± ۲۶/۶	۱۸۱۴/۸ ± ۹۰۱/۸	۲۰۲۲/۳ ±۷۱۸/۳	۲۴۸۴/۵ ± ۱۶۹
آب ۷ در هزار	۱۵۸۲/۳ ± ۵۵۳	۱۴۴۶/۷ ± ۳۰۷/۷	۱۶۵۲ ± ۷۱۵/۲	۲۱۶۶ ± ۴۸۱
آب دریای خزر	۱۳۹۴/۴ ± ۵۱۲/۴	۱۰۹۵ ±۳۸۷/۷	۱۴۷۷ ± ۵۳۹/۵	۱۷۱۱/۷± ۴۷۲
نرخ تغییرات پس از انتقال به آب ۷ در هزار (به درصد)	-۸	-۲۰/۲	-۱۸/۳	-۱۲/۸
نرخ تغییرات پس از انتقال به آب دریای خزر(به درصد)	-۱۹	-۳۹/۷	-۲۷	-۳۱/۱

همانطوریکه در جدول ۸ مشاهده می شود، پس از انتقال بچه ماهیان به محیط شورتر، بالاترین نرخ کاهش سطح شبکه گلومرولی به گروه های وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی اختصاص دارد و کاهش سطح شبکه گلومرولی بچه ماهیان ۵ گرمی در مقایسه با سایر گروهای وزنی کمتر است. در ضمن نرخ کاهش شاخص مورد نظر در محیط آب دریای خزر در مقایسه با آب ۷ در هزار بیشتر می باشد. بنابراین پس از قرارگیری بچه ماهی در محیط شورتر، آب از بدن ماهی (براثر فشار اسمزی) خارج می گردد و یکی از راه های جبران آب تلف شده کاهش تصفیه گلومرولی می باشد که این موضوع با کاهش سطح شبکه گلومرولی بوقوع می پیوندد.

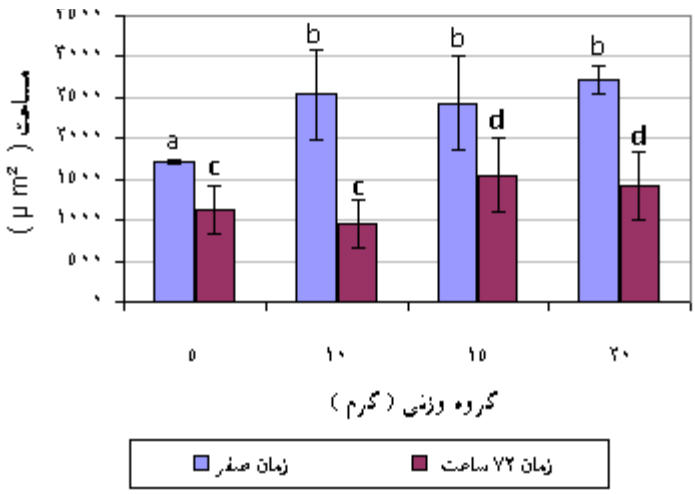
سطح شبکه گلومرولی بچه ماهیان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی پس از انتقال آن ها به تیمار ۷ در هزار نشان داد که این شاخص درگروه زمانی ۷۲ ساعته در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته که این کاهش از گروه وزنی پائین به طرف بالا بترتیب ۷۳/۶ درصد، ۵۷/۳ درصد، ۵۹ درصد و ۱۳/۳ درصد
می باشد. اختلاف معنی داری بین میانگین های سطح شبکه گلومرولی بچه ماهیان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرمی در زمان های مختلف وجود دارد ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۱).

با انتقال بچه ماهیان به آب دریای خزر، پس از ۷۲ ساعت از زمان ماندگاری تغییرات فاحشی در سطح شبکه گلومرولی رخ داد که این کاهش مربوط به تمامی گروه های وزنی می باشد. آنالیزتجزیه واریانس نیز موضع فوق را به اثبات می رساند ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۲).

از مجموع مطالب فوق چنین بر می آید که سطح شبکه گلومرولی تمامی گروه های وزنی در دو محیط ۷ در هزار و آب دریای خزر کاهش یافته اند و بااین عمل میزان تصفیه گلومرولی جهت تنظیم آب و املاح داخلی بدن ماهی تقلیل می یابد.



نمودار ۱: مقایسه مساحت شبکه گلومرولی (Mean±SD)کلیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر در زمان صفر و پس از ۷۲ ساعت ماندگاری در آب ۷ در هزار



نمودار ۲: مقایسه مساحت شبکه گلومرولی (Mean±SD) بچه ماهیان آزاد دریای خزر در زمان صفر و پس از ۷۲ ساعت قرار گیری در آب دریا ی خزر

۷-۳- هورمون کورتیزول

کورتیزول یکی از هورمون های اصلی دخیل در تنظیم اسمزی بوده که نقش مهمی را در سازش ماهیان استخوانی با شوری دریا ایفا می کند. هدف مطالعه حاضر، تعیین سطح کورتیزول پلاسمای خون طی سازگاری

با محیط Hyperosmotic بوده همچنین روند تغییرات این هورمون در تیمارهای شوری و گروه های وزنی بررسی گردید.

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

در تیمار ۷ در هزار، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی داری بین میانگین غلظت کورتیزول در فواصل زمانی مختلف وجود ندارد (sig= ۰/۲۱۱; F= ۱/۶۴۸).

سطح این هورمون در بچه ماهیان موجود در آب دریای خزر نشان داد که طی زمان های ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت نوسانات این هورمون اندک بوده ولی ۷۲ ساعت پس از انتقال، سطح هورمون افزایش یافته و تا ۲۴۰ ساعت در همان سطح افزایشی باقی مانده است. بر اساس جدول ۹ و نمودار ۳، تفاوت معنی داری بین غلظت این هورمون در زمان ۱۶۸ با زمان ۱۲ ساعت وجود دارد (p<۰/۰۵).

نتایج فوق حاکی از وجود استرس در بچه ماهیان ۵ گرمی بواسطه قرارگیری در محیط آب دریای خزر بوده است. بنابراین افزایش ناگهانی هورمون کورتیزول طی ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت پس از انتقال ناشی از استرس محیطی وارده بر بچه ماهی بوده در صورتیکه همین بچه ماهیان پس از قرارگیری در آب ۷ در هزار توانسته اند سطح کورتیزول را بخصوص طی زمان های انتهایی پائین تر از سطح گروه شاهد نگه دارند و افزایش هورمون طی ساعت های اولیه مکانیسم تنظیمی را نشان می دهد.

۲) بچه ماهیان ۱۰ گرمی

قبل از انتقال این گروه از بچه ماهیان به آب ۷ در هزار و آب دریای خزر، میزان کورتیزول نسبتا بالایی را در آب شیرین (گروه شاهد) داشته اند، که حاکی از آمادگی ماهی جهت مهاجرت به دریا و بقاء در محیط شورتر می باشد. در تیمار ۷ در هزار، میزان هورمون کورتیزول در دامنه ای بین ۹۰/۳- ۶۰ نانوگرم در میلی لیتر (زمان های مختلف) قرار داشته

که دامنه نوسان کمی‌دارد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین های هورمون کورتیزول گروه های زمانی مختلف موجود نیست (sig= ۰/۷۹۸; F= ۰/۵۳۱).

شاید بین فرآیندهای بیوسنتزی هورمون و میزان مصرف بوسیله اندام هدف هماهنگی وجود دارد. همچنین فشار اسمزی آب ۷ در هزار تفاوت کمتری را با فشار اسمزی محیط داخلی بدن ماهی نشان می دهد. در تیمار آب

دریای خزر، کورتیزول طی ساعت های اولیه (۶ ساعت) افزایش یافته که این افزایش نسبت به زمان صفر ۴/۷ درصد و نسبت به گروه ۳ ساعته ۶۶/۴ درصد می باشد. پس از این افزایش، سطح هورمون روند نزولی طی نموده که این روند نوسان داشته است ولی ۲۴۰ ساعت پس از انتقال، سطح این هورمون به ۵۰/۳ نانوگرم در میلی لیتر رسید که از سطح اولیه نیز پائین تر است. بر اساس آزمون توکی با سطح اطمینان ۹۵ درصد، میانگین غلظت کورتیزول در گروه های صفر و ۶ ساعته با گروه های ۷۲ و ۲۴۰ ساعته اختلاف معنی دار دارند ($\rho<0/05$).

نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بین سطح کورتیزول پلاسمای بچه ماهیان موجود در آب شیرین با سطح این شاخص در دو تیمار ۷ در هزار و آب دریای خزر تفاوت دیده می شود ($sig=0/023$)، ولی در بین دو تیمار ۷ در هزار و آب دریای خزر تفاوت دیده نشد.

۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی

پس از انتقال این گروه به آب ۷ در هزار، تفاوت معنی داری بین میانگین غلظت کورتیزول در ساعت های مختلف مشاهده نگردید ($sig=0/485 , F=0/97$).

در آب دریا، پس از یک افزایش ۲/۵ برابری در ۳ ساعت، میزان هورمون در سایر زمان ها (به استثناء ۱۶۸ ساعت) اختلافات فاحشی را نشان نداد. مقایسه میانگین های غلظت هورمون نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار بین زمان ۳ ساعته با زمان صفر است ($\rho<0/05$).

نتایج نشان داد که پس از انتقال بچه ماهیان از محیط آب شیرین به آب ۷ در هزار تغییرات کورتیزل در جهت سازگاری بوقوع پیوسته و افزایش هورمون ناشی از استرس نبوده است. در تیمار آب دریای خزر، میزان کورتیزول در همان ساعت های اولیه تغییرات فاحشی داشت که این موضوع جهت انجام عمل تنظیم اسمزی و فعال نمودن سلول های خاص دخیل در تبادلات یون های تک ظرفیتی انجام گرفته ولی پس از آن تولید بیوسنتزی هورمون با میزان مصرفش به تعادل رسیده و ماهی می تواند محیط لب شور را تحمل نماید.

بر اساس آزمون توکی، فقط بین سطوح کورتیزول در آب دریای خزر با آب شیرین اختلاف وجود دارد ($sig=0/001$).

