وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی

عنوان:

تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی سفید *(Rutilus frisii kutum)* از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی

مجری :
محمد صیاد بورانی

شماره ثبت
۴۶۹۱۸

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی

عنوان پروژه : تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی سفید *(Rutilus frisii kutum)*از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی
شماره مصوب پروژه : ۸۹۰۲۴-۱۲-۷۳-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : 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 همکار(ان) : محمود بهمنی، حسینعلی عبدالحی، منصور شریفیان، محدثه احمد نژاد، عادل حسین جانی، افشین امیری، حسن مقصودیه کهن، حسین صابری، کامبیز خدمتی، رضوان ا... کاظمی، داریوش پروانه مقدم، هادی بابایی، جواد دقیق روحی، شهرام عبدالملکی، فرشاد ماهی صفت، محمد درویشی، علیرضا ولی پور، رضا لادنی، سهراب دژندیان، فریدون چکمه دوز
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -
محل اجرا : استان گیلان
تاریخ شروع : ۸۹/۴/۱
مدت اجرا : ۲ سال و ۹ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۵
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : تعیین اندازه مناسب رهاسازی ماهی سفید *(Rutilus frisii kutum)* از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی

کد مصوب : ۸۹۰۲۴-۱۲-۷۳-۲

شماره ثبت (فروست) : ۴۶۹۱۸ تاریخ : ۹۴/۱/۱۸

با مسئولیت اجرایی جناب آقای محمد صیاد بورانی دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز□ ایستگاه □

با سمت عضو هئیت علمی در پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی مشغول بوده است.

عنوان	« فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۲- مواد و روشها ۱۱
۳- نتایج ۱۸
۴- بحث ۴۰
۵- نتیجه گیری نهایی ۴۵
منابع ۴۶
چکیده انگلیسی ۴۸

چکیده

.این تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان واقع در غازیان بندر انزلی انجام شد. بچه ماهیان با میانگین وزنی ۰/۵ ، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ گرمی به صورت تصادفی انتخاب شدند و در ۳ گروه آب دریای خزر با شوری ۱۱درهزار ، آب ۷ در هزار (شرایط مصبی) و آب شیرین (با سه تکرار در هر گروه) قرار گرفتند. در فواصل زمانی ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸، ۲۴۰ ساعت، خون گیری از ساقه دمی بچه ماهیان بوسیله لوله های مویین هپارینه انجام شد و غلظت یون های Mg^{++}، Ca^{++}، Cl^{-} با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر و یونهای سدیم و پتاسیم با روش فلایم فتومتری (شعله و نورسنجی)، فشار اسمزی پلاسما توسط دستگاه اسمومتر و میزان هورمون کورتیزول خون براساس روش RIA اندازه گیری شدند. جهت بررسی ساختار میکروسکوپی بافت آبشش و کلیه در تیمارهای مختلف، از نمونه های بافتی بوسیله روش بافت شناسی کلاسیک و رنگ آمیزی هماتوکسیلین – إئوزین لام تهیه شد. بررسی فراوانی و محل آنزیمNa^{+}, K^{+}- ATPase و تعیین موقعیت سلو ل های کلراید با روش ایمونوهیستوشیمی به انجام رسید.بررسی های میکرومتریک سلولهای کلراید آبشش و سطح شبکه گلومرولی کلیه توسط برنامه نرم افزاری Image tool (version 2.0) انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم Na^{+},K^{+}- ATPase، توسط روش Zaugg (۱۹۸۲) به انجام رسید. تجزیه و تحلیل داده ها توسط آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) با آزمون توکی صورت پذیرفت. در مجموع، از نتایج سنجش یون ها و فشار اسمزی در روز دهم تیمارها، می توان قابلیت اسمزی بچه ماهیان ۲/۵ ، ۵، ۱۰ ، ۲۰ گرمی در شوری دریای خزر و قابلیت همه گروه ها به استثناء ۰/۵ گرمی را در آب ۷ در هزار تأئید نمود. اگر شرایط مصبی جهت رهاسازی بچه ماهی سفید مناسب باشد، با توجه به این که شوری مصبی در بیشتر نقاط جنوبی دریای خزر بیش از ۷ گرم در هزار نیست، می توان از بچه ماهی سفید یک تا ۳ گرمی (ترجیحا ۲/۵ تا ۳ گرم) برای حفظ ذخایر برای رهاسازی به محیط طبیعی استفاده نمود. اما در صورت نامساعد بودن شرایط رودخانه ای و مصبی جهت رهاسازی بچه ماهی سفید، می توان بچه ماهی های ۲/۵ تا ۳ گرمی را مستقیم در مناطق ساحلی (با شوری ۷ گرم در لیتر) و ماهیان ۱۰ تا ۲۰ گرمی در دریا رهاسازی نمود. درضمن نیاز است در آینده رهاسازی بچه ماهی های ۲/۵ تا ۲۰ گرمی در شرایط محیط ساحلی و دریایی بصورت پایلوت نیز تحقیق شود. اگرچه در صورت مناسب بودن شرایط رودخانه ای رهاسازی بچه ماهیان در مناطق رودخانه ای شرط لازم است تا آداپتاسیون تدریجی در بچه ماهیان بوقوع بپیوندد.

واژگان کلیدی: ماهی سفید ، *Rutilus frisii kutum*، تنظیم اسمزی، رهاسازی ، دریای خزر

۱-مقدمه

دریای خزر به عنوان بزرگترین دریاچه جهان، همراه با گونه های آبزیان منحصر به فرد خود یکی از شگفت انگیز ترین پدیده های طبیعی است که خداوند بزرگ نعمات آن را به ساکنین اطراف آن من جمله مردم کشور ما ارزانی داشته است.

ماهی سفید با نام علمی *Rutilus frisii kutum* ،یک ماهی استخوانی نیمه مهاجر رود کوچ بوده که به زندگی درآب لب شور دریای خزر و تالاب های اطراف آن سازگار شده است.این ماهی از مهمترین ماهیان اقتصادی در بخش جنوبی دریای خزر یعنی سواحل شمالی ایران بوده و از دیر باز با زندگی ساحل نشینان مانوس شده است. سالیانه به طور متوسط بیش از ۱۲ هزار تن از انواع ماهیان استخوانی از سواحل ایرانی دریای خزر استحصال می شود که ماهی سفید بیش از ۵۰ درصد صید را به خود اختصاص می دهد (غنی نژاد و همکاران، ۱۳۸۰) و از این طریق در اقتصاد مردم شهرهای ساحلی استان گیلان و مازندران نقش بسزایی را ایفا می کند .

صید تجاری این ماهی از دریا از سال ۱۳۰۶ با میزان صید ۷۰ تن شروع شده و سال به سال بر میزان صید آن افزوده شد، به طوریکه در سالهای ۱۳۱۷ و ۱۳۱۸ میزان صید به حدود ۶۰۰۰ تن افزایش یافت (طرح تکثیر و پرورش ماهی سفید در سواحل جنوبی دریای خزر،۱۳۶۳). ادامه روند صید بی رویه سبب گردید که کل استحصال این ماهی در فصول بهره برداری سالهای ۵۹-۱۳۵۸ و ۶۰-۱۳۵۹ به کمتر از ۱۰۰ تن در سال برسد (کازرونی منفرد،۱۳۷۴).

بر اساس تحقیقات صورت پذیرفته، روی ضریب بازگشت ماهی سفید مربوط به نسل ۱۳۷۰ میزان ضریب بازگشت این ماهی ۸/۴ درصد محاسبه شده که نسبت به سال۱۳۶۵و ۱۳۶۶ (حدوداً ۱۶ درصد) درصد کاهش نشان می دهد (صیاد بورانی و همکاران،۱۳۷۹).البته این میزان در ماهیان سفید نسل۱۳۷۳ به ۷/۳ درصد رسیده است (غنی نژاد و همکاران، ۱۳۸۰)،و این در حالی است که دامنه وزنی بچه ماهیان سفید رها سازی شده بین ۱-۰/۶ گرم بود. لذا سعی بر آن است که در صد ضریب بقا افزایش یابد، یکی از راه های افزایش ضریب بقا بچه ماهیان مطالعات شاخص های فیزیولوژیک و عوامل محیطی می باشد که در بین شاخص های فیزیولوژیکی، تنظیم اسمزی از نقش و اهمیت قابل توجهی برخوردار باشد.

تنظیم اسمزی فرایندی است که بر اثرآن الکترولیت های موجود در مایعات بدن به صورت نسبتاً ثابتی نگهداری می شود. نگهداری غلظت مایعات بدن در حد مناسب برای جانوران بخصوص ماهیان بسیار مهم می باشد. چانچه ماهی نتواند فشار اسمزی بدن خود را تنظیم نماید قطعاً تلف خواهد شد.

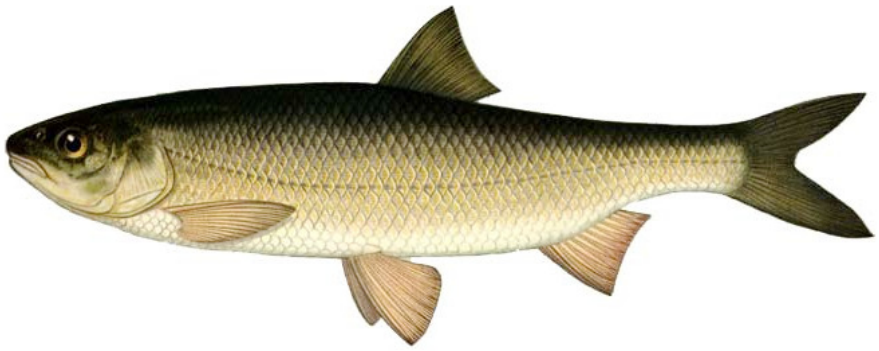
ماهیان مهاجر رود رو پس از مهاجرت به آب شیرین هایپراسموتیک و در آب دریا هیپواسموتیک هستند. شروع رشد این ماهیان ابتدا در آب شیرین و سیستم اسمزی در آنان در این محیط شکل می گیرد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸). لذا اطلاع از چگونگی انجام عمل مذکور در ماهی و زمان تشکیل و تکمیل اندام های تنظیم کننده اسمزی می

تواند تعیین کننده باشد. در این راستا و با توجه به تولید بچه ماهیان در مراکز تکثیر مصنوعی کشور به نظر میرسد آگاهی از چگونگی تنظیم اسمزی بچه ماهیان این گونه از اهمیت ویژه ای بر خوردار باشد.