٤) بچه ماهیان ۲۰ گرمی

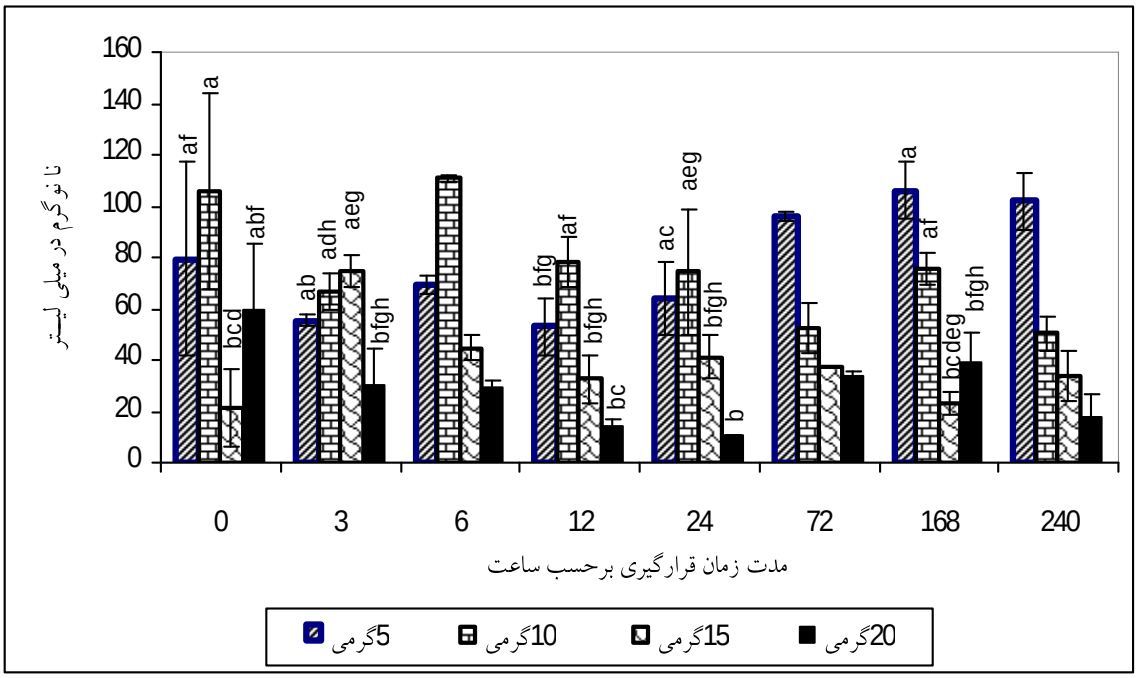
پس از قراردادن بچه ماهیان در محیط ۷ در هزار افزایشی در سطح هورمون کورتیزول در مدت زمان قرارگیری ۳ ساعته رخ داده (۱/۵ برابر) ولی پس از آن میزان هورمون در دامنه ای بین ۷۳/۵- ۲۷ نانوگرم در میلی لیتر قرار گرفته است. براساس آزمون توکی با سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری بین مقادیر این هورمون در گروه ۳ ساعته با گروه ها زمانی صفر، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت وجود دارد ($\rho<۰/۰۵$). در حقیقت مکانیسم تولید و افزایش هورمون کورتیزول جهت تنظیم اسمزی فعال گردیده (ساعت های اولیه) و پس از آن به حد تعادل رسیده است.

پس از قراردادن این گروه وزنی در آب دریا، تغییراتی در میزان کورتیزول بوقوع پیوست ولی دامنه تغییرات اندک بود (۳۹ – ۱۱ نانوگرم در میلی لیتر)، بطوریکه پس از ۱۰ روز از زمان انتقال، سطح کورتیزول به مقدار ۸/۴ ± ۱۸ نانوگرم در میلی لیتر رسید که نسبت به زمان صفر ۲/۳ برابر کاهش یافت. حداکثر میزان هورمون در زمان صفر مشاهده گردید. در این گروه وزنی، تولید بیوسنتزی با مصرفش هماهنگی داشته و استرس این تیمارها پائین بوده است. پس از انتقال این گروه به آب ۷ در هزار، تفاوت معنی داری بین میانگین غلظت کورتیزول در ساعت های مختلف مشاهده نگردید ($\rho>۰/۰۵$) (نمودار ۳).

براساس آزمون توکی فقط بین دو تیمار آب دریای خزر و آب شیرین از نظر غلظت کورتیزول تفاوت دیده می شود. مقایسه میانگین های غلظت کورتیزول در تیمارهای مختلف وزنی (به تفکیک تیمار شوری) در جدول ۹ ملاحظه می شود.

جدول ۹: مقایسه میانگین (آزمون Tukey) غلظت کورتیزول پلاسما (نانوگرم در میلی لیتر)

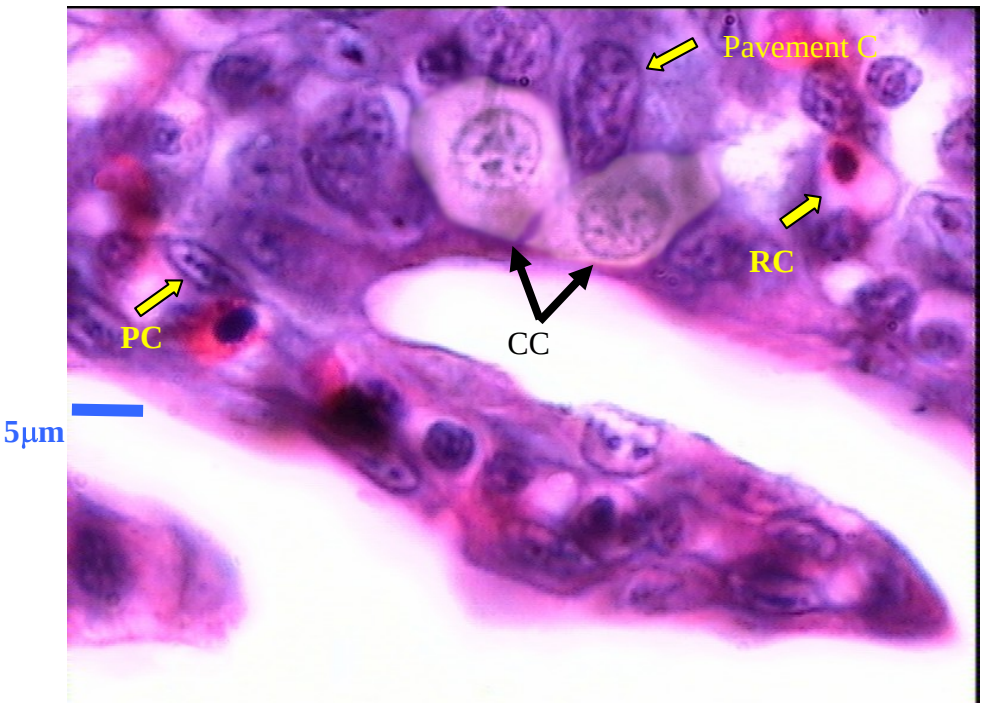
غلظت / تیمار	غلظت کورتیزول پلاسما درتیمار آب دریای خزر	غلظت کورتیزول پلاسما در تیمار ۷ در هزار
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان صفر	af۷۹/۵± ۳۸	abc۷۹/۵±۳۸
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۳ ساعت	ab۵۵/۵±۲/۱	ae۱۱۸±۶۱
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۱۲ ساعت	bfg۵۳±۱۱/۳	abc۶۹/۷±۲۱/۷
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۲۴ ساعت	acf۶۴±۱۴/۱	bde۵۹/۷±۲۴/۱
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۱۶۸ ساعت	a۱۰۶±۱۱/۳	bde۴۳/۷±۱۹
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان صفر	a۱۰۶±۳۸/۱	a۱۰۶±۳۸/۱
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۳ ساعت	adh۶۶/۷±۷/۴	bde۶۰±۱۵/۵
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۱۲ ساعت	af۷۸±۹/۹	abc۶۹/۷±۲۰
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۲۴ ساعت	aeg۷۴/۳±۲۵	abc۹۰/۳±۴۰/۴
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۱۶۸ ساعت	af۷۵/۶±۶/۴	bde۶۷±۴۰
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان صفر	bcd۲۱/۳±۱۵	bc۲۱/۳±۱۵
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۳ ساعت	aeg۷۴/۵±۶/۴	abc۸۸±۵۸
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۱۲ ساعت	bfgh۳۲/۵±۹/۲	abc۹۳/۷±۳/۵
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۲۴ ساعت	bfgh۴۱±۸/۵	abc۹۵/۷±۴۹
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۱۶۸ ساعت	bcdeg۲۳±۴/۲	abc۸۲/۷±۶۶
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان صفر	abf۶۰±۲۵/۲	be۶۰±۲۵/۲
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۳ ساعت	bfgh۳۰±۱۴/۱	a۱۵۰±۷۹
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۱۲ ساعت	bc۱۴±۲/۸	abc۷۳/۵±۹/۲
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۲۴ ساعت	b۱۱±۱/۴	bde۴۳±۱/۴
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۱۶۸ ساعت	bfgh۳۹±۱۱/۳	bde۵۱/۵±۹/۲



نمودار ۳: نوسانات میانگین هورمون کورتیزول پلاسما (Mean±SD) در زمان های مختلف قرارگیری بچه ماهیان در محیط آب دریای خزر

۸-۳- سلول کلرایدآبشش

در تصویر۴، نمایی از برش طولی بافت آبشش بچه ماهی آزاد خزری با بزرگنمایی X۱۱۶ نشان داده شده و در این تصویر انواع مختلفی از سلول ها همانند سلول‌های تنفسی، سلول‌های پشتیبان (پیلار)، سلول‌های سنگفرشی (Pavement cells)، گلبول‌های قرمز خون (Red cells) و سلول‌های کلراید دیده می‌شود. سلول‌های کلراید معمولا در پایه تیغه‌های ثانویه قرار داشته و در مقایسه با سایر سلول ها بزرگتر و روشن تر هستند. سلول‌های پهن سنگفرشی با لبه ای ظریف و به شکل اثر انگشت، خارجی ترین لایه بافت پوششی تیغه‌های اولیه را تشکیل می‌دهند. در بافت پوششی تیغه‌های ثانویه تعداد زیادی سلول‌های پشتیبان وجود دارد.



PC=سلول پیلار CC=سلول‌های کلراید RC= گلبول قرمز Pavement C= سلول سنگفرشی

تصویر ٤: نمایی از برش طولی بافت آبشش بچه ماهی آزاد دریای خزر با بزرگنمایی ١١٦ X (H & E)

۱-۸-۳- محیط سلول های کلراید

محیط سلول های کلراید آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی در تیمارهای مختلف شوری تفاوت فاحشی را نشان نداده، حتی در آب دریای خزر اندکی کاهش دیده می شود. نتیجه فوق، بر سازش ناپذیری سلول های کلراید این گروه وزنی در محیط شورتر دلالت دارد.

نتایج حاصل از سنجش شاخص فوق الذکر در مورد بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی نشان داد که اندازه سلول های کلراید در محیط شورتر افزایش یافته و این افزایش در محیط آب دریای خزر بیشتر می باشد. این موضوع توسعه این سلول ها را برای تبادلات بیشتر یون های تک ظرفیتی را به اثبات می رساند و با این روند بچه ماهی قادر به تحمل آب دریا خواهد بود.

اثرات متقابلی بین سه فاکتور وزن، شوری و محیط سلول های کراید آبششی وجود دارد (sig=۰,F=۴/۶۲۹) (جدول ۱۰).

جدول ۱۰: جدول تجزیه واریانس اثرات فاکتورهای وزن و شوری و زمان قرارگیری بر محیط سلو ل های کلراید آبششی بچه ماهیان آزاد دریای خزر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig
وزن * شوری	۱۱	۱۲۵۱/۱	۴/۹۱۵	۰
خطای آزمایشی	۲۷/۹	۲۵۴/۵		
وزن* شوری*ساعت	۲۶	۲۸۶/۷	۴/۶۲۹	۰
خطای آزمایشی	۴۶۶	۶۱/۹		

روند تغییرات محیط سلول های کلراید آبشش در زمان های مختلف قرار گیری بچه ماهیان در تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزاربه شرح زیر می‌باشد:

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

پس از انتقال بچه ماهیان از محیط آب شیرین به آب دریای خزر و آب ۷ در هزار تفاوت معنی داری از نظر متوسط محیط سلول های کلراید مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$).

۲) بچه ماهیان ۱۰ گرمی

میانگین حجم سلول های کلراید در دو تیمار ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمان صفر در مقایسه با زمان های ۱۲، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت تفاوت معنی داری را نشان داد (جدول ۱۱)

۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی

در تیمار ۷ در هزار، از زمان ۱۲ ساعت تغییرات محیط سلول های کلراید شروع شده و این تغییرات در ۷۲ و ۱۶۸ ساعت به حداکثر رسید (افزایش ۴۱ درصدی نسبت به زمان صفر). مقادیر میانگین این شاخص در زمان های ۱۲، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت با گروه زمان صفر اختلاف معنی دار داشت (جدول ۱۱)

٤) بچه ماهیان ۲۰ گرمی

مقایسه میانگین ها نشان دادکه محیط سلول ها در زمان های مختلف ماندگاری در آب ۷ در هزار با مقدار این شاخص در زمان صفر اختلاف دارند ($p<۰/۰۵$).

در آب دریای خزر میانگین این شاخص در زمان های ۱۲، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داد (جدول ۱۱).

جدول ۱۱: متوسط محیط سلول‌های کلراید آبشش (Mean±SD) بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (μ^3)

گروه وزنی	تیمار	ساعت ۰	ساعت ۱۲	ساعت ۷۲	ساعت ۱۶۸
۵ گرمی	آب دریای خزر	۳۲/۶±۳/۴	۳۴±۸/۳	۲۵/۹±۲/۳	۳۳/۵±۵/۲
	آب ۷ درهزار	۳۲/۶±۳/۴	۳۶±۳/۷	۳۴/۷±۹/۳	۳۵±۵/۴
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	a۳۴/۵±۴/۵	b۵۰/۵±۷/۷	b۴۱±۹	b۵۰±۷
	آب ۷ درهزار	a۳۴/۵±۴/۵	b۵۰/۳±۷/۹	b۴۵/۸±۹/۱	b۵۰/۳±۷/۹
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	a۳۸/۸±۵/۲	a۳۹/۶±۴/۲	b۴۸/۷±۵/۵	b۴۷±۶/۸
	آب ۷ درهزار	a۳۸/۸±۵/۲	b۴۹/۳±۹/۶	b۵۴/۶±۵/۱	b۵۳±۵
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	a۳۷/۵±۴/۲	b۵۱/۵±۱۴	b۴۶±۷/۲	b۴۷/۳±۶/۶
	آب ۷ درهزار	a۳۷/۵±۴/۲	b۴۶/۸±۸/۲	b۴۱/۴±۹/۸	b ۵۳/۵±۱۱

در سطرهای حروف گذاری نشده اختلاف معنی دار بین میانگین ها موجود نیست. تفاوت معنی دار داده ها در مقاطع زمانی مختلف به تفکیک گروه وزنی و سطح شوری ذکر شده است (آزمون توکی-$p<۰/۰۵$).

نتایج نشان داد که با انتقال بچه ماهیان ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی به محیط شورتر (۷ در هزار و آب دریای خزر)، سلول های کلراید رشد می کنند که نشان دهنده سازش پذیری سلول های فوق جهت افزایش حجم تبادلات یونی برای نیل به تنظیم املاح داخلی بدن می باشد، ولی در بچه ماهیان ۵ گرمی چنین تغییراتی مشاهده نشد. محیط سلول های کلراید در سه گروه وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در زمان ۱۶۸ ساعت اختلاف معنی دار ندارند. در آب ۷ در هزار، به دلیل اینکه بچه ماهی ۵ گرمی تبادلات یونی کمتری با محیط اطراف خود انجام می دهد، با همان اندازه سلولی قابلیت تنظیم یونی وبقاء در آب ۷ در هزار را دارد، البته اندکی افزایش در اندازه سلول ها دیده می شودکه این افزایش نسبت به سایر گروه های وزنی اندک است.

۲-۸-۳- روند تغییرات تعداد سلول های کلراید

میانگین تعداد سلول های کلراید آبششی (موجود در بین دوپایه آبششی) در تیمارهای مختلف وزنی و شوری و در زمان های مختلف قرارگیری به شرح زیر می‌باشد:

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی

تعداد سلول های کلراید آبششی در زمان صفر (گروه شاهد) ۱ عدد بوده ولی پس از انتقال به آب ۷ در هزار به ۲/۵ عدد در زمان ۱۶۸ ساعت رسید که این افزایش، معنی دار نبوده است.

افزایش تعداد سلول های کلراید در آب دریای خزر پس از ۷ روز از زمان انتقال جزئی بوده است (p>۰/۰۵) (جدول ۱۲).

۲) بچه ماهیان ۱۰ گرمی

با انتقال بچه ماهیان به آب ۷ در هزار تفاوت معنی داری در تعداد سلول ها در مقایسه با زمان صفر مشاهده نگردید. در آب دریای خزر، پس از ۱۶۸ ساعت از زمان آزمایش افزایش معنی داری در مقایسه با زمان صفر مشاهده شد(جدول ۱۲).

نتایج فوق بیانگر توسعه کمی سلول های کلراید در محیط شورتر و حتی قبل از قرارگیری می باشد، بطوریکه ماهی با این روند تغییر فیزیولوژیکی خود را جهت رویارویی با محیط شورتر آماده نموده تا از این طریق بتواند یون های تک ظرفیتی بیشتری را جهت تعادل املاح داخلی بدنش دفع نماید.

۳) بچه ماهیان ۱۵ گرمی

تعداد سلول های کلراید آبششی موجود در بین دو پایه آبششی در زمان صفر ۳ عدد بوده و پس از ۷ روز قرار گیری در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر دو برابر شده است و تفاوت معنی داری بین تعداد سلول ها در زمان های ۱۲، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت با زمان صفر مشاهده می شود (p<۰/۰۵) (جدول ۱۲). این افزایش حاکی از توسعه و تکامل بافت آبشش جهت رویارویی با محیط شورتر می باشد تا تبادلات یونی تقویت شده، سطح املاح بدن تنظیم گردد.

٤) بچه ماهیان ۲۰ گرمی

در تیمارهای ۷ در هزار و آب دریای خزر، تفاوت معنی داری بین تعداد سلول ها در زمان های ۱۲، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت با زمان صفر مشاهده می شود (p<۰/۰۵). این افزایش حاکی از تکامل بافت آبشش در مواجهه با محیط شورتر می باشد (جدول ۱۲).

جدول ۱۲: متوسط تعداد سلول‌های کلراید آبشش (بین دو لاملای آبششی) (Mean±SD) بچه ماهیان آزاد دریای خزر در گروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری

گروه وزنی	تیمار	ساعت صفر	ساعت۱۲	ساعت۷۲	ساعت۱۶۸
۵ گرمی	آب دریای خزر	۱/۵±۰/۵	۲±۰/۳	۲±۰/۴	۱/۴±۰/۳
	آب ۷ درهزار	۱/۵±۰/۵	۲/۴±۰/۶	۲/۵±۰/۴	۲/۵±۰/۲
۱۰ گرمی	آب دریای خزر	a۴/۵±۰/۵۷	ab۶±۰/۸	ab۶±۰/۸	bv±۰/۵
	آب ۷ درهزار	۴/۵±۰/۵۷	۶±۰/۶	۵/۲۵±۰/۹۵	۶±۰/۳
۱۵ گرمی	آب دریای خزر	a۳±۱	bv±۰/۱	b۶±۰/۶	b۶±۰/۷
	آب ۷ درهزار	a۳±۱	b۶±۰/۷	b۵±۰/۵۷	b۶±۰/۶
۲۰ گرمی	آب دریای خزر	a۳±۰/۶	bv±۰/۷	bv±۰/۶	bv±۰/۸
	آب ۷ درهزار	a۳±۰/۶	b۶±۰/۵	b۶±۰/۵۷	b۶±۱

در سطرهای حروف گذاری نشده اختلاف معنی دار بین میانگین ها موجود نیست. ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند. تفاوت معنی دار داده ها در مقاطع زمانی مختلف به تفکیک گروه وزنی و سطح شوری ذکر شده است (آزمون توکی- $p<۰/۰۵$).

نتایج شمارش سلول های کلراید آبشش در تیمارها به شرح جدول ۱۳ می باشد:

جدول ۱۳: جدول مقایسه میانگین (آزمون Tukey) تعداد سلول‌های کلراید آبشش (بین دو لاملای آبششی) بچه ماهیان آزاد خزر در گروه شاهد (زمان صفر) و ۱۶۸ ساعت پس از شروع آزمایش

ارقام بر حسب Mean±SD نوشته شده است.