۱-۱-کلیات تحقیق

۱-۱-۱-بیولوژی ماهی سفید

۱- مورفولوژی: ماهی سفید از خانواده cyprinidae ، جنس rutilus ، با نام علمی *Rutilus frisii kutum* می باشد. بدن ماهی سفید دوکی شکل و از پهلو فشرده است، رنگ پشت ماهی سفید تیره و از طرفین نقره ای روشن و ناحیه شکم سفید می باشد،رنگ ماهی سفید به علت رنگیزه بلورهای گوانین است. فلس ها از نوع سیکلوئید (مدور) و سخت می باشد که در قسمت جلو ماهی کاملا از هم جدا هستند و ناحیه سر فاقد فلس است (بریمانی، ۱۳۵۶).



تصویر ۱: نمایی از ماهی سفید

دهان انتهایی تحتانی و متحرک است و در اطراف دهان سبیلک ندارد، سرپوش به طور کامل آبشش ها را می پوشاند، اپیدرم نازک و شفاف و دارای غدد ریز مخاطی است که سطح بدن ماهی را لغزنده می سازد. در جلو و طرفین پوزه ۲ سوراخ بینی وجود دارد که در جلوی چشم ها واقع شده، هر سوراخ بینی توسط یک چین پوستی به ۲ بخش تقسیم می شود. کف حفره بینی از اپیتلیوم بویایی پوشیده شده و هنگام شنای ماهی آب از طریق بخش قدامی سوراخ بینی وارد و از بخش خلفی آن خارج می گردد، بدین وسیله موجب تحریک سلول های بویایی می شود (Evans. H,1993). اندام شنوایی از گوش داخلی تشکیل یافته و توسط استخوانهای وبر با کیسه شنا در ارتباط بوده، موجب تقویت صدا می گردد، ماهی سفید از حس شنوایی نسبتا قوی برخوردار است (وثوقی،۱۳۷۱).کیسه شنا ۲ قسمتی بوده و توسط لوله ای کوچک به پشت مری متصل می شود.

باله ها که برای حرکت، متوقف شدن و حفظ تعادل بکار می روند شامل باله های فرد و باله های زوج می باشند. باله های دمی، مخرجی و پشتی به صورت فرد بوده و باله دمی از نوع هوموسرک می باشد باله های سینه ای و شکمی نیز به صورت زوج می باشد (**Berg,1965**).

وزن متوسط آن ۱/۸- ۱/۳کیلوگرم که حداکثروزن آن در گذشته تا ۶ کیلوگرم گزارش شده است. طول بدن اکثرا بین ۴۵-۳۵ سانتی متر و گاهی تا حدود ۶۰ سانتی متر نیز می رسد. در ۴-۳ سالگی بالغ می شودو حدود ۸ تا ۱۰ سال عمر می کند (آذری تاکامی،۱۳۵۸).

۲- انتشار و پراکندگی ماهی سفید

ماهی سفید خاص دریای خزر بوده و از نظر پیدایش آن در این دریا، جزء گونه های قطب شمال به شمار می آید که بعد از آخرین دوران یخبندان یعنی ۱۲-۱۰ هزار سال پیش وارد دریای خزر شده و خصوصیات بومی دریای خزر را کسب کرده است. گونه های قطب شمال احتمالا از راه رودخانه ای- دریاچه ای که بعد از دوران یخبندان بوجود آمده اند، وارد دریای خزر شده و در اعماق زیاد خزر جنوبی (۲۰۰ الی ۷۰۰ متر) زندگی می کنند و در تمام طول سال پایین ترین درجه حرارت آب (۴/۹ الی ۵/۴ درجه سانتی گراد) را تحمل می کنند (قاسم اف،۱۳۷۲).

مهمترین رودخانه های واقع در ایران دناچال، کرگانرود، تجن، سفید رود، حویق و ... می باشد که بعضی از آنها محل تخم ریزی ماهی سفید بوده است و۲ بریدگی به نام تالاب انزلی و خلیج گرگان دارد. در گذشته تالاب انزلی و رودخانه های حاشیه آن از مناطق مهم تخم ریزی ماهی سفید محسوب می شدند. در حالی که امروزه به علت آلودگی بیش از حد مهاجرت در آن کم شده است (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴). مقدار متوسط شوری آب دریاچه ۱۲/۸-۱۲/۷ در هزار، متوسط درجه حرارت سطحی در تابستان ۲۶-۲۴ درجه سانتی گراد و در زمستان۱۰-۸ درجه است. میزان تبخیر در نواحی جنوبی و گرمسیری تا ۱۴۰۰ و میزان بارندگی در سواحل جنوب غربی تا ۱۷۰۰ میلی متر می رسد.

مهمترین مناطق تخم ریزی ماهی سفید در سواحل گیلان شامل: غرب گیلان: رودخانه لمیر، رودخانه چلوند، رودخانه حویق، رودخانه کرگانرود، تالاب انزلی و شرق گیلان: شلمان رود، خشک رود و سفید رود (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴).

- تکثیر طبیعی ماهی سفید :

ماهی سفید علاوه بر اینکه جهت تخمریزی از دریا به رودخانه ها مهاجرت می نماید در دریا هم به منظور تغذیه و زمستان گذرانی از نقطه ای به نقطه دیگر مهاجرت می کند. مهاجرت ماهی سفید برای ازدیاد نسل در دو مرحله مهاجرین پائیزه و مهاجرین بهاره صورت می گیرد . عمدتا این ماهیان بهاره هستند. مهاجرت به رودخانه

های حوزه جنوبی در آغاز سیرکولاسیون بهاره شروع می کنند. در روخانه های مازندران ، این مهاجرت تا اواخر فروردین ماه و در رودخانه های استان گیلان تا اواخر اردیبهشت ماه ادامه می یابد. و اساسا این مهاجرت به ۴ عامل بستگی دارد: ۱- دمای آب رودخانه ۲- دبی ۳- جریانات ساحلی ۴- شفافیت

ماهی سفید به هنگام مهاجرت در رودخانه تغذیه نمی نماید. بطور متوسط نسبت درصد وزن تخمدان ۱۹ درصد بوده است.

مراحل رشد ونمو جنینی شامل الف) مرحله ابتدایی جنینی ب) مرحله لاروی ج) مرحله رشد ونمو بعد از جنینی می باشد.

بر اساس بررسی های قبلی ، طول بچه ماهیان در اواخر خرداد ماه در رودخانه ناورود بین ۴/۸ تا ۵ سانتی متر نوسان داشته و عمدتا تغذیه از لارو حشرات صورت می گیرد در غیر اینصورت با فیتو پلانکتون شکم خودشان را سیر می نمایند. ماهی سفید عمدتا در اواخر سال اول و یا اوایل سال دوم آغاز صدف خواری را آغاز نموده و عمدتا دارای طول بین ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر شروع میشود و ضریب رشد در این مرحله افزایش می یابد (رضوی صیاد، ۱۳۷۴).

ماهی سفید از نظر هماوری جز. ماهیان با تعداد تخم زیاد بوده و هم آوری مطلق آن از ۱۹۷۱۸ تا ۱۴۷۶۹۶ عدد تخم است. سن بلوغ در نرها ۳-۲ سالگی و در ماده ها ۴-۳ سالگی می باشد. نسبت جنسی (تعداد نر به ماده) حین مهاجرت از ۳/۲ به ۱ تا ۶/۶ به ۱ متغیر است.

این ماهیان در بسترهای گیاهی یا قلوه سنگی با آب زلال و اکسیژن مناسب تخم ریزی می نمایند. این ماهیان پس از مهاجرت تولید مثلی به رودخانه ها ، تغییراتی در شکل ظاهری آنها ایجاد می شود. معمولا در کنار هر ماهی ماده ۳ تا ۴ ماهی نر قرار می گیرد. در این هنگام نرها با تهییج ماده ها ، آنرا برای مالیدن خود به بستر تخم ریزی تحریک می نمایند و ماهی ماده با فشار بر عضلات شکمی اقدام به رهاسازی تخم ها در داخل آب می کندو همزمان ماهیان نر نیز اسپرم های خود را در در محیط تخلیه تخم ها ریخته و لقاح خارجی صورت می گیرد. پس از لقاح ، تخم چسبناک شده و به قلوه سنگ ها یا گیاهان می چسبند و مراحل رشد جنینی طی می شود. لاروها ۴ تا ۵ روز از کیسه زرده تغذیه نموده سپس در رودخانه یا تالاب شروع به تغذیه از پلانکتون می نمایند (ولی پور و خانی پور، ۱۳۸۸).

- مهاجرت ماهی سفید به رودخانه

ماهی سفید علاوه بر اینکه جهت تخم ریزی از دریا به رودخانه ها مهاجرت می نماید، در دریا هم به منظور تغذیه و زمستان گذرانی از نقطه ای به نقطه دیگر مهاجرت می کند (رضوی صیاد،۱۳۶۷).

دو فرم ماهی سفید در مناطق گیلان وجود دارد که بر حسب زمان، مهاجرت و تخم ریزی به نام های فرم های بهاره و پاییزه نام گذاری شده اند.

مهاجرت پاییزه

مهاجرین پاییزه در صورت مساعد نبودن شرایط جوی معمولا در اواسط پاییز، ولی عمدتا در آخرین ماه پاییز شروع به مهاجرت می نمایند. این گروه معمولا به رودخانه هایی مهاجرت می کنند که بسیار طویل بوده و دارای بستری از گیاهان آبزی می باشند. مهاجرین پاییزه که عمدتا گیاه دوست هستند روی گیاهان آبزی تخم گذاری می کنند. این مهاجرین پس از مهاجرت به محل های تخم ریزی و سپری نمودن زمستان در آن مناطق در اواخر زمستان و اوایل بهار با گرم شدن آب تخم ریزی نموده و بلافاصله به دریا بر می گردند. به غیر از تالاب انزلی، رودخانه های سفید رود و قره سو جزء مناطق تخم ریزی ماهی سفید محسوب می شوند.