سطح شوری / تیمار	آب دریای خزر	آب ۷ در هزار
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان صفر	b۱/۵±۰/۵	a۱/۵±۰/۵
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۱۶۸ساعت	b۱/۴±۰/۳	a۲/۵±۰/۲
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان صفر	cd۴/۵±۰/۵۷	bc۴/۵±۰/۵۷
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۱۶۸ساعت	av±۰/۵	b۶±۰/۳
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان صفر	bc۳±۱	ac۳±۱
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۱۶۸ساعت	ad۶±۰/۷	b۶±۰/۶
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان صفر	bc۳±۰/۶	ac۳±۰/۶
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۱۶۸ساعت	av±۰/۸	b۶±۱

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی- $p>۰/۰۵$)

۹-۳- میزان فعالیت آنزیم Na+,K+,-ATPase

براساس آزمون توکی با سطح احتمال ۵ درصد، میانگین میزان فعالیت آنزیم بافت آبشش بچه ماهی ۵ گرمی در زمان ۳ ساعته با گروه های ۱۵ و ۲۰ گرمی تفاوت معنی دار داشته ولی بین گروه های ۵ و ۱۰ گرمی تفاوت معنی داری در زمان ۳ ساعت دیده نشد (جدول ۱۴).

جدول ١٤: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم Na^{+},K^{+}– ATPase بافت آبشش بچه ماهیان آزاد خزری در گروه شاهد (زمان صفر) و پس از قرارگیری در تیمار آب دریای خزر.

ارقام بر حسب Mean±SD نوشته شده است.

تیمار	میزان فعالیت آنزیم (µmol P/mg protein/h)
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان صفر	ceg۴/۳±۰/۹
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۳ ساعت	ceg۴/۴±۲/۲
بچه ماهیان ۵ گرمی- زمان ۷۲ ساعت	ceg۶/۱±۱/۵۶
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان صفر	be۹/۲±۴/۳
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۳ ساعت	ceg۷/۴±۰/۶۴
بچه ماهیان ۱۰ گرمی- زمان ۷۲ ساعت	bdg۹/۲±۱/۳
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان صفر	ceg۵/۲±۱/۷۴
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۳ ساعت	b۱۳/۴±۰/۷
بچه ماهیان ۱۵ گرمی- زمان ۷۲ ساعت	ceg۶/۴±۱/۹۵
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان صفر	cd۳/۹۴±۲/۷
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۳ ساعت	a۲۲±۳/۴
بچه ماهیان ۲۰ گرمی- زمان ۷۲ ساعت	ceg۴/۶±۱/۳

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی-$p > ۰/۰۵$)

٤- بحث

یکی از راههای افزایش ضریب بقای بچه ماهیان بخصوص در مورد گونه های آزاد ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیک می باشد. در میان عوامل فیزیولوژیک، تنظیم اسمزی از نقش و اهمیت ویژه ای برخوردار است.

در این تحقیق پاسخ‌های فیزیولوژیک بچه ماهیان آزاد خزر به افزایش شوری محیط در چهار گروه وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی‌مطالعه شد. پاسخهای بررسی شده شامل تغییرات اسمولاریته پلاسما، تغییر غلظت یونهای اصلی خون، سطح هورمون کورتیزول، تغییرات بافتی آبشش و کلیه بود، که هر یک نشان دهنده عملکرد یک یا چند دستگاه بدن در معارضه با شوری است.

٤-١- روند بررسی زیست سنجی

زیست سنجی وزن بچه ماهیان در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰، بصورت کلی و در تیمارهای شوری، و اختلاف معنی دار مشاهده شده در مقایسه میانگین های نمونه های هر گروه وزنی ($p<۰/۰۵$) نشان داد؛ که افراد نمونه گیری شده قابل انتساب به گروه وزنی مربوطه بوده و تفکیک گروهها بدرستی انجام شده است.

٤-٢- روند بررسی تلفات بچه ماهیان

در آمار تلفات بچه ماهیان قرار گرفته در تیمارهای سه سطح شوری حدود صفر (آب شیرین)، ۷ در هزار و شوری دریای خزر (حدود ۱۱/۵ در هزار)، از ابتدا تا انتهای دوره تحقیق در شوری ۷ در هزار تلفاتی مشاهده نشد. تلفات در ماهیان ۵ گرمی منحصرا در تیمار آب دریا ثبت شد که می تواند به ناتوانی این گروه وزنی در تنظیم اسمزی مربوط باشد. فراوانی تجمعی بچه ماهیان تلف شده در گروههای وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در آب شیرین و آب دریای خزر ضمن آنکه نسبتا کم و قابل اغماض است، بواسطه بیشتر بودن در تیمارهای آب شیرین نشان دهنده عدم دخالت شوری در مرگ و میر بچه ماهیان می باشد. آزمون مقاومت به آب دریا برای تعیین زمان رهاسازی گونه های آزاد ماهیان مفید بوده و پیش بینی می شود که مشخص نمودن درجه تنظیم اسمزی دریایی برای تعیین زمان دقیق ورود به آب دریا مفید باشد که با فاکتورهایی همچون گونه، محل و اندازه اسمولت وابسته است (Bern and Nishioka, 1993).

۳-٤- روند بررسی فشار اسمزی

با مشاهده نتایج سنجش فشار اسمزی در گروههای وزنی در آب شیرین و دو سطح شوری ۷ در هزار و آب خزر با شوری ۱۱/۵-۱۱ در هزار، می‌توان دو نوع تأثیر را بر بچه ماهیان تفکیک نمود. اول، اثر قرارگیری شرایط آزمایش که با استرسهای دستکاری، تعقیب و گریز و افزایش شوری ناگهانی همراه بوده و در این دوره عوامل داخلی ماهی اثر غالب بر اسمولاریته پلاسمای ماهی دارند. این اثر در گروه‌های وزنی ۲۰ و ۱۰ گرمی‌مشاهده می‌گردد. پس از پایان یافتن دوره چند ساعتی استرس، گرایش به افزایش اسمولاریته در بچه ماهیان قرار گرفته در آب خزر آغاز شده و این روند تا بیش از سه روز ادامه می‌یابد. این روند مورد انتظار بوده و در همه گروههای وزنی دیده می‌شود. سنجش فشار اسمزی پس از یک هفته و ده روز بیانگر فعالیت مکانیزمهای تنظیمی‌در گروههای ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی‌است. افزایش مجدد و قابل ملاحظه اسمولاریته در گروه ۵ گرمی می‌تواند بیانگر ناتوانی این گروه در مطابقت با شوری خزر باشد. بهبود توانایی تنظیم اسمزی و بقاء در آب دریا با بالا رفتن سن واندازه بدن ماهی درمطالعات بسیاری مورد تأکید قرارگرفته است

. (McCormick & Naiman, 1984; McCormick & Saunder,1987)

در شوری ۷ در هزار تغییرات فشار اسمزی در تمام گروهها بیش از آنکه متأثر از شوری محیط باشد، از استرس و شرایط محیطی اثر پذیرفته است و از نظر اسمولاریته به شرایط داخلی بچه ماهیان بسیار نزدیک بوده، بنابراین فقدان تأثیر بارز این شوری و متعادل شدن اسمولاریته همه گروهها پس از ۱۰ روز قابل توجیه است. در جمع بندی داده‌های اسمومتری در روز دهمِ تیمارها، می‌توان قابلیت تنظیم اسمولاریته بچه ماهیان ۲۰، ۱۵ و ۱۰ گرمی‌در شوری دریای خزر و قابلیت تنظیم همه گروههای وزنی در شوری ۷ در هزار را تأیید نمود.

تغییرات فشار اسمزی سرم خون ماهیان در معارضه با شوریهای دریایی طی دو مرحله رخ می دهد. در مرحله نخست، اسمولاریته سرم خون در روزهای ابتدایی (پس از انتقال به آب دریا) افزایش می یابد تا تقریبا با محیط دریا هم غلظت شود. در مرحله دوم اسمولاریته سرم خون مجددا طی چند روز به سطح نزدیک به اسمولاریته محیط زیست ماهی در آب شیرین کاهش می یابد (Krayushkina *et al*, 1999). طول بدن ماهی بر توانایی تنظیم اسمزی و یونی آنها هم در محیط آب شیرین و هم در دریا اثر مثبت دارد (Conte and Wagner, 1965; Halvorsen *et al*., 1993)، که این توانایی بطور عمده با سطح Na^+ و Cl^- بیان می شود (Jackson, 1981). سن

بعنوان یکی از شاخصهای زیستی اهمیت کمتری در مقایسه با طول و وزن ماهی در تکامل سیستم تنظیم اسمزی و یونی دارد (Conte and Wagner 1965; McCormick and Naiman, 1984).

٤-٤- روند بررسی یون ها

در بررسی روند تغییرات یونهای سدیم و کلر که اجزای اصلی ایجاد کننده فشار اسمزی هستند، میتوان برداشت مشابهی با وضعیت تغییرات اسمولاریته بدست آورد. در مرحله اول که حدود یک روز یا بیشتر ادامه دارد، اثر قرارگیری در شرایط استرسی آزمایش مشاهده می‌شود. چنین نوساناتی را در اغلب داده ها که نشان دهنده کاهش غلظت یونها در ساعات اول است می‌توان مشاهده نمود. پس از پایان یافتن دوره چند ساعتی استرس، گرایش به افزایش غلظت یونها در بچه ماهیان قرار گرفته در آب خزر آغاز شده و این روند تا بیش از ۷۲ ساعت ادامه می‌یابد، این روند مورد انتظار بوده و در همه گروههای وزنی دیده می‌شود.

بر اساس مطالعات McComick و Naiman (۱۹۸۴)، در جریان تغییر شوری محیط، طی ۴ روز اول بیشترین تغییرات در مقادیر یون های پلاسما و فشار اسمزی ایجاد می گردد. بنا براین، اندازه گیری متغیرهای پلاسمای خون ماهیان پس از ۴ روز در آب دریا بعنوان یک شاخص توانایی تنظیم در محیط غلیظ (Hypoosmoregulation) مطرح است.

یونهای کلر و سدیم به عنوان عناصر مهمتر بواسطه سهم بیشتر در فشار اسمزی ماهی، در گروههای وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی پس از قرار گرفتن در آب دریا افزایش یافته پس از آن مجددا کم شده و به مقادیر زمان صفر نزدیک میشوند ($p>۰/۰۵$) ، در حالیکه در گروه ۵ گرمی روند غلظت یونها افزایشی بوده و از مقادیر اولیه فاصله می گیرد. در شوری ۷ در هزار تغییرات یونها در تمام گروهها همانند فشار اسمزی بیش از آنکه متأثر از شوری محیط باشند، از استرس و شرایط محیطی اثر پذیرفته است. بواسطه نزدیکی غلظت یونها در این میزان شوری با مقدار یونهای خون بچه ماهیان، فقدان تأثیر بارز شوری ۷ در هزار و متعادل شدن ترکیب یونی گروهها پس از ۱۰ روز را می توان توجیه نمود.

بر اساس مطالعات Krayushkina (۲۰۰۵)، گونه هایی که پس از انتقال از آب شیرین به آب لب شور، غلظت یون ها و اسمولاریته پلاسمای خون شان به پایین تر از مقادیر این پارامترها در محیط برسد قادرند از حالت تنظیمی Hyperosmotic به حالت Hypoosmotic در آیند.

یافته های تحقیق بیانگر توسعه وضعیت Hypoosmotic تمامی گروههای وزنی در تیمار ۷ در هزار و گروه های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی در تیمار دریای خزر بوده و بچه ماهیان ۵ گرمی فاقد این توانایی در محیط دریایی هستند.

McCormick و Naiman (۱۹۸۴) بر توسعه بچه آزاد ماهیان جهت بهره برداری بیشتر از دریا تأکید دارد و این موضوع را به دلیل توانایی تنظیم اسمزی بچه ماهیان توسعه یافته تر ضروری می داند. بنابراین رشد سریع تر و سازگاری زودتر بچه ماهیان به آب دریا به لحاظ اقتصادی با اهمیت بوده و در Sea ranching و پرورش دریایی می تواند مفید واقع شود.

٥-٤- فعالیت گلومرولی

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه در بچه آزاد ماهیان دریای خزر نشان داد که این شاخص در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی طی سه روز از زمان انتقال به آب ۷ در هزار و آب دریای خزر کاهش می یابد. طبق نتایج، کاهش سطح شبکه گلومرولی در آب دریای خزر بیش از کاهش این سطح در آب ۷ در هزار است. این کاهش سطح، حاکی از کاهش تصفیه آب جهت تنظیم آب و املاح داخلی بدن ماهی می باشد. بیشترین کاهش سطح شبکه گلومرولی همزمان با تغییر شوری محیط در بچه ماهیان ۱۰ گرمی بوقوع پیوسته، ضمن آنکه کاهش سطح گلومرول در گروههای وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی (در آب دریای خزر) نیز قابل توجه است.

Holmes و Stainer (۱۹۶۶) دریافتند که کاهش حدود ۵۰ درصدی در میزان ادرار بچه ماهیان رهسپار شونده به دریا در مورد گونه قزل آلای رنگین کمان رخ داده و این موضوع کاهش ۵۰ درصدی میزان فیلتراسیون گلومرولی را در این گونه بچه ماهیان نشان می دهد. این رخداد تغییر اساسی در ساختار کلیه در خلال دوره تبدیل بچه ماهی پار به بچه ماهی اسمولت را پیش از انجام مهاجرت به دریا بیان می دارد که زمینه ساز سازگاری مناسب در دریاست.

علاوه بر مکانیزم کلیویِ فیلتراسیون گلومرولی، بازجذب لوله ای نیز در تنظیم کلیوی فشار اسمزی نقش دارد. در ماهیان آب شیرین میزان فیلتراسیون گلومرولی بالا و بازجذب لوله ای پایین بوده در حالی که در دریا

میزان فیلتراسیون گلومرولی به شکل قابل ملاحظه ای کاهش یافته و میزان بازجذب لوله ای افزایش می یابد (Hoar, 1988).

٦-٤- روند بررسی هورمون کورتیزول

سیستم اندوکرینی، کنترل زمان تغییرات اسمولت شدن و تنظیم اسمزی را بعهده دارد و بعنوان حلقه بین نوسانات محیطی و رویدادهای فیزیولوژیک عمل می‌کند (Bisbal and Specker, 1991). دخالت هورمون کورتیزول، هورمون رشد، IGF-I و هورمونهای تیروئید در تنظیم اسمزی آزاد ماهیان به اثبات رسیده است (Richman and Zaugg., 1987; Lebel & Leloup, 1992). در این میان کورتیزول بواسطه اهمیت آن مورد توجه بیشتری است. کورتیزول مسئول افزایش فعالیت آنزیم Na^+, K^+ - ATPase در آبشش ماهی آزاد بوده و تزریق آن می تواند اندازه و تعداد سلولهای کلراید آزاد ماهیان را افزایش دهد (McCormick, 2001). افزایش این هورمون در ماهی آزاد کوهو با افزایش سطح آنزیم Na^+, K^+ - ATPase، تعداد سلول های کلراید و افزایش تیروکسین پلاسما همراه بوده است (McCormick and Bern, 1989; Boeuf, 1993).

اندازه گیری کورتیزول در تیمار ۷ در هزار این تحقیق نشان داد که غلظت آن در مورد گروه های وزنی ۵ و ۲۰ گرمی دارای اوجی در ساعت های اولیه قرارگیری (۳ ساعت) بوده که این افزایش در گروه ۵ گرمی فاقد اختلاف معنی دار و در گروه ۲۰ گرمی نسبت به سایر زمان ها بجز زمان ۶ و۱۲ ساعت معنی دار می باشد ($p<۰/۰۵$). افزایش کورتیزول در ساعت های ابتدایی قرارگیری حاکی از توسعه مکانیسم هورمونی جهت تنظیم اسمزی می باشد. در بچه ماهیان ۱۰ گرمی بالا بودن غلظت کورتیزول در زمان صفر مشاهده می شود که می توان آنرا دلیلی بر پیش سازگاری این گروه وزنی دانست. در گروه ۱۵ گرمی افزایشی در میزان کورتیزول رخ داده ولی سطح این تغییرات معنی دار نیست ($p>۰/۰۵$). وجود غلظت های متعادل هورمون در این گروه وزنی نشان دهنده تعادل سطح تولید و مصرف است، با در نظر گرفتن اینکه سطح کورتیزول از یک سو با تولید آن افزایش و از سوی دیگر با مصرف در بافتهای هدف کاهش می یابد و تعامل این دو فرایند تعیین کننده سطح پلاسمایی آنست (Nichols and Weisbart, 1985).

با انتقال بچه ماهیان ۵ گرمی از آب شیرین به آب دریای خزر، تا ۱۲ ساعت روند کاهشی کورتیزول و پس از آن روند افزایشی دیده شد. افزایش در ۱۶۸ و ۲۴۰ ساعت نسبت به ۱۲ ساعت معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). به

نظر می رسد افزایش کورتیزول در زمانهای انتهایی آزمایش در اثر بروز استرس به محیط آب لب شور بوقوع پیوسته است.

عوامل مختلف و متعددی بر سطح پلاسمایی کورتیزول اثرگذار هستند، که انواع استرسها و شرایط نامطلوب محیطی از آن جمله اند، بنابراین گاهی نوسانات مقدار این هورمون در خون به تنهایی نمی تواند ارتباط مستقیم و قابل انتظاری با تغییرات فشار اسمزی برقرار نماید (Avella *et al*, 1990).

در بچه ماهیان ۱۰ گرمی همانند تیمار ۷ در هزار بالا بودن غلظت کورتیزول در زمان صفر مشاهده می شود که سطح تغییرات در زمان صفر با زمان‌های ۷۲ و ۲۴۰ ساعت معنی دار است. به نظر می رسد این گروه وزنی به تازگی مرحله پار را پشت سر گذاشته و در نتیجه روند تکاملی مکانیسم تنظیم اسمزی به تازگی شکل گرفته و افزایشی در همان ساعتهای اولیه بوقوع پیوسته و سپس در حد متعادلی باقی مانده است. سطح تغییرات کورتیزول پلاسمای خون بچه ماهیان ۲۰ گرمی در فواصل زمانی مختلف معنی دار نیست ($p>۰/۰۵$) و بیوسنتز هورمون با میزان مصرفش به حد تعادل رسیده است. در چنین شرایطی ماهی با توسعه دادن اندام های دخیل در تنظیم اسمزی می‌تواند در دفع یون ها موفق عمل نماید. در گروه ۱۵ گرمی، افزایشی در سطح کورتیزول پلاسما در زمان ۳ ساعته مشاهده شد که این افزایش فقط نسبت به زمان صفر معنی دار است ($p<۰/۰۵$). پس از این زمان، مقدار کورتیزول به سطح اولیه نزدیک شده ($p>۰/۰۵$) و نشاندهنده وجود مکانیسم خاص جهت انجام عمل تنظیم اسمزی می باشد.

در ضمن نبود اوج مشخص از کورتیزول درگروه ۲۰ گرمی در تیمار دریای خزر (محدوده گروه های زمانی آزمایش شده)، ممکن است به دلیل ارتقاء سطح کورتیزول قبل از زمان ۳ ساعت باشد. براساس مطالعات Marshall و همکاران (۱۹۹۹)، اوج کورتیزول بسرعت یعنی تقریبا در عرض ۱ ساعت از زمان انتقال دیده می شود و در ۳ و ۸ ساعت پس از انتقال به سطح اولیه برمی گردد. یافته های Redding و همکاران (۱۹۸۴) نشان داد که تزریق کورتیزول به ماهی Coho salmon در اوایل فصل بهار بطور معنی داری سطح سدیم را پس از ۲ روز قرارگیری در آب دریا کاهش داده است. فقدان اثرات واضح کورتیزول بر بچه ماهیان مرحله قبل از اسمولت (مرحله پار یا وضعیت برگشت اسمولت به پار در صورت نگهداری بیشتر اسمولت در آب شیرین) را نشان میدهد.

کورتیزول اثراتی را بر بافت هایی چون آبشش، روده، کلیه، مثانه و عضلات داشته و بر مبادله آب و الکترولیت های خون و ادرار تأثیر دارد. بطور کلی هورمون کورتیزول، برای دفع الکترولیت ها در محیط های Hyperosmotic فعالیت داشته و در هموستازی اسمزی شرکت می کند.