مهاجرین بهاره

جمعیت بهاره ماهی سفید هم اکنون بیش از ۹۸ درصد ذخایر دریای خزر را تشکیل می دهد و عمدتا سنگ دوست هستند (Berg,1965). عمده این ماهیان به رودخانه هایی مهاجرت می کنند که دارای بستر سنگی یا سنگلاخی است. مهاجرین بهاره، مهاجرت به رودخانه های حوزه جنوبی را در آغاز جریان های بهاره شروع می کنند، البته با توجه به درجه حرارت آب و هوایی منطقه ابتدا به رودخانه های گیلان و سپس مازندران وارد می شوند. مهاجرت این ماهیان در رودخانه های مازندران تا اواخر فروردین ماه و در رودخانه های استان گیلان به خصوص رودخانه های منطقه تالش تا اواخر اردیبهشت ماه ادامه می یابد. مهاجرت ماهی سفید بهاره به رودخانه ها به ۴ عامل بستگی دارد: ۱- درجه حرارت آب رودخانه (۱۲ تا ۱۳ درجه سانتیگراد)، ۲- دبی رودخانه(۵ الی ۱۰ متر مکعب)، ۳- جریانات ساحلی(باد) و ۴- شفافیت آب رودخانه

در صورتی که هر ۴ عامل ایده آل باشد، حداکثر مهاجرت صورت خواهد گرفت (رضوی صیاد،۱۳۶۷).

مهاجرت ماهی سفید به دریا

همانطور که بیان شد، ماهی سفید غیر از تخم ریزی بقیه ایام سال جهت تغذیه و زمستان گذرانی در دریا به سر می برد و مهاجرت هایی را در دریا انجام می دهد. مطالعات انجام گرفته نشان می دهد که به هنگام چرخش بهاره که با توجه به شرایط جوی و گرم شدن تدریجی آب ممکن است از اواخر بهمن یا اوایل اسفند ماه آغاز شود، ماهی سفید رفته رفته از نقاط عمیق دریا به سمت سواحل مهاجرت می کند، در این هنگام ماهیان بالغ بر اساس خاستگاه و فطرت طبیعی خود، جهت تخم ریزی تمایل بیشتری به سوی سواحل و رگه های آب شیرین نشان می دهند.

جدول ۱ : میزان صید و رهاسازی ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزر در سال های ۹۰-۱۳۸۰

میزان رهاسازی (میلیون عدد)	میزان صید(تن)	سال
۲۳۲	۷۱۹۹	۱۳۸۰
۲۲۵/۲	۶۰۱۸	۱۳۸۱
۱۵۵	۸۴۷۷	۱۳۸۲
۱۷۹/۴	۶۹۱۲	۱۳۸۳
۲۲۹/۱	۹۶۳۱/۳	۱۳۸۴
۱۷۴/۴	۱۶۱۱۷	۱۳۸۵
۲۶۲	۱۷۱۹۶	۱۳۸۶
۱۸۷/۱	۱۴۸۳۴/۷	۱۳۸۷
۳۹۹	۱۲۴۹۵	۱۳۸۸
۲۷۰/۸	۱۱۵۷۳	۱۳۸۹
۲۷۲/۲	۱۰۶۹۱	۱۳۹۰

- چگونگی تنظیم فشار اسمزی و تعادل یونی در ماهی

تنظیم فشار اسمزی (Osmoregulation) فرآیندی است که طی آن حجم کل الکترولیت ها وآب موجود در بدن یک موجود زنده تقریبا یکنواخت باقی می ماند. لازمه فراهم شدن امکان برقراری توازن و تعادل در غلظت مواد و یون های موجود در خون و تثبیت آنها در محدوده معین، عبور آنها بر اساس مکانیسم های تنظیمی موجود از یک طرف غشا به طرف دیگر آن می باشد، تا بدین ترتیب یکسان کردن غلظت مواد و یونهای مورد بحث در خون با آب محیط زندگی آنها میسر گردد (مشایی، ۱۳۸۳).

تراکم اسمزی جانوران آب شیرین بیش از فشار اسمزی محیط است لذا به آنها هیپراسموتیک گفته شده و به همین صورت نیز موجوداتی که فشار اسمزی آنها کمتر از محیط است هیپواسموتیک نامیده می شوند که برخی از ماهیان استخوانی به این صورت هستند (وحدتی و فتح پور، ۱۳۶۴).

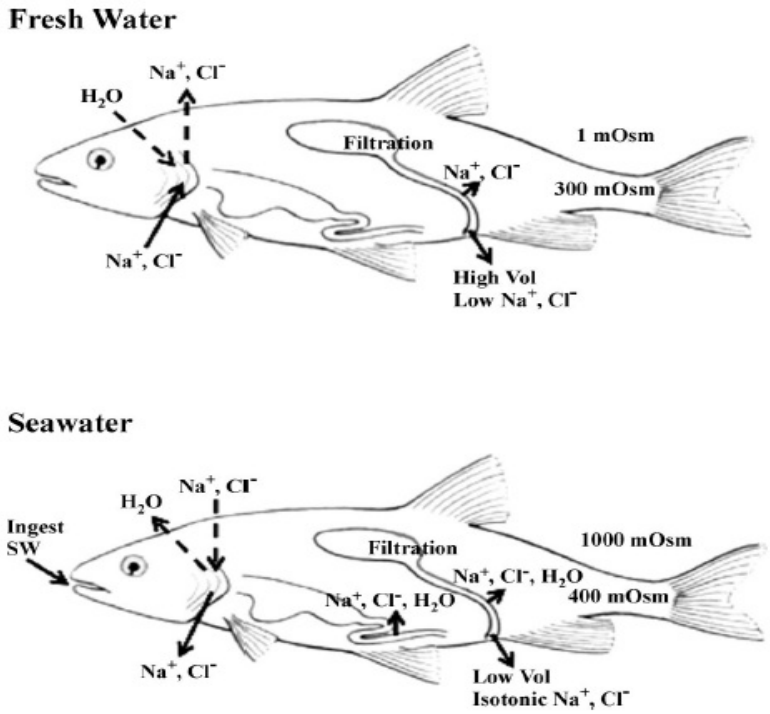
مکانیزم های تنظیم اسمزی برای کنار آمدن با این مشکلات متضاد در آب شیرین و شور، هنگام مهاجرت بین این دو محیط توسط ماهی های یوری هالین می تواند تغییر کند. تغییر در مایعات بدن به محض اینکه این ماهی ها با تغییرات مواجه شوند، صورت می گیرد (کیو.بون.مارشال،۱۳۸۴).

هورمون های کورتیزول (که از بافت اینترنال ترشح می شود) و پرو لاکتین (مترشحه از هیپوفیز پیشین) مهمترین هورمون های کنترل کننده فشار اسمزی می باشند. کورتیزول معمولا باعث تشدید جذب نمک (نگهداری آن) در آب شیرین و دفع آن در آب شور می گردد، عمل پرولاکتین باعث کاهش تراوایی غشاء در برابر یون ها و آب، همچنین جلوگیری از ترشح کلر در گونه های دریایی است. آدرنالین از فوق کلیه باعث

تحریک جذب سدیم از آب شیرین می گردد ولی در قزل آلای آب شور، موجب جلوگیری از ترشح نمک می شود (وحدتی و فتح پور،۱۳۶۴).

فشار اسمزی

محلولهای فعال و مهم از نظر فشار اسمزی شامل یونهای سدیم، پتاسیم و کلر هستند. با وجودی که پروتئین ها نقش مهمی در تنظیم عبور مایعات از غشاء سلولی دارند، اما در زمینه تنظیم فشار اسمزی دخالتی ندارند. اگرچه یونهای کلسیم، منیزیم، بی کربنات و فسفات به طور مستقیم در فرآیند تنظیم اسمزی دخالتی ندارند، اما بر عملکرد کلیه که اندامی مهم در تنظیم اسمزی است تاثیر می گذارند و در فرآیند های مختلف تنظیمی تنفس، اکسیژن را تامین نموده و دی اکسید کربن را از بدن دفع می نمایند. در ماهیان آب شیرین نرخ تصفیه گلومرولی بسیار بالاست و یون های تصفیه شده در عمل گلومرولی در لوله های نفرونی و مثانه باز جذب شده و در نتیجه ادرار بسیار رقیقی تولید می شود. بنابر این مشاهده می شود که کلیه ها از این طریق به تنظیم اسمزی کمک می کنند. روده این ماهیان به طور فعال یون های تک ظرفیتی و آب را به داخل خون می فرستد و بسیاری از یونهای ۲ ظرفیتی که دارای فشار اسمزی یکسان با خون هستند، در روده جمع می شوند. حفظ آب با کاهش تصفیه گلومرولی به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد، کلیه اصولا به عنوان یک اندام نگهداری یون ۲ ظرفیتی عمل می کند. یون تک ظرفیتی اضافی که از طریق بلعیدن آب دریا و جذب غیر فعال از طریق سطح بدن به داخل بدن راه یافته اند، عمدتا از طریق آبشش ها دفع می شوند (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۸۴).



تصویر ۲: شمای تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی در دو محیط آب شیرین و آب دریا

در سال ۱۹۹۶وضعیت سیستم های تنظیم اسمزی و یونی پاروپوزه های جوان *Polyodon spathula* توسط Krayushkina بررسی شد. تغییراتی در اسمولاریته سرم خون و غلظت یون های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در دوره انتقال تدریجی تاسماهیان پاروپوزه جوان ۴/۵ ماهه از آب شیرین به آب با شوری های در حال افزایش (۳/۵، ۵، ۶/۵و۷/۴در هزار) مشاهده گردید. نتایج نشان داد که پاروپوزه های جوان قادر به تنظیم مقاومت نسبی فشار اسمزی سرم خون خود در محیط هیپراسموتیک (۱۴-۱۰ در هزار) نیستند.

در سال ۱۹۹۸ توان تنظیم فشار اسمزی در دو" سویه" از قزل آلای قطبی *salvelinus alpinus* توسط Robet مقایسه شدند. گروهی از ماهیان در معرض آب دریا (با شوری ۳۴-۳۳ در هزار) قرار گرفتند. قزل آلای قطبی مورد آزمون همگی از ماهیان پرورش یافته در هچری (+۴ سال با وزن اولیه ۴۰۰ گرم)"از سویه " مهاجر منطقه Hammerfest و آبهای داخلی منطقه Skjomen بودند. قزل آلای قطبی سویه آبهای داخلی منطقه Skjomen قادر به تنظیم فشار اسمزی موثر جهت زنده ماندن خود در آب دریا نبود. ماهیان قزل آلای سویه مهاجر قطبی قادر به تنظیم فشار اسمزی و غلظت یونی پلاسمای خون خود در شرایط مشابه بود. نتایج نشان داد که تفاوت های آشکاری از نظر توانایی تنظیم اسمولاریته خون بین ماهیان قزل آلای مهاجر سویه منطقه Hammerfest و سویه منطقه skjomen آبهای داخلی وجود دارد.

- کلیه ها

کلیه جزء ارگان های ترشحی جانوران می باشد که خروج مواد زائد را از بدن جانور تسهیل می نماید. تقریبا میتوان گفت نقش آن تنظیم اسمزی می باشد (Krischner,1991). شکل خارجی کلیه در گونه های مختلف ماهی ها، متفاوت است. در ماهی های استخوانی حقیقی، کلیه شامل راس و بدنه می باشد. از نظر رویان شناسی قسمت راس از پرو نفروس (Pronephros) و بدنه آن مزونفروس (Mesonephros) بوجود می آید.

راس کلیه از بافت لنفاوی تشکیل شده در حالی که تعداد زیادی نفرون در بافت لنفوئیدی بینابینی در قسمت بدنه کلیه قرار دارند. واحدهای ترشحی ادرار (نفرون) در کلیه ماهی های استخوانی حقیقی به دو قسمت تقسیم می گردد (پوستی،۱۳۷۸).

نفرون در ماهی ها شامل قسمت باریکی است که مشابه لوله هنله نفرون مهره داران عالی می باشد. این واحد به لوله های جمع کننده و میزنای متصل می گردد.جسمک کلیه شامل گلومرول و کپسول می باشد. لوله های پیچیده دور(Distal) و پیچیده نزدیک (Proximal) نیز از واحد های کلیوی هستند. (پوستی،۱۳۷۸).

- آبشش ها

آبشش ها غیر از مشارکت در تبادلات گازهای تنفسی وظایف دیگری دارند که گاهی وظیفه اصلی و اولیه شان به دشواری قابل تشخیص است. آبشش های ماهی ها در فعالیت های تنظیم اسمزی شرکت دارند اما تنفس وظیفه اولیه آبشش ها محسوب می شود (وحدتی و فتح پور،۱۳۶۴).

ماهی های استخوانی حقیقی، ۵ زوج کمان آبششی دارند. در قسمت جلو، ۴ جفت تیغه آبششی اولیه استوانه ای شکل، ۲ ردیف را بوجود می آورند که از جلو به عقب امتداد یافته اند. این دو ردیف در قاعده توسط دیواره آبششی به یکدیگر متصل می گردند، معمولا آخرین زوج کمان آبششی به استخوان حلقی تغییر شکل یافته و نقشی در تنفس ماهی ندارد. تعداد زیادی تیغه های ابششی ثانویه نیم دایره در طرفین تیغه های آبششی اولیه قرار گرفته است.

بافت پوششی تیغه های پوششی اولیه، دارای سلولهای موکوسی و سلولهای کلراید زیادی می باشند. سلولهای موکوسی در لبه های تیغه های آبششی اولیه قرار دارند. سلولهای کلراید در پایه تیغه های آبششی ثانویه دیده می شوند. این سلولها اسیدوفیل می باشند (پوستی،۱۳۷۸).

در آبشش ها ترشح فعال Cl^- از Na^+ واضح تر است، مقدار این ترشح به جذب Cl^- از روده بستگی دارد.

آنها چندین برابر سلول های Basolateralسلولهای کلراید سلولهای نواری شکل و طویل می باشند که غشاء دیگر می باشد و به صورت چین ها و کانال هایی در بین آنها شکل گرفته است. وجود این کانال ها باعث به راحتی وارد شده و از طرفی باعث وسیع تر شدن غشاء می شود که ECF می شود که یونهای مایع* Na^+, K^+ - ATPase با سیتوپلاسم جلوگیری می کند.این سلولها دارای پمپ های ECF از مخلوط شدن بوده که مانند غشاء سلول های NaClبوده که در غشاهای قاعده ای-جانبی قرار گرفته اند و انتقال دهنده روده ای عمل می کند.

سلول های کلراید عمدتا در ماهیان دریایی وجود دارند اگرچه بندرت در ماهیان آب شیرین نیز دیده می شوند. در آبشش ماهی های رودرو، هنگامی که در آب شیرین هستند، تعداد این سلولها کم و اندازه آنها کوچک است، ولی وقتی به آب دریا می رسند و به آب دریا عادت کنند، فعالیت سلولهای کلراید در عرض ۲ تا ۴ روز قابل توجه است، زیرا تعداد و خصوصیات رنگ پذیری آنها در طول ۷ تا ۱۰ روز افزایش می یابد. آبشش ها در عرض یک ماه به یک آبشش کامل از نوع آبشش دریایی تبدیل می گردند (پوستی،۱۳۷۸). تغییرات در شوری آب باعث تغییرات هیستولوژیکی و تعداد سلول های کلراید خواهد شد. با افزایش سطح غشاء قاعده ای- جانبی، سیستم توبولی و تعداد میتوکندری های هر سلول کلراید افزایش می یابد و همچنین تغییراتی در کریپتهای آپیکال سلول رخ می دهد. در نتیجه این تغییرات ، آداپتاسیون با محیط جدید برای ماهی ایجاد شده و سلولها می توانند تاثیر متقابلی بر یکدیگر ایجاد نموده و اتصالات بین سلولی (سلولهای کلراید با سلولهای مجاور) مستحکم می شود (King & Abel,1989). در رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین یاخته های کلراید و میتوکندری آبشش به رنگ قرمز متمایل به بنفش دیده می شوند. سیتوپلاسم یاخته های کلراید در حالت فعال در آب شور به رنگ قرمز روشن و در حالت غیر فعال در آب شیرین به رنگ تیره می باشد (کاظمی و همکاران، ۱۳۷۹).

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مکان و زمان انجام آزمایش

مکانهای مورد پژوهش شامل:

الف-ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان (ساحل غازیان) واقع در بندر انزلی

ب- آزمایشگاه فیزیولوژی پژوهشکده آبهای داخلی کشور (بندر انزلی)

د- آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی شهرستان نور

و- آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی رشت

۲-۲- تهیه نمونه ها

تعداد ۵۰۰۰ قطعه از بچه ماهیان سفید با نام علمی *Rutilus frisii kutum* در اوزان ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی (برداشت نمونه ها به صورت تصادفی) که حاصل تولید مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید انصاری رشت بوده جهت انجام مطالعه تحقیقاتی به ایستگاه تخصصی تغذیه و غذای زنده آبزیان ساحل غازیان انزلی منتقل شدند. در ضمن وزن اولیه طوری لحاظ گردید که ماهیان پس از یک ماه آداپتاسیون با حداقل غذا دهی به وزن مورد نظر برسند. بطور مثال در خصوص ماهیان ۰/۵ گرمی ، وزن ماهیان انتقالی ۰/۲ تا ۰/۳ گرم بوده است. این کار در چندین مرحله انجام پذیرفت یعنی ابتدا اوزان ۰/۵ تا ۲/۵ گرم کار شد و سپس ماهیان پس از رسیدن به اوزان ۵ تا ۲۰ گرم بر روی آنها نیز مطالعه شد . در حقیقت ذخیره ژنیتکی یکی بوده ولی چند مرحله کار صورت گرفته است.

- تهیه آب مورد نیاز

آب مورد نیاز برای این تحقیق در ۳ سطح شوری: آب شیرین با درجه شوری زیر ۰/۵ در هزار (شاهد)، شوری ۷ در هزار و آب دریای خزر با شوری ۱۱ در هزار انتخاب گردید. آب شیرین مورد استفاده از آب چاه ایستگاه تحقیقاتی و برای تهیه آب ۷ در هزار، از مخلوط آب چاه با آب دریای خزر تهیه شد.

- انتقال و تطابق

نمونه های مورد بررسی توسط کامیونهای مجهز به سیستم اکسیژن دهی به ایستگاه تحقیقاتی ساحل غازیان منتقل شدند. برای تطابق بچه ماهیان با شرایط ایستگاه حدود یک ماه این ماهی ها در حوضچه های گرد ونیرو) با چرخش آب و هوا دهی نگهداری شدند. در مرحله بعد برای شروع آزمایش بچه ماهیان بصورت تصادفی از داخل این حوضچه ها صید و پس از تفکیک اوزان به فضای داخل آزمایشگاه و در داخل وان ۵۰۰ لیتری دارای سیستم هوادهی منتقل شدند. حدود ۲ روز نیز این ماهیان در این وان نگهداری شدند تا در مرحله

بعد جهت انجام دوره تیمار داری به وانهای ۱۰۰ لیتری ریخته شوند (شکل ۳). جهت به حداقل رساندن پارامتر های پلاسما، ۲۴ ساعت قبل از انتقال به وان های ۱۰۰ لیتری، بچه ماهیان تحت شرایط گرسنگی نگه داشته شدند(Madsen & Naamansen,1989).

با توجه به ۳ سطح شوری و ۳ تکرار برای هر کدام از وزن ها (کرایوشکینا، ۱۳۷۸) در کل ۹ پلات آزمایش (وان ۱۰۰ لیتری) برای هر گروه وزنی بچه ماهیان مورد نیاز بود. در ضمن این وانهای ۱۰۰ لیتری بصورت طرح بلوک های کاملا تصادفی که با مطالعات Naiman & McCormik(1984) همخوانی دارد چیده شده بودند. داخل هر یک از وانهای ۱۰۰ لیتری به اندازه ۸۰ لیتر از آب مورد نیاز(آب شیرین،۷ در هزار و ۱۱ در هزار) پر گردید.

- تعویض آب

۲۰ درصدآب موجود در هر یک از وان ها هر روزه تعویض می شدند تا از رسوبات مواد غذایی و فضولات ماهی ها جلوگیری شود (Avalla *et al*.,1990).

- تراکم ذخیره سازی:

تراکم بچه ماهیان (زی توده) در داخل هر وان ۰/۵ گرم در لیتر در نظر گرفته شد.

- شرایط نور محیط:

تیمارهای مورد آزمایش تحت شرایط نور طبیعی محیط قرار داشتند.

- غذا دهی:

غذا دهی نیز روزی یک الی ۲ بار با غذای کنسانتهSFK (غذای مربوط به ماهی سفید) به میزان ۲ درصد وزن بدن به بچه ماهیان داده شد (Avella *et al*.,1990) .

- محیط آزمایش

آزمایشات فیزیکوشیمیایی نمونه های آب پلات های آزمایش با استفاده ازروش های استاندارد بطور مرتب و روزانه به شرح زیر انجام پذیرفت.

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

- اکسیژن محلول: این فاکتور با استفاده از روش وینکلر (یدومتری) انجام شد. در این روش با استفاده از محلول کلرور منگان در مجاورت یدور قلیایی رسوب هیدروکسید منگان Mno(oH)۲ 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 1988). در ضمن توسط دستگاه مولتی متر (WTW) سنجش روزانه اکسیژن بعمل آمد.