۷-٤- سلول‌های کلراید آبشش

سلولهای کلراید آبشش ماهیان دارای نقش اساسی در تنظیم یونی آنها هستند. این سلولها در ماهیان آب شیرین کوچکتر، و در محیط آب دریا بزرگتر دیده می شوند. پس از انتقال به محیط آب دریا، از حالت نوع آب شیرین به سلولهای کلراید نوع آب دریا تغییر شکل می دهند. بطوریکه از وظیفه جذب یون به وظیفه ترشح یون تغییر حالت می دهند(Hiroi *et al*., 1999). طبق یافته های Maetz (۱۹۷۴) در برخی ماهیان استخوانی تعداد سلولهای کلراید نسبتا سریع افزایش یافته، و نتیجه آن را طی سه روز اول سازگاری به آب دریا می توان دید. Boeuf (۱۹۹۳) بیان داشته که هنگام تبدیل بچه ماهی از مرحله پار به مرحله اسمولت، افزایش تعداد و اندازه سلولهای کلراید آبششی جهت آماده سازی اولیه برای زندگی در دریا لازم است.

بررسی تعداد و تغییرات تعداد سلولهای کلراید در بین تیغه های ثانویه آبشش در این تحقیق، افزایش تعداد این سلولها پس از یک هفته در تیمار آب دریای خزر و آب ۷ در هزار برای گروه وزنی ۵ گرمی از ۱/۵ تا ۲/۵ عدد و فاقد معنی آماری بود. نبودن تغییر در تعداد این سلولها در این گروه وزنی بیانگر عدم تطابق کافی در برابر شوری است. Thomson و Sargent در سال ۱۹۷۷ دریافتند که افزایش تعداد سلولهای کلراید تیغه های اولیه آبششی در مار ماهیان زرد و نقره ای سازگار شده به آب دریا، منعکس کننده سازگاری به افزایش شوری محیط خارج است. در تیمار ۷ در هزار گروه وزنی ۱۰ گرمی نیز تفاوت یاد شده معنی دار نبود ($p>۰/۰۵$). در سایر تیمارها شامل آب دریای خزر گروههای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی و ۷ در هزار گروههای ۱۵ و ۲۰ گرمی افزایش در تعداد سلولهای کلراید از روز صفر تا پایان یک هفته مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). این تعداد در تیمارهای یاد شده از ۳ تا ۷ عدد متغیر بود.

طبق نتایج این تحقیق تعداد سلولهای کلراید آبشش بچه ماهیان ۱۰ گرمی در زمان صفر (گروه شاهد) نسبت به گروه‌های وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی بیشتر بود که احتمالاً نشان دهنده تغییر شکل این گروه وزنی از مرحله

پار به اسمولت بوده در صورتیکه دو گروه وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی این تغییر شکل را به اتمام رسانده و در مرحله اسمولت بسر می‌برند.

اندازه سلولهای کلراید آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی در مدت زمان های مختلف قرار گیری در آب ۷ در هزار و آب دریا اختلاف معنی داری را با زمان صفر نشان نمی دهند و تقریباً در یک سطح قرار دارند ($p>۰/۰۵$). ولی این پارامتر در مورد گروه های وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی با افزایش همراه بوده است که افزایش اندازه سلولها در مقایسه با زمان صفر اختلاف معنی داری نشان می دهد.

۸-٤- فعالیت آنزیم Na^+, K^+ - ATPase

پس از انتقال بچه ماهیان به آب دریا، آنزیم Na+, K+ - ATPase دارای نقش کلیدی در دفع کلر و سدیم از سلولهای کلراید آبشش ماهیان استخوانی است (Payan *et al.*, 1984). بعنوان مثال، در ماهی آزاد اقیانوس اطلس، فراوانی و اندازه سلولهای کلراید توأم با بالا رفتن فعالیت Na+, K+ - ATPase افزایش می یابد (Langdon *et al.*, 1984).

Uchida و همکاران (۱۹۹۶) دریافتند که پس از انتقال بچه ماهیان چام (*Oncorhynchus keta*) به آب دریا، افزایشی در فعالیت Na+,K+_ ATPase آبشش رخ داد. علاوه بر این اجتماعات زیاد سلولهای کلراید رشته های آبششی دیده شد. در نتیجه دو موضوع مذکور باعث افزایش توانایی بچه ماهیان در تنظیم فشار اسمزی می گردد.

مدلی برای بیان مکانیسم دفع NaCl بوسیله سلولهای کلراید بیان شده که در آن سه انتقال دهنده یونی شامل؛ Na+, K+_ ATPase، Na+, K+ - 2Cl- و کانال Cl- نقش دارند (Silva *et al.*, 1977; Marshall, 1995).

در این تحقیق سطح فعالیت آنزیم Na+,K+_ ATPase در آبشش بطور غیرمستقیم از طریق سنجش مقدار فسفات غیر آلی (Pi) اندازه گیری شد. (Zaugg, 1982) به هنگام سازش بچه ماهیان با آب دریا، آنزیم Na+,K+_ ATPase (پمپ سدیم) موجود در اپیتلیوم آبشش، انرژی شیمیایی انتقال یونها را تأمین نموده که دفع یا جذب یونهای ضروری را هدایت می‌کنند (Evans *et al.*, 2002). فراوانی آنزیم Na+,K+_ ATPase در اپیتلیوم آبشش بسیاری از ماهیان یوری هالین همگام با تغییر شوری محیط، تغییر می کند و این نوسانات جهت سازگاری ماهی با محیط شورتر بوقوع می پیوندد (McCormick, 2001).

یافته های ما نشان داد که سطح فعالیت آنزیم Na^+, K^+ - ATPase آبشش بچه ماهیان در گروههای وزنی مورد آزمایش در ساعتهای اولیه قرار گیری در آب دریای خزر افزایش نشان داده و بعد از یک دوره رکود، مجددا پس از ۳ روز از زمان انتقال اندکی رشد مشاهده می گردد که حاکی از فعالیت این آنزیم جهت انجام عمل انتقال یون می باشد. این آنزیم پس از ۳ ساعت در آب دریا برای گروههای وزنی ۱۵ و ۲۰ گرمی بطور معنی داری ($p<۰/۰۵$) بترتیب ۲/۵ و ۵/۶ برابر افزایش یافته و بیانگر تأثیر افزایش اندازه در توانایی بیوشیمیایی آبشش بچه ماهیان است.

افزایش فعالیت آنزیم در آب شیرین، مکانیسم پیش سازگاری جهت رویارویی با محیط دریا به شمار می رود و در این مرحله بچه ماهیان از مرحله پار به اسمولت تبدیل می گردند (McCormick and Saunders, 1987; Staurnes *et al*., 1993). در گروه ۱۰ گرمی در زمان صفر (قبل از مقابله با آب خزر) سطح بالایی از آنزیم مشاهده شد که دارای اختلاف معنی دار با گروه وزنی ۲۰ گرمی بود ($p<۰/۰۵$). این وضعیت را می توان به تغییرات متابولیک و گذار به شرایط آمادگی برای مهاجرت نسبت داد (پار– اسمولت). در صورتیکه بچه ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی‌این مرحله را پشت سر گذاشته و در مرحله اسمولت هستند(جدول ۱۴).

در سازگاری آزاد ماهیان با آب دریا افزایشی در آنزیم Na^+, K^+ - ATPase مشاهده می‌شود که از برجسته ترین رویدادهای بیوشیمیایی طی اسمولت شدن می باشد (Folmar and Dickhoff, 1980).

در این تحقیق آبشش بچه ماهیان ۵ گرمی، سطح پایینی از فعالیت آنزیم فوق الذکر را نشان داد. همچنین طبق نتایج در همه گروههای وزنی میزان فعالیت آنزیم Na^+,K+_ ATPase بچه ماهیان موجود در آب دریا بیش از میزان فعالیت آنزیم فوق در آب ۷ در هزار بود

نتیجه گیری

جمع بندی نتایج مطالعه بقا، رشد، شاخصهای پلاسمایی، وضعیت سلولهای کلراید آبشش، وضعیت شبکه گلومرولی، سطح هورمون کورتیزول در گروههای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی‌ماهی آزاد در مواجهه با شوری نواحی ساحلی خزر حدود ۷ در هزار و آب دریای خزر نشان می‌دهد که شاخصهای یاد شده با قابلیتهای متفاوت، می‌توانند توان ماهی را برای تنظیم اسمزی ارزیابی کنند. بعلت دخالت عوامل متعدد در جابجایی این شاخصها برخی از آنها نتایج قابل انتظار بدست نمی‌دهند.

با در نظر گرفتن همه بخشهای تحقیق می‌توان آب با شوری ۷ در هزار را با ترکیب خزر برای بقا و رشد بچه ماهیان آزاد خزر از وزن ۵ گرم به بالا مناسب دانست.

در شرایط شوری دریای خزر ماهی آزاد از حدود ۱۰ گرم قابلیت رشد و بقا دارد و می‌تواند دستگاه‌های بدن را تنظیم نماید. افزایش اندازه در این جهت اثر مثبتی نشان می‌دهد. بنابراین رها سازی ماهی آزاد در وزن یاد شده و اندازه متناظر با آن امکان پذیر است.

آمادگی ماهی برای تنظیم فشار اسمزی یکی از عوامل مهم فیزیولوژیک در تعیین زمان مهاجرت یا رهاسازی محسوب می‌شود. در کنار آن، توجه به شرایط اکولوژیک و قابلیتهای رفتاری ماهی نیز ضروریست. بچه ماهی در دوره حضور در مصب یا ورود به دریا با گونه‌های ماهیان درنده و پرندگان ماهیخوار مواجه می‌شود و برای بقا در وضعیت جدید نیاز به اندازه و به تبع آن سرعت کافی، قابلیت استتار و سایر عوامل دارد. بنابراین احراز توانایی تنظیم هموستاتیک در رهاسازی شرط لازم ولی ناکافی است.

در صورت مطرح شده روشهای جدید حفاظت و افزایش ذخایر ماهی آزاد خزر مثل پرورش مقطعی یا کامل آن در قفس‌های دریایی می‌توان با بکارگیری نتایج این تحقیق می‌توان از دوره کارگاهی آنها کاسته و از حدود وزنی ۱۰ گرم بچه ماهیان را به دریا منتقل کرد.

با توجه به نتایج بدست آمده، اهداف این تحقیق شامل

۱) "معرفی اندازه مناسب بچه ماهی آزاد دریای خزر به منظور رهاسازی یا پرورش در محیط های دریایی" با مناسب دیدن گروههای وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی برای ورود به آب دریای خزر و

۲) "تعیین روند تغییرات هورمون کورتیزول، آبشش و کلیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر در جریان تغییر شوری محیط" با داده های بدست آمده و روشن شدن نسبی این روندها محقق شده اند.

پیشنهادها

الف) پیشنهادهای اجرایی

۱) بچه ماهیان ۵ گرمی توانایی تنظیم اسمزی مناسبی در محیط آب دریای خزر ندارند لذا پیشنهاد می شود از رهاسازی این گروه وزنی مطلقا خودداری شود.

۲) بچه ماهیان با وزن بالای ۱۰ گرم (ترجیحا ۱۵ و ۲۰ گرمی) قابلیت تحمل به آب دریا و توانایی تنظیم اسمزی دریایی را دارند. بنابراین پیشنهاد می‌شود کارگاه‌های تکثیر و پرورش، بچه ماهیان آزاد خزری را در این محدوده وزنی رهاسازی نمایند.

ب) پیشنهادهای پژوهشی

۱) مطالعه‌ای مشابه این تحقیق در مورد بچه ماهیان بالاتر از وزن ۲۰ گرم انجام گیرد تا توان تنظیم اسمزی این ماهیان نیز مشخص گردد.

۲) مطالعه ای پیرامون ضریب بازگشت شیلاتی ماهی آزاد دریای خزر پس از رهاسازی اوزان مختلف بعمل آید. پیشنهاد می‌شود در قالب طرحی بچه ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی‌مستقیما به داخل دریا رهاسازی گردند و موضوعاتی همچون درصد بقاء، نحوه تنظیم اسمزی و ضرائب رشد مورد بررسی قرار گیرند.

۳) پیشنهاد می شود مطالعه ای پیرامون فراوانی آنزیم Na+, K+ - ATPase و سلول های کلراید آبششی از طریق روش Immunocytochemistry انجام گیرد.

۴) جهت دستیابی به نتایج دقیق تر، در کنار مطالعات تنظیم اسمزی، مطالعات اکولوژیکی و رفتارشناسی ضروری است.

۵) با توجه به اینکه روند تکاملی شاخص‌های فیزیولوژیک ماهی آزاد منطبق بر تغییرات سطوح هورمونی است، پیشنهاد می‌شود ساختار اندوکرینولوژی این گونه در شرایط و مراحل مختلف رشد ونمو مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانم از جناب آقای دکتر ابطحی، دکتر محمود بهمنی و پروفسور کرایوشکینا به جهت پشتیبانی علمی‌و همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

از بذل توجه و همکاری معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران، اداره کل بازسازی ذخایر و کارکنان مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید باهنر کلاردشت بویژه آقایان مهندس پاشا، مهندس رضوانی و مهندس گلشاهی تشکر می کنم. از ریاست محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران، معاونین ایشان و پرسنل بخش آبزی پروری به پاس همکاری لازم تشکر می‌نمایم. از مدیریت محترم پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور، ***معاونین ایشان*** و همچنین ***از کارشناسان و پرسنل زحمتکش آن پژوهشکده*** بخصوص پرسنل ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی (واقع در ساحل غازیان) کمال تشکر و سپاس را دارم.

بر خود لازم می‌دانم از مدیریت محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری جناب آقای ***دکتر محمد پور کاظمی***و ***پرسنل فعال و زحمتکش انستیتو بخصوص پرسنل بخش فیزیولوژی جناب آقایان مهندس رضوان ا... کاظمی، مهندس علی حلاجیان، مهندس یوسفی، مهندس دژندیان و مهندس پوردهقان*** که از هیچ کوششی دریغ ننمودند و همواره یار و یاور بنده بودند تشکر نمایم.

خاطر نشان می گردد بخشی از مطالعات بیوشیمیایی در آزمایشگاه ***دکتر فدائی رشت*** انجام گرفت لذا در اینجا لازم است از حسن توجه و مساعدت‌های فراوان ***پرسنل این آزمایشگاه بویژه آقای ملکی*** تشکر و قدردانی نمایم. از مهندس حسین صابری به جهت همکاری در مطالعات بیوشیمیایی و از مهندس جمالزاده به دلیل همکاری در پردازش اطلاعات تشکر می کنم.

همچنین از دکتر کلباسی، دکتر سیف آبادی، دکتر مجازی امیری، دکتر شعبانی پور، دکتر حسین زاده صحافی، مهندس عبدالحی و مهندس ویلکی به جهت همکاری صمیمانه و ارائه نقطه نظرات فنی کمال تشکر را دارم.

از دوستان و همکاران عزیز، مهندس مرادی، مهندس امیری، مهندس دقیق روحی، مهندس آرمودلی، مهندس پروانه مقدم، دکتر ولی پور، دکتر زحمتکش، دکتر بهمنش، مهندس آئین، مهندس گروهی، مهندس محمد ملک شمالی، مهندس میرزاجانی، مهندس دهقانزاده، سر کار خانم مهندس احمدنژاد، مهندس قربانی، مهندس محمدی تبار، مهندس خجسته، آقایان ثباتی، رضا لادنی، عبادی، منصوری، رنجبر، راستین، فرشید احمدی، جلیل میرزاخانی، آبرنج، ایرانپور، خانم ملکی شمالی و سایر عزیزانی که به نحوی همکاری داشته ولی اسامی‌آنها ذکر نگردیده به جهت همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم.

منابع

۱- پوستی، ا. ع. صدیق مرودستی. ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب شناسی) انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۳۲۸.

۲- عبدالملکی، ش.، د. غنی نژاد. و م. صیادبورانی. ۱۳۸۳. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزردر سال ۸۳-۱۳۸۲. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر.بندرانزلی. ۱۱۳ص.

۳-غنی نژاد، د. م. مقیم.، ش. عبدالملکی و م. صیادبورانی.۱۳۸۱. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزردر سال ۷۹-۸۰. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر.بندرانزلی. ۹۸ص.

۴ - کازانچف، ا. ان. ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوزه آبریز آن. مترجم: ابوالقاسم شریعتی. وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی. صفحات ۶۳ تا ۶۸

۵ - کاظمی، ر. و م. بهمنی. ۱۳۷۷. دستورالعمل تهیه و رنگ آمیزی بافت ها برای مطالعات بافت شناسی. انستیتو بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۱۶ ص.

۶- کرایوشکینا. ۱۳۷۸. گزارش دوره بررسی سیستم اسمزی ماهیان. گردآوری: ع. دانش خوش اصل. و م. مرادی. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر. ۸۳ ص.

۷ - کریمپور، م.و ن. حسین پور. ۱۳۶۷. ماهی آزاد دریای مازندران. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۳۴ ص.

۸- ودمیر، گ. ۲۰۰۱. فیزیولوژی ماهی در سیستم‌های پرورش متراکم. ترجمه: ع. مشائی (۱۳۷۹). انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، تهران. ۳۰۲ ص.

Arnesen, A. M., Johnsen, H. K., Mortensen, A., Jobling, M., 1998. Acclimation of Atlantic salmon (*Salmo* 9) *salar L.*) smolts to cold sea water following direct transfer from freshwater. Aquaculture 168, 351-367.

ASTM. 1989. American Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public 10) Health Association, Washington 20005.

Avella, M., Young. G., Prunet. P. and Schreck. C.B. 1990. Plasma prolactin and cortisol concentrations 11) during salinity challenges of coho salmon *(Oncorhynchus kisutch*) at smolt and post-smolt stages. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. Aquaculture, 359 – 372.

12) Bern, H.A. & Nishioka. R.S. 1993. Aspects of Salmonid Endocrinology. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 44(2), 55-67.

13) Bisbal, G.A., Specker. J.L., 1991. Cortisol stimulates hypoosmoregulatory ability in Atlantic salmon, *Salmo salar*. L. J.Fish Biol. 39, 421-432.

Boeuf,G., 1993. Salmonid smolting: a pre-adaptation to the oceanic environment. Fish Ecophysiology. 14) Edited by Rankin, J.C. & F.B. Jensen, Chapman & Hall, London, 221 p.

Bone. K., Marshall.N.B. and Blaxper. G.H.S. 1995. Biology of fishes. Chapman and Hall. Pp 212.15)

16)Cataldi, E. Barzaghi C., Dimarco P., Boglione C., Dini L., MC.Kenzie D.J., Bronz P. and Cataudella S. 1999. Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic Sturgeon *Acipenser naccarii*. I: Ontogenesis of salinity tolerance. J. Appl. Ichthyology. 15, 57-60.

Conte, F.P. & Wagner, H. H. 1965. Development of osmotic & ionic regulation in juvenile coho salmon 17) *Oncorhynchus kisutch*, Comparative Biochemistry & Physiology. 18: 1-15.