- **PH** آب: 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 نانو متر و نیترات با استفاده از معرف بروسین در طول موج ۴۱۰ نانومتر بوسیله اسکتروفتومتر HACH DR2000 با دقت ۰۰۱.٪ بر حسب میلی گرم در لیتر اندازه گیری شد (ASTM,1989).

- تعیین کلر و شوری آب:شوری آب حوضچه ها هر ۲۴ ساعت یکبار بوسیله دستگاه شوری سنج چشمی کنترل می شد. در ضمن با استفاده از دستگاه اسمومتر نیز شوری آب چک می شد (کرایوشکینا، ۱۳۷۸).

- تعیین CO_2 : میزان CO_2 آب با توجه به غلظت یونی آب (pH) با معرف فنل فتالئین و متیل اورانژ در مقابل اسید کلریدریک (حداقل هفته ای دو بار) تعیین گردید(ASTM,1989).

- نمونه گیری

- نمونه گیری و خونگیری: پس از قرار گرفتن بچه ماهیان در پلات ها در فواصل زمانی ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲، ۱۶۸، ۲۴۰ ساعت، خون گیری از ساقه دمی بوسیله لوله های مویین هپارینه انجام شده و به اپندورف ^{cc} ۱/۵ انتقال

یافت (صیادبورانی ، ۱۳۸۶). همچنین تعداد ماهیان تلف شده هر پلات آزمایشی در مقاطع زمانی فوق الذکر ثبت گردید. به دلیل کافی نبودن مقدار خون یک بچه ماهی از روش Pooling (خونگیری از چند قطعه بچه ماهی که در شرایط مشابه پرورش یافته اند) استفاده شد. برای این منظور از ۳ تا ۲۵ قطعه بچه ماهی استفاده شد (صیاد بورانی و همکاران ، ۱۳۸۶، کاظمی و همکاران، ۱۳۸۱.Krayushkina *et al*.,1996; Cataldi *et al*., 1999) . همچنین زیست سنجی بچه ماهیان یعنی طول با دقت ۱ میلی متر و وزن با دقت ۰/۱ گرم انجام گرفت. 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 حداقل به میزان ۰/۵ میلی لیتر از سلول های خونی جدا گردید. بعد از جداسازی، بلافاصله مقداری از پلاسما (۱۰۰ میکرولیتر) جهت سنجش اسمولاریته پلاسما بکار رفته و برای نگهداری طولانی تر پلاسما به منظور سنجش غلظت الکترولیت ها و هورمون کورتیزول، نمونه ها به میزان ۲۰۰ تا ۳۰۰ میکرولیتر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۸۶).

بچه ماهیان ۰/۵ گرمی دارای نمونه خون کافی نبودند بنابراین جهت سنجش فشار اسمزی از مایع میان بافتی استفاده شد تا روند تغییرات فشار اسمزی مورد بررسی قرار گیرد.

- بیومتری بچه ماهی ها

ابتدا طول کل بچه ماهی ها با کولیس با دقت ۰/۱میلی متر اندازه گیری شد، سپس وزن آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۱ میلی گرم اندازه گیری و تمام این اعداد و ارقام با اطلاعات مربوط به بچه ماهی، تاریخ و زمان نمونه برداری ثبت گردید.

- سنجش الکترولیت های پلاسما:

برای اندازه گیری یونهای Mg^{++}، Ca^{++}، Cl^{-} از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Krayushkina *et al*., 1996;) و یونهای سدیم و پتاسیم به روش فلایم فتومتری (شعله و نورسنجی)، اندازه گیری شدند (McCormick and Naiman, 1984; ASTM, 1989;Krayushkina *et al*.,2005.

- اندازه گیری هورمون کورتیزول در نمونه های پلاسما:

هورمون کورتیزول با استفاده از روش رادیوایمونواسی انجام شد. برای انجام این کار از آنتی بادی های تهیه شده بر علیه هورمون کورتیزول انسانی و آنتی ژن آن برای تهیه منحنی استاندارد و اندازه گیری غلظت کورتیزول نمونه ها استفاده گردید. برای تبدیل مقدار کورتیزول از نانومول در لیتر (nmol/l) به نانوگرم در میلی لیتر (ml /ng) از فرمول زیر استفاده شد (Avella *et al*., 1990):

$$\text{Cortisol(nmol/l)} \times ۰/۳۶۲۵ = \text{Cortisol(ng/ml)}$$

- **مراحل مختلف تهیه لامهای بافت شناسی**

نمونه برداری

جهت این کار در فاصله های زمانی مختلف، سه عدد ماهی از شوری های مختلف برداشته و پس از بیومتری، باله های آن را قطع کرده و در داخل فیکساتور بوئن قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت نمونه ها از بوئن (بوئن با ترکیبی متشکل از محلول اسید پیکریک به نسبت ۷۵ ٪ ،اسید استیک به نسبت۵ ٪ و فرمالین به نسبت ۱۵٪ (پوستی و مرودستی،۱۳۷۸))، خارج و در داخل الکل ۷۰ درجه قرار داده شد. سپس مقطعی از کمان دوم آبششی و بافت کلیه جهت تهیه لام از ماهی مورد نظر جدا گردید (کرایوشکینا، ۱۳۷۸). برای تهیه مقاطع بافتی نمونه ها از مراحل آبگیری، شفاف سازی، پارافینه شدن، قالب گیری، برش با استفاده از میکروتوم، چسباندن لامل روی بافت با استفاده از چسب کانادا بالزام و رنگ آمیزی عبور داده شدند (پوستی،۱۳۷۳؛ بهمنی و کاظمی،۱۳۷۷). برای تشخیص بهتر سلولهای کلیه و آبشش از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین استفاده گردید (کرایوشکینا، ۱۳۷۸).

بررسی های میکروسکوپی

پس از مراحل فوق الذکر، اسلایدهای بافتی با کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 مجهز به نمایشگر مورد مطالعه قرار گرفت. از هر تیمار ۳ تکرار و از هر تکرار ۳ لام تهیه گردید. از هر اسلاید ۱۵ میدان بافتی مطالعه و از قسمت های مختلف با بزرگنمایی های مختلف عکسبرداری شد. تعداد و مساحت یاخته های کلراید توسط برنامه Image tool (version 2.0) اندازه گیری شد(Pelis &) McCormick.,2001. در مورد کلیه هم مساحت شبکه گلومرولی در سطوح مختلف شوری با بزرگنمایی ۴۰ برابر توسط برنامه Image tool (version 2.0) محاسبه گردید(Krayushkina et al., 1996).

سنجش میزان فعالیت آنزیم Na^+,K^+-ATPase:

فعالیت آنزیم Na^+,K^+-ATPase، با روش Zaugg (۱۹۸۲) به انجام رسید.

۱) اندازه گیری فسفر غیرآلی (معدنی) بافت آبشش طی دو مرحله انجام گرفت (**ASTM, 1989**):

الف) هضم نمونه

مراحل کار:

۱- بدست آوردن وزن خشک نمونه، ۲- هضم به وسیله اسید کلریدریک و اسید نیتریک، ۳- هضم کامل نمونه ها از طریق جوشاندن

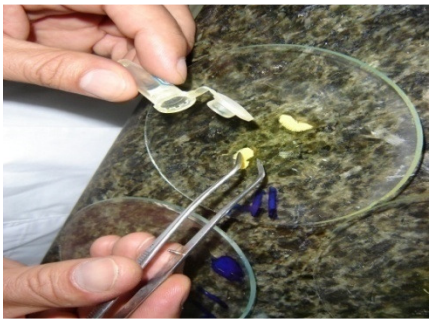
ب) اندازه گیری فسفر نمونه های هضم شده:

۱- پس از سرد کردن نمونه های هضم شده، نمونه ها به بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری انتقال می یابند، ۲- ۲۰ میلی لیتر از نمونه با اسید کلریدریک و سود، خنثی شده و سپس به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد، ۳- با مولیبدات آمونیوم و مطابق با استاندارد STM، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Hitachi مدل U-2000 مجهز به سل ^{4CC} و با

دقت ۰/۰۰۱، جذب نمونه های رنگی شده در طول موج ۸۱۰ نانومتر قرائت و غلظت آن ها نیز با استفاده از منحنی کالیبراسیون سنجش و با داشتن وزن خشک نمونه ها غلظت برحسب ppm محاسبه گردید (صیادبورانی و همکاران، ۱۳۸۶).

۲ – نحوه اندازه گیری پروتئین بافت آبشش:

پروتئین بافت با استفاده از بررسی پروتئین بیوره با سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد تعیین شد. نمونه با ۲ میلی لیتر معرف مخلوط و ۱۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری خواهد شد. جذب نمونه های رنگی شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شود (Eliassen *et al.*,1998).



۲

۱

۴

۳

۵

تصویر۳ : مراحل سنجش فسفر معدنی

تصویر ۱: مرحله شستشو، تصویر۲: مرحله خاکسترسازی (معدنی شدن ترکیبات آلی) تصویر۳: مرحله هضم با اسید کلریدریک و اسید نیتریک، تصویر ٤: مرحله خنثی سازی، تصویر ٥: مرحله خواندن شدت جذب نوری با دستگاه اسپکتروفتومتر

- ایمونوهیستوشیمی

ایمنولوکالیزه آنزیم Na^+, K^+-ATPase با استفاده از آنتی بادی $IgGa_5$ و میکروسکوپ نوری فلورسانس انجام گرفت(رجبی و همکاران، ۱۳۹۰).

- روش پردازش آماری اطلاعات و داده ها:

داده های زیست سنجی با روش های عمومی آمار توصیفی مورد پردازش و میانگین گیری قرار گرفت. داده های حاصل از زیست سنجی ماهیان، اسمولاریته و غلظت یون ها، مقادیر کورتیزول ، زیست سنجی سلول های کلراید، شبکه گلومرولی و ... با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با سطح اطمینان ۹۵٪ 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.