Dyre, A.R., Upton, Z., Stone, D., Thomas, P.M., Soole, K.L., Higgs, N., Quinn, K., Carragher, J.F., 2004. 18) Development and validation of a radioimmunoassay for fish insuline-like growth factor and the effect of aquaculture related stressors on circulating IGF-I levels.Gen. Comp. Endocrinol 135, 268-275.
19) Folmar, L.C., Dickhoff, W.W. 1980. The parr-smolt transformation and seawater adaptation in salmonids. A review of selected literature, Aquaculture, 21:1-37.
Eliassen, A. R., Johnsen, H. K., Mayer, I. and Jobling, M. 1998. Contrasts in osmoregulatory capacity of 20) two Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), strains from northern Norway. Aquaculture. 168, 255-269.
Evans, D.H. 2002. The physiology of fishes.CRC Press, New York. 21)
Finstad, B. and Heggberget, T.G. 1993. Migration, growth and survival of wild and hatchery-reared 22) anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in Finnmark, northern Norway. Journal of Fish Biology. 43,303-312.
Folmar, L.C., Dickhoff, W.W. 1980. The parr-smolt transformation and seawater adaptation in salmonids. 23) A review of selected literature, Aquaculture, 21:1-37.
Hiroi, J., Kaneko, T. and Tanaka, M. 1999. In vivo sequential changes in chloride cell morphology in the 24) yolk-sac membrane of Mozambique tilapia embryos and larvae during seawater adaptation. J. Exp. Biol. 202:3485-3495.
25) Hoar, W.S., 1988. The physiology of smolting salmonids. In: Hoar, W.S., Randall,D.J., Fish Physiology, Vol.11B. Academic Press, New York, pp 275-343.
26) Holmes, W.N., and Stainer. M.I. 1966. Studies on the renal excretion of electrolytes by the trout *Salmo gairdneri*. J. Exp. Biol, 44:33-46.
Search.php? Lang=English.Http://www.fishbase.org/27)
28) Krayushkina, L.S., Semenova.O.G., Vyushina. A.V. 2005. Level of serum cortisol and Na+,K+ -ATPase activity of gills and kidneys in different species of Acipenserids. 5 th International Symposium on Sturgeon, Iran. pp 183-186.
29) Krayushkkina L.S., Panov A.A, Gerasimov A.A, Potts W.T.W. 1999. Changes in Sodium, Calcium and Magnesium Ion Concentrations in Sturgeon [*Huso huso*] Urine and in Kidney Morphology. J. Comp Physiol B. 165; 527-533.
30)Krayushkina, L.S., Semenova, O.G., Panov , A.A. and Gerasimo , A.A. 1996., Functional Traits of the Osmoregulatory System of Juvenile Paddlefish, *polyodon spathula*. J.Of Ichthyology. Vol. 36. No.9. PP.787-793.
Krayushkina, L.S., Stepanov, Y. I., Semenova, O. G. and Panov, A. A. 1995. Osmoregulatory system of 31) Juvenile *Oncorhynchus gorbuscha* in river and marine life. Journal of Icthyology, 35(7) pp. 143-152.
L, Abee-Lund, B., Jonsson, J. H., Jensen, A.J., Sattem, L.M., Heggberget, T.G., Johnsen, B.O., Nasje, T.F. 32) 1989. Latitudinal variation in life-history characteristics of sea-run migrant brown trout, *Salmo trutta*. J. Anim. Ecol. 58, 525-542
Laidiey, C.W. and Leatherland, J.F., 1988. Cohort sampling anesthesia and stocking density effects on 33) plasma cortisol, thyroid hormone metabolite and ion levels in rainbow trout. J. Fish Biol. 33: 73-88.
Langdon, J. S., Thorpe, J. E., and Roberts, R. J. 1984. Effects of cortisol and ACTH on gill Na+, K+- 34) ATPase, SDH and chloride cells in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. Comp. Biochem. Physiol. A 77, 9-12.
Lebel, J.M., and Leloup, J. 1992. La triiodothyronine est necessaire dans I, adaptation a leau de mer de la 35) truite fario (*Salmo trutta*) ou arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*). C.R. Acad. Sci. Paris 314, 461-469.
36)Leber, K.M., Kitada, S., Blankenship, H.L., Svasand, T. 2004. Stock enhancement and sea ranching. Blackwell Publishing. pp199-233.
37) Jonsson, B. 1993. Partial migration. Rev. Fish. Biol. Fish. 3, 348-365.
Maetz, J.1974. Fish gills: mechanisms of salt transfer in fresh water and sea water. Phil. Trans. R. Soc. 38) Lond. B262, 209-249.
39)Marshall, W. S. 1995. Transport processes in isolated teleost epithelia: Opercular epithelium and urinary bladder. In C. M. Wood and T. J. Shuttleworth (eds.),Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation, Academic Press Inc., New York. pp. 1-23.
40) Marshall, S. S., Emberley, T.R., Singer, T.D., Bryson, S.E., McCormick, S.D. 1999. Time course of salinity adaptation in a strongly euryhaline estuarine teleost, *Fundulus heteroclitus*: a multivariable approach. J. Exp. Biol. 202, 1535-1544.
McCormick, S.D. 2001. Endocrine Control of Osmoregulation in Teleost Fish. Amer. Zool., 41:781-794. 41)
42)McCormick, S.D. and Bern, H.A. 1989. Invitro stimulation of Na+,K+-ATPase activity and ouabain binding by cortisol in coho salmon gill. Am.J. Physiol. 256, R707-716.
McCormik, S.D. and Naiman, R.J. 1984. Osmoreglation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. 2. Effects 43) of Size, Age and Photoperiod on Seawater Survival and Ionic Regulation. Comp Biochem.- Physiol. ,-A. Vol 79A,no. 1. pp.17-28.
44)McCormik, S.D., Saunders, R.L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of Salmonids: Osmoregulation, growth, and metabolism. Am. Fish. Soc. Symp. 1, 211- 229.

Moriyama, S., Ayson, F.G., Kawauchi, H. 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor in fish. 45) Biosci. Biotechnol. Biochem. 64, 1553-1562

46) Nichols, D. J., and Weisbart, M. 1985. Cortisol dynamics during seawater adaptation of Atlantic salmon *Salmo salar*. Amer. J. Physiol.248, R651-R659.

Payan, P., Girard, J.P. and Mayer-Gostan, N. 1984. Branchial ion movements in teleosts. The roles of 47) respiratory and chloride cells. In Fish Physiology. Academic Press, London. Vol.X, Part B. pp 39-64.

Redding, J.M., Schreck, C.B., Birks, E. K., and Ewing, R. D. 1984. Cortisol and its effects on plasma 48) thyroid hormone and electrolyte concentrations in fresh water and during seawater acclimation in yearling coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Gen. Comp. Endocrinol. 56, 146-155.

Richman, N.H. and Zaugg. W.S. 1987. Effects of cortisol and growth hormone on osmoregulation in pre 49) and desmoltified coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Gen. Comp. Endocr. 65, 189-198.

Schmitz, M. 1992. Annual variations in rheotactic behaviour and seawater adaptability in landlocked 50) Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49: 448-452.

Seidelin M.S. Madsen. H., Blenstrup. C., Tipsmark.2000. Time-course changes in the expression of Na+, 51) K+-ATPase in Gills and Pyloric Caeca of Brown Trout (*Salmo trutta*) during Acclimation to Seawater. Physiological and Biochemical Zoology, university of Chicago. pp: 446-453.

52) Silva, P., Solomon, R., Spokes, K. and Epstein, F. 1977. Ouabain inhibition of gill Na+-K+-ATPase: relationship to active chloride transport. J. Exp. Zool. 199, 419-426.

53) Staurnes M., Sigholt T., Lysfjord G. and Gulseth O.A. 1993. Difference in the sea water tolerance of anadromous and landlocked populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 49, 443-447.

54) Thomson, A.J. & Sargent, J.R. 1977. Changes in the levels of chloride cells & Na+,K+-dependent ATPase in the gills of yellow & silver eels adapting to sea water. J. Exp. Zool. 200: 33-40.

55)Uchida, K., Kaneko, K., Yamauchi, K., Hirano, T. 1996. Morphometrical analysis of chloride cell activity in the gill filaments & lamellae and changes in Na+,K+-ATPase activity during seawater adaptation in chum salmon fry. J. Exp. Zool. 276: 193-200.

56) Zaugg W.S. and Beckman B.R. 1989. Saltwater-induced decreases in weight and length relative to seasonal gill Na+,K+ -ATPase changes in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): a test for saltwater adaptability. Aquaculture 86, 19-23.

Zaugg, W.S., 1982. A simplified preparation for adenosine triphosphate determination in gill tissue. Can. J. 57) Fish. Aquat. Sci. 39,215-217.

Abstract

This study was carried out to determine the appropriate size of Caspian trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) juveniles for releasing to South Caspian Sea or possibility of cage culture in Caspian Sea water. 1611 specimens were exposed in 4 weight groups of 5, 10, 15 and 20 g, in 3 salinity trials: Caspian Water (11-11.5 ‰), inshore water (7 ‰) and fresh water (control). Each trial was done in 3 replicates. The blood samples and tissue fixations carried out from juveniles of control group (in fresh water) and 3, 6, 12, 24, 72, 168, 240 hours after exposure of fish in different treatments. Plasma osmolal ity, Na+ and Cl- concentrations, were measured by osmometer, flame photometer, RA1000 respectively. Plasma cortisol level was determined by using RIA (radio immunochemical assay). Na+, K+-ATPase activity in homogenates of gills was estimated by phosphate released from ATP. Histological indicators including chloride cell diameter and nephron morphometric parameters were assessed using classic preparation and optic microscope with digital camera.

Results of osmolality and ions measuring concurrently show that all weight groups can live in salinity of 7 ‰ and they maintain the osmolality and ion concentrations. In the Caspian water, weight groups excluding 5 g juveniles show same result. Mean plasma osmolality of 20, 15, 10 and 5 gr juveniles in control group (time of 0) were calculated 331.3±8.7, 307.7±6, 334.7±14.6 and 301±8.7 mosml/l. This parameter in the above weight groups after 240 hours exposure in the Caspian Sea water were measured 329±0.53, 321±9, 325.3±6.7 and 346.5±13.6 respectively.

The observation of kidney glomeruli in histological sections shows that the diameter of glomeruli in 5, 10, 15 g weight groups in 7‰ and all groups in Caspian water decreased after 72 h adaptation period ($p<0.05$).

The cortisol level in 5g juveniles increased ($p<0.05$) after 168 hour of the exposure (106±11.3 ng/ml) by comparison with control group (79.5±38 ng/ml). The changes of cortisol level in other groups were not significant.

The number of gill chloride cells after 7 days of fish exposure in Caspian Sea and in water of 7‰ salinity was not changed significantly ($p>0.05$) for 5g juveniles, whereas within weight groups of 10, 15 and 20 g in Caspian Sea water and groups of 15, 20 g in water of 7‰ salinity, the increase ($p<0.05$) of chloride cells was observed. The amount of chloride cells on gill secondary lamellas in mentioned trials varied up 3 to 7 (between two lamellas on the histological sections of 5µ thickness).

The size of chloride cells in 5g juveniles in different salinities has not changed ($p>0.05$), although in other groups, a significant increase of this parameter was detected during experiments.

Na^+,K^+-ATPase activity in juveniles of 5g weight group in 7‰ salinity and Caspian water was low (3.2 – 6.1 µmol P_i /mg protein/ h). The enzyme activities in all weight groups were higher under the exposure in Caspian Sea water than that in water of 7‰ salinity. In group of 10 g juveniles at start time (control in freshwater) the activity of Na^+,K^+-ATPase was significantly higher ($p<0.05$) than that in 20g group. It is may be related to some metabolic changes and transforming to parr-smolt.

Key Words: *Salmo trutta caspius*, osmoregulation, cortisol, kidney, chloride cell.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.