جهت بررسی تاثیر همزمان وزن ماهیان و ساعات مورد بررسی بر روی مساحت شبکه گلومرولی ، محیط شبکه گلومرولی از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شده است همچنین جهت بررسی تاثیر همزمان وزن ماهیان و شوری بر روی سطح مقطع آبششی ، تعداد سلول های کلراید ، مساحت سلول کلراید و محیط سلول کلراید نیز از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شده است نهایتا جهت بررسی تاثیر همزمان شوری و ساعات مورد بررسی بر روی فشار اسموزی نیز از آزمون فوق الذکر استفاده شده است. عملیات یاد شده در فضای نرم افزار SPSS انجام گرفت. در ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج

۱-۳-فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

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

جدول۲ : شاخص های فیزیکوشیمیایی سنجش شده در پلات های مختلف

عامل / تیمار	pH	شوری (۰/۰۰)	$O2^{(mg/l)}$	$NO_2^{(mg/l)}$	$NH_4^{(mg/l)}$	$CO_2^{(mg/l)}$
آب دریای خزر	۸/۰۱±۰/۰۸	۱۱/۷±۰/۹	۸/۲۵±۰/۶	۰/۰۰۵۵±۰/۰۱۷	۰/۰۱±۰/۰۰۳	۰/۵۲۲±۰/۵
آب ۷ در هزار	۸/۱±۰/۰۹	۷/۱±۰/۹۴	۹/۲±۰/۰۵	۰/۰۰۷۵±۰/۰۰۲	۰/۰۱۱	۰
آب شیرین	۸/۲±۰/۱۲	۰/۳۲±۰/۰۳	۹/۳۶±۱/۲۷	۰/۰۱۲±۰/۰۲	۰/۰۱۳±۰/۰۰۶	۰

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

جدول۳ : میانگین غلظت یون ها در تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر)

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 (۱۱/۵-۱۱درهزار)	۱۲۰ ±۰/۹	۹/۹ ± ۰/۱	۱۰/۱ ± ۰/۱۵	۱۳۰ ± ۱	۲ ± ۰/۰۱

۲-۳- نتایج ایمونوهیستوشیمی و بافت شناسی آبشش و کلیه در بچه ماهیان سفید ۰/۵ ، ۱ و ۲/۵ گرم

۱-۲-۳- مساحت سلول های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید

جدول ٤: مساحت سلول های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید در اوزان مختلف (میکرو متر مربع) پس از ۲٤۰ ساعت قرار گیری در تیمارهای مختلف شوری

وزن (گرم) / تیمار شوری	۰/۵	۱	۲/۵
آب شیرین	۳۵/۶ ± ۱۰/۳۹ [a]	۴۱/۵۳ ± ۱۰/۱۲ [b]	۴۴/۹۵ ± ۱۱/۳ [c]
آب شرایط مصبی	۳۶/۳ ±۱۰/۴[a]	۴۱/۵۶ ± ۱۰/۲ [b]	۴۶/۶± ۱۲/ ۳ [c]
آب دریای خزر	۳۶/۷۳ ± ۱۰/۹۳ [a]	۴۱/۶۵ ± ۱۰/۳۶ [b]	۴۷/۹۵ ± ۱۲/۹۲ [c]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین، بین اوزان مختلف مورد بررسی از نظر مساحت سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید($P<0.05$). بطوریکه با افزایش وزن بچه ماهی ،سطح سلول های کلراید افزایش یافته است. همین موضوع در آب دریای خزر نیز بوقوع پیوسته است.

در ماهیان ۰/۵ و ۱گرمی، بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر از نظر مساحت سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید ($P>0.05$). ولی در ماهیان ۳ گرمی، بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر از نظر مساحت سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید($P<0.05$). بنابراین، پس از انتقال هر گروه وزنی ماهی از محیط آب شیرین به محیط آب دریا (مطالعه در زمان ۲۴۰ ساعته)، به استثناء ماهی ۲/۵ گرمی ، در سایر گروه ها تفاوت چندانی در سطح سلول ها مشاهده نگردید.

۲-۲-۳-محیط سلول های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید:

جدول ٦ : محیط سلول های کلراید آبشش بچه ماهیان سفید در اوزان مختلف به تفکیک تیمارهای مختلف شوری (میکرومترمکعب)

وزن (گرم) / تیمار شوری	۰/۵	۱	۲/۵
آب شیرین	۲۳/۰۸ ± ۳/۴۲ [a]	۲۳/۹۷ ± ۲/۸۸ [a]	۲۹/۱۶ ± ۴/۴۲ [b]
آب شرایط مصبی (۷ در هزار)	۲۳/۱ ± ۳/ ۵۲ [a]	۲۴ ± ۳/۱[a]	۲۹/۷ ± ۵/۱[b]
آب دریای خزر	۲۳/۱۴ ± ۳/۶۳ [a]	۲۴/۱۴ ± ۳/۱۱ [a]	۲۹/۹ ± ۵/۱۳ [b]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین ، بین اوزان مختلف مورد بررسی از نظر محیط سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید ($P<0.05$). این اختلاف در آب دریای خزر نیز مشاهده می گردد. بطوریکه محیط سلول ها ی کلراید گروه ۲/۵ گرمی با سایر گروه ها ی وزنی تفاوت معنی داری را نشان داده است ولی در دو گروه ۰/۵ و ۱ گرمی این اختلاف مشاهده نمی شود.

در ماهیان ۰/۵ و ۱گرمی، بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر از نظر محیط سلول کلراید آبشش بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05). محیط سلول های کلراید آبشش ماهیان ۳ گرمی بین دو تیمار آب شیرین و آب دریای خزر اختلاف معنی دار آماری مشاهده می گردد (P<0.05) که حاکی از رشد و تکامل این سلول ها در گروه ۳ گرمی برای مواجهه با شوری می باشد.

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی مساحت سلول کلراید دارند(P<0.05). و بر اساس آزمون توکی اختلاف بین گروههای فوق الذکر مشخص گردید.

- با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی محیط سلول کلراید ندارند(P>0.05).

۳-۲-۳-تعداد سلول های کلراید در گروه های مختلف وزنی بچه ماهیان سفید در دو محیط آب شیرین و آب دریای خزر

جدول ۹: مقایسه تعداد سلول های کلراید بچه ماهیان سفید در دو محیط آب شیرین و آب دریای خزر به تفکیک اوزان مختلف (میکرومترمربع)

تیمار / وزن (گرم)	آب شیرین	آب ۷ در هزار	آب دریای خزر
۰/۵	۹/۱۳ ± ۳/۴۹ b	۹/۵ ± ۴/۲a	۹/۰۴ ± ۴/ ۴۲ a
۱	۹/۳۳ ± ۳/۹۷ a	۹/۷ ± ۲/۳ a	۱۰/۵۹ ± ۲/۶ a
۲/۵	۱۰/۰۷ ± ۴/۵۹ a	۱۲ ± ۵ b	۱۲/۰۶ ± ۵/۰۵ b

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

پس از انتقال ماهی از آب شیرین به آب دریای خزر، در گروه ۰/۵ گرمی کاهش تعداد سلول ها، در گروه ۱ گرمی عدم اختلاف و در گروه ۲/۵ گرمی افزایش تعداد جهت رویارویی با محیط شورتر بوقوع پیوسته است.

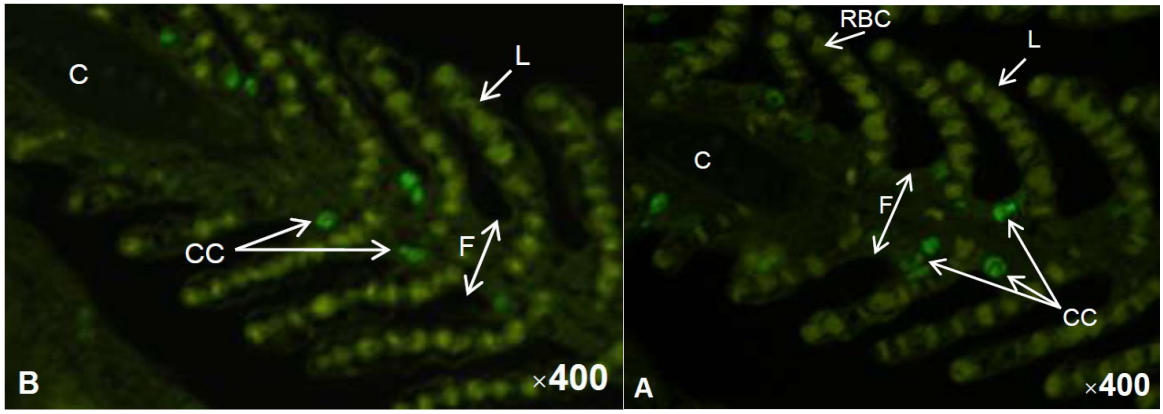
جدول ۱۱: تعداد سلول های کلراید در بچه ماهیان سفید در تیمارهای ترکیبی (میکرومترمربع)

تیمار	تعداد سلول های کلراید
آب شیرین- ۰/۵ گرم	۹/۱۳ ±۳/۴۹ b
آب شیرین- ۱ گرم	۹/۳۳ ± ۳/۹۷ a
آب شیرین – ۲/۵گرم	۱۰/۰۷ ± ۴/۵۹ a
آب دریای خزر- ۰/۵ گرم	۹/۰۴ ± ۴/ ۴۲ a
آب دریای خزر – ۱ گرم	۱۰/۵۹ ± ۲/۶ a
آب دریای خزر – ۲/۵ گرم	۱۲/۰۶ ± ۵/۰۵ b

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری آب و وزن ماهیان هر دو اثر متقابلی بر روی تعداد سلول های کلراید دارند ($P<0.05$). بر اساس آزمون توکی اختلاف بین گروههای فوق الذکر مشخص گریدند.

تصاویر ایمونوهیستوشیمی و بافت شناسی با رنگ آمیزی ائوزین –هماتوکسیلین در بچه ماهیان ۰/۵ ، ۱ و ۲/۵ گرم



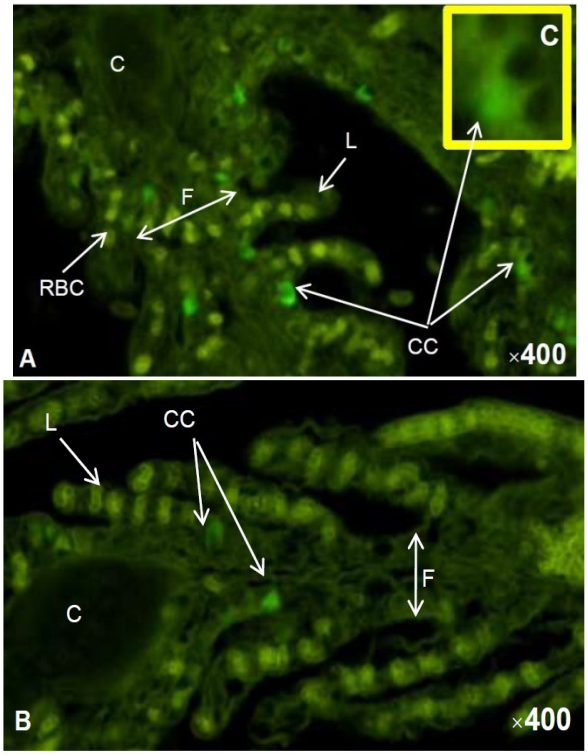
تصویر ٤:

شکل A : تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه ماهی سفید ۰/۵ گرمی سازگار شده با آب شیرین، با روش ایمونوهیستوشیمی

شکل B: تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه ماهی سفید ۰/۵ گرمی ۲٤۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر، با روش ایمونوهیستوشیمی

علامت های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)



تصویر ۵:

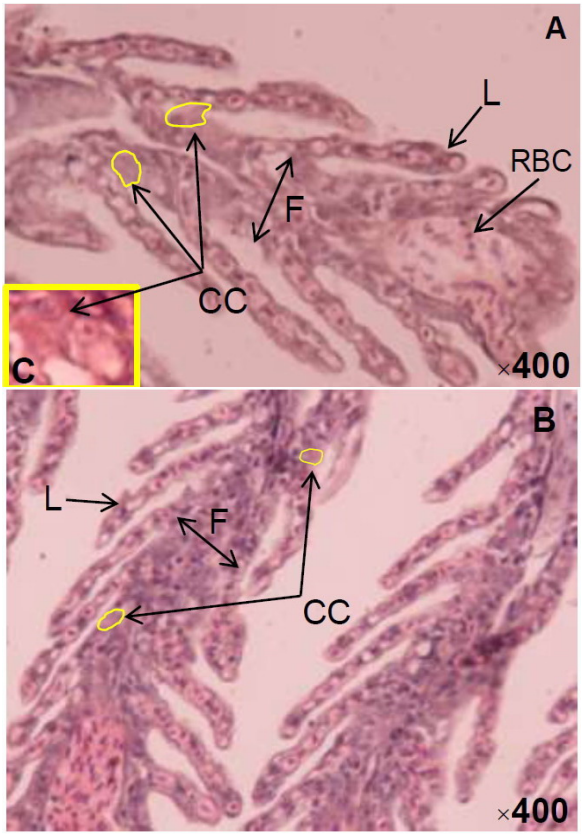
شکل A : تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه ماهی سفید ۱ گرمی سازگار شده با آب شیرین، با روش ایمونوهیستوشیمی

شکل B: تصویر مکان یابی ایمنیایی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بافت آبشش بچه ماهی سفید ۱ گرمی ۲٤۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر ، با روش ایمونوهیستوشیمی

شکل c: سلول کلراید فیلامنتی واجد ایمونوفلورسانس

علامت های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)



تصویر ٦:

شکل A : تصویر بافت شناسی با رنگ آمیزی ائوزین – هماتوکسیلین از بافت آبشش بچه ماهی سفید (سه گرم) سازگار شده با آب شیرین – سلول های کلراید روی فیلامنت در ناحیه بین لاملا مشخص اند.

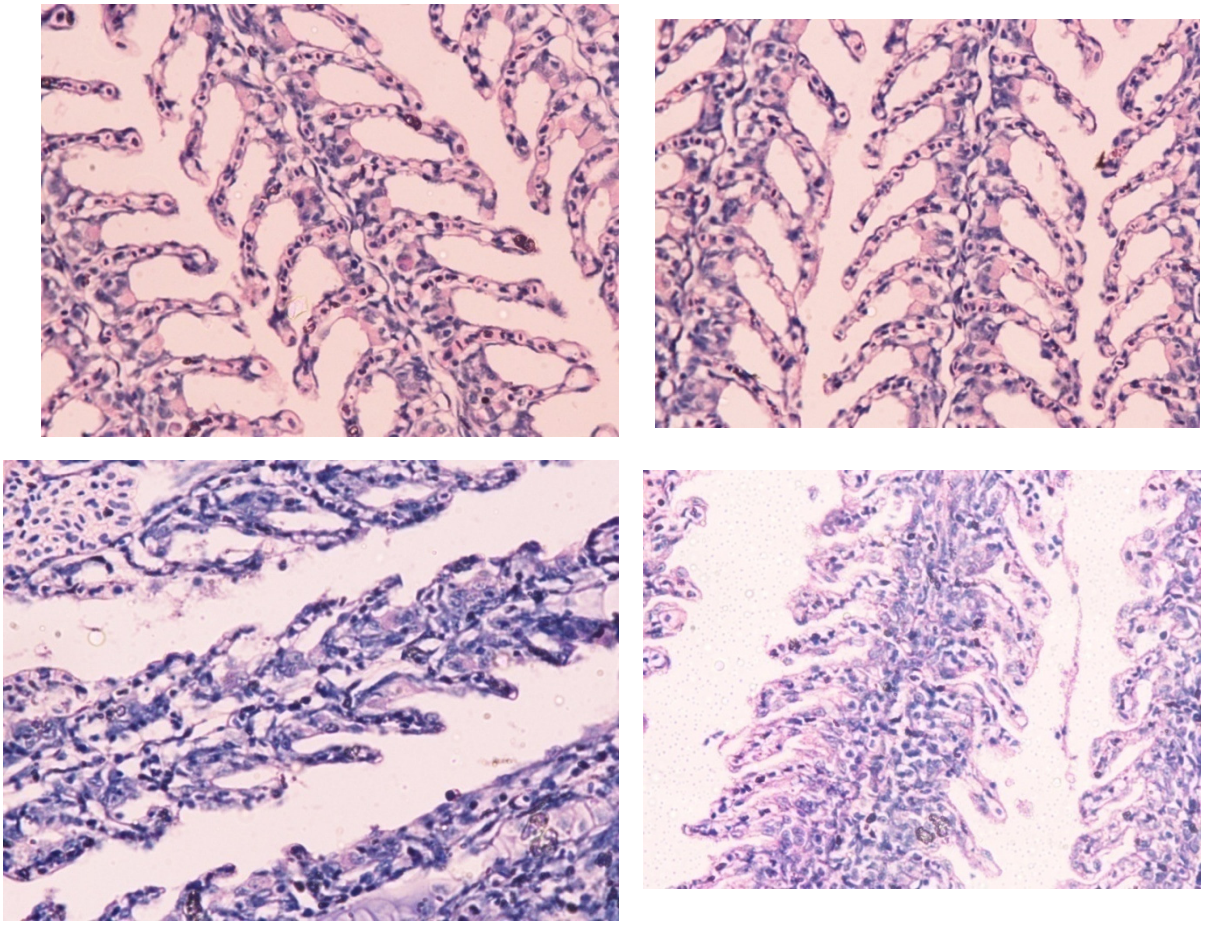
شکل B: تصویر بافت شناسی با رنگ آمیزی ائوزین – هماتوکسیلین از بافت آبشش بچه ماهی سفید (نیم گرم) ۲٤۰ ساعت پس از ورود به آب دریای خزر

شکل C: تصویر بزرگ شده از سلول کلراید فیلامنتی

علامت های اختصاری:

C : غضروف (Cartilage)، CC: سلول کلراید (Chloride cell)، F: رشته آبششی (Filament)، L: تیغه آبششی (Lamella)، RBC: گلبول قرمز خون (Red Blood Cell)

در بررسی تصاویر گرفته شده پس از انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به تیمار آب دریای خزر و آب لب شور ۷ در هزار در مقطع زمانی ۶ ساعت، تغییر شکل در بافت مشاهده گردید. بطوری که بافت آب خود را از دست داده ولی پس از ۲۴ ساعت شکل خود را به دست آورده، کم کم پس از ۱۰ روز کاملاً خود را سازگار ساخته و شکل اولیه خود را به دست می آورد (تصویر ۷).



تصویر۷: نمایی از برش طولی بافت آبشش بچه ماهی سفید ۱ گرمی دریای خزر با بزرگنمایی X400

٤-۲-۳- نتایج بافت شناسی کلیه در بچه ماهیان سفید ۰/۵ ، ۱ و ۲/۵ گرم

- نتایج اندازه گیری مساحت شبکه گلومرولی در بچه ماهیان بین ساعات ۳ و ۲۴۰ به تفکیک اوزان مختلف (۰/۵ و ۲/۵ گرم) و شوریهای مورد بررسی

جدول ۱۳: مساحت شبکه گلومرولی در ساعت ۳ و ۲٤۰ به تفکیک ساعت و اوزان مختلف (میکرومترمربع)

ساعت / تیمار	۳	۲۴۰
آب شیرین- ۰/۵ گرم	۷۸۲/۵ ± ۲۰۵/۲ a	۸۲۰/۸ ± ۲۰۷/۶ a
آب شیرین – ۲/۵ گرم	۷۵۴/۶ ± ۱۷۴/۵ a	۶۹۶/۸ ± ۲۳۳/۷ a
آب ۷ در هزار- ۰/۵ گرم	۸۰۶/۲ ± ۲۰۸/۱ b	۶۷۱/۹ ± ۱۸۷/۴ a
آب ۷ در هزار – ۲/۵ گرم	۹۴۱/۷ ± ۲۴۰/۵ b	۷۱۰/۱ ± ۲۰۲/۱ a
آب دریای خزر – ۰/۵ گرم	۵۶۹/۵ ± ۲۱۸/۷ a	۷۰۴/۵ ± ۳۳۸ a
آب دریای خزر – ۲/۵ گرم	۷۱۸/۸ ± ۲۰۲/۵ a	۷۲۵/۶ ± ۱۹۴/۹ a

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین و وزن ۰/۵ گرم و درآب شیرین و وزن ۲/۵ گرم بین ساعت ۳ و ۲۴۰ از نظر مساحت شبکه گلومرولی در بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

بچه ماهی سفید با وزن ۰/۵ و ۲/۵گرم در ساعات ۳ و ۲۴۰ درآب لب شور ۷ در هزار از نظر مساحت شبکه گلومرولی اختلاف معنی دار آماری نشان می دهد (P<0.05).

درآب دریای خزر و وزن ۰/۵ گرم: بین ساعت ۳ و ۲۴۰ از نظر مساحت شبکه گلومرولی در بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

- درآب دریای خزر و وزن ۲/۵گرم: بین ساعت ۳ و ۲۴۰ از نظر مساحت شبکه گلومرولی در بچه ماهیان سفیداختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05). (جدول ۱۱)

نتایج اندازه گیری محیط شبکه گلومرولی در بچه ماهیان بین ساعات ۳ و ۲۴ به تفکیک اوزان مختلف(۰/۵ و ۲/۵ گرم) شوریهای مورد بررسی

جدول ١٤ : محیط شبکه گلومرولی (میکرومتر مکعب) در ساعت ۳ و ۲٤۰ به تفکیک ساعت و اوزان مختلف

ساعت / تیمار	۳	۲۴۰
آب شیرین- ۰/۵ گرم	۱۰۸/۲ ± ۱۴/۷ a	۱۱۰/۵ ± ۱۴/۳ a
آب شیرین – ۲/۵ گرم	۱۰۶/۸ ± ۱۲/۸ a	۱۰۳/۳ ± ۱۸/۵ a
آب لب شور ۷ در هزار- ۰/۵ گرم	۱۱۱/۵ ± ۱۵/۶ b	۹۹/۳ ± ۱۳/۱ a
آب لب شور ۷ در هزار – ۲/۵ گرم	۱۱۸/۴ ± ۱۶/۲ b	۱۰۲/۹ ± ۱۵/۳ a
آب دریای خزر – ۰/۵ گرم	۹۱/۵ ± ۱۷/۶ a	۱۰۱/۶ ± ۲۴/۶ a
آب دریای خزر – ۲/۵ گرم	۱۰۴/۱ ± ۱۶/۳ a	۱۰۵/۳ ± ۱۳/۹ a

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

جدول ۱۵: محیط و مساحت شبکه گلومرولی در بچه ماهیان سفید در تیمارهای ترکیبی

تیمار	مساحت شبکه گلومرولی (میکرومترمربع)	محیط شبکه گلومرولی (میکرومترمکعب)
۰/۵ گرم – ساعت ۳	۷۵۷/۹ ± ۲۲۳/۸ [a]	۱۰۶/۹ ± ۱۷ [a]
۰/۵ گرم – ساعت ۲۴۰	۷۱۰/۲ ± ۲۱۰ [a]	۱۰۲/۲ ± ۱۴/۸ [a]
۲/۵ گرم – ساعت ۳	۷۴۳/۵ ± ۱۹۴/۲ [a]	۱۰۵/۹ ± ۱۴/۹ [a]
۲/۵ گرم – ساعت ۲۴۰	۷۱۳/۸ ± ۲۰۷ [a]	۱۰۴/۲ ± ۱۵/۶ [a]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

- با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که وزن ماهیان و ساعات مورد بررسی هر دو اثر متقابلی بر روی مساحت شبکه گلومرولی ندارند (P>0.05).
- با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که وزن ماهیان و ساعات مورد بررسی هر دو اثر متقابلی بر روی محیط شبکه گلومرولی ندارند (P>0.05).

نتایج اندازه گیری مساحت شبکه گلومرولی در بافت کلیه بچه ماهیان سفید ۱ گرمی در زمانها و شوری های مختلف

جدول ۱۶: تغییرات میانگین مساحت شبکه گلومرولی (میکرومترمربع) در بافت کلیه بچه ماهیان سفید ۱ گرمی در زمانهای مورد بررسی

زمان	۰	۶	۲۴	۷۲	۲۴۰
آب شیرین	۱۱۳۸/۶۷ ± ۱۴۷/۷ [b]	۱۱۳۸/۴۵ ± ۱۴۷/۹۵ [b]	۱۱۳۸/۵۱ ± ۱۴۷/۸۷ [b]	۱۱۳۸/۴۸ ± ۱۴۸/۱۷ [b]	۱۱۳۸/۵۴ ± ۱۴۸/۳ [b]
شوری ۷ در هزار	۱۱۳۸/۳۴ ± ۱۴۷/۹۲ [b]	۱۰۹۳/۸۳ ± ۳۷/۱۸ [b]	۸۰۵/۴۳ ± ۱۳/۳۲ [a]	۸۱۸/۰۸ ± ۱۶/۱۱ [a]	۸۲۸/۹۷ ± ۱۰/۵۹ [a]
آب دریای خزر	۱۱۳۸/۵۴ ± ۱۴۷/۷۸ [b]	۱۰۶۰/۵۵ ± ۵۲/۷۲ [b]	۷۹۳/۶۵ ± ۱۵/۱۵ [a]	۸۰۷/۲۶ ± ۱۱/۶۶ [a]	۸۱۵/۳۳ ± ۸/۸۲ [a]

*حروف لاتین غیر مشترک، نشان دهنده اختلاف بین تیمارها است (p<0.05).

نتایج فوق نشان داد که پس از انتقال ماهی به محیط شورتر، آب از بدن ماهی خارج گردید به همین دلیل کاهش سطح شبکه گلومرولی بوقوع پیوسته است. بطوریکه سطح شبکه گلومرولی در ساعات مختلف قرار گیری در آب شیرین فاقد اختلاف معنی دار ، در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر کاهش سطح شبکه گلومرولی اتفاق افتاده که حاکی از کاهش تصفیه گلومرولی جهت حفظ و تعادل آب بدن ماهی در رویارویی با محیط شورتر می باشد (جدول ۱۴).

۵-۲-۳-نتایج اندازه گیری فشاراسمزی و یون های پلاسما در بچه ماهیان سفید

بچه ماهیان ۰/۵ گرم

- فشار اسمزی (**Osmolarity**)

نتایج سنجش فشار اسمزی (**Osmolarity**)مایع میان بافتی بچه ماهیان ۰/۵ گرمی در ساعات و شوری های مختلف نشان داد که شاخص اسمولاریته پس از ۲۴۰ ساعت ماندگاری ماهی در معرض شوری های ۷ در هزار و آب دریای خزر بطور معنی داری بالاتر از زمان صفر بود(**P<0.05**) که حاکی از عدم تعادل اسمزی در این گروه وزنی در مواجهه با محیط شورتر می باشد.

جدول ۱۷ : مقادیر فشار اسمزی مایع میان بافتی بچه ماهیان سفید ۰/۵ گرمی بین ساعات مختلف (میلی اسمول در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۲۴۰
۰/۵ گرمی	آب شیرین	۶۲۳/۵ ± ۰/۷۱ [a]	۶۷۹/۶۷ ± ۴۵/۳۹ [a]
	آب لب شور (7S)	۶۲۳/۵ ± ۰/۷۱ [a]	۶۶۶/۶۷ ± ۸/۳۹ [b]
	آب دریای خزر	۶۲۳/۵ ± ۰/۷۱ [a]	۶۹۰/۵ ± ۰/۷۱ [b]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

نتایج اندازه گیری فشار اسمزی مایع میان بافتی بچه ماهیان سفید ۰/۵ گرمی نشان داد که درآب شیرین، بین ساعت ۰ و ۲۴۰ از نظر فشار اسمزی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید(P>0.05). درآب لب شور(۷ در هزار) و آب دریای خزر بین ساعت ۰ و ۲۴۰ از نظر فشار اسمزی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید(P<0.05).

بچه ماهیان ۲/۵ گرمی

۱- فشار اسمزی (**Osmolarity**):

بچه ماهیان ۲/۵ گرمی درشوری ها و ساعات مختلف:

جدول ۱۸: مقادیر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵گرمی بین ساعات مختلف (میلی اسمول در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [a]	۳۶۳/۵ ± ۹/۱۹ [a]	۳۴۰/۵ ± ۰/۷۱ [a]	۳۳۹/۶۷ ± ۱۵/۱۴ [a]
	آب لب شور (7S)	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [a]	۳۷۷/۵ ± ۶/۳۶ [a]	۳۵۷ ± ۱/۴۱ [a]	۳۷۴/۶۷ ± ۱۹/۵۵ [a]
	آب دریای خزر	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [a]	۳۸۴/۵ ± ۶/۳۶ [b]	۳۹۱ ± ۴/۲۴ [bc]	۴۰۵/۳۳ ± ۳/۵۱ [c]

*ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

در آب شیرین و آب لب شور (۷ در هزار)، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05). درآب دریای خزر، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P<0.05) بطوریکه پس از قرار گیری ماهی در آب دریای خزر ، فشار اسمزی در ساعات مختلف روند صعودی راطی کرده و در زمان ۲۴۰ ساعته به بیشترین مقدار حدود **۴۰۵/۳۳ ± ۳/۵۱** میلی اسمول در لیتر رسیده که نسبت به زمان صفر معنی دار بوده است.

جدول ۱۹ : مقادیر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی بین ساعات و شوریهای مختلف

تیمار	فشار اسمزی (میلی اسمول در لیتر)
آب شیرین- زمان ۰ ساعت	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [ab]
آب شیرین- زمان ۳ ساعت	۳۶۳/۵ ± ۹/۱۹ [abc]
آب شیرین – زمان ۷۲ ساعت	۳۴۰/۵ ± ۰/۷۱ [a]
آب شیرین – زمان ۲۴۰ ساعت	۳۳۹/۶۷ ± ۱۵/۱۴ [a]
آب لب شور- زمان ۰ ساعت	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [ab]
آب لب شور - زمان ۳ ساعت	۳۷۷/۵ ± ۶/۳۶ [bc]
آب لب شور – زمان ۷۲ ساعت	۳۵۷ ± ۱/۴۱ [abc]
آب لب شور – زمان ۲۴۰ ساعت	۳۷۴/۶۷ ± ۱۹/۵۵ [bc]
آب دریای خزر- زمان ۰ ساعت	۳۵۰ ± ۷/۲۱ [ab]
آب دریای خزر- زمان ۳ ساعت	۳۸۴/۵ ± ۶/۳۶ [cd]
آب دریای خزر – زمان ۷۲ ساعت	۳۹۱ ± ۴/۲۴ [cd]
آب دریای خزر – زمان ۲۴۰ ساعت	۴۰۵/۳۳ ± ۳/۵۱ [d]

*ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

با توجه به آزمون آنالیز واریانس دو عامله مشخص گردید که شوری و زمان هر دو اثر متقابلی روی فشار اسمزی داشتند (P<0.05).

۲- غلظت یون سدیم

جدول ۲۰: غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات مختلف ، درگروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۱۴۲ ± ۳ ^{c}	۱۳۶/۵ ± ۲/۱۲ ^{bc}	۱۱۸ ± ۱۱/۳۱ ^{a}	۱۲۷ ± ۳ ^{ab}
	آب لب شور (7S)	۱۴۲ ± ۳ ^{bc}	۱۰۹ ± ۵/۶۶ ^{a}	۱۲۹ ± ۱۵/۵۶ ^{ab}	۱۵۳ ± ۴/۳۶ ^{c}
	آب دریای خزر	۱۴۲ ± ۳ ^{a}	۱۳۰ ± ۱۸/۳۸ ^{a}	۱۵۰/۵ ± ۳۴/۶۵ ^{a}	۱۶۴/۳۳ ± ۲۲/۱۹ ^{a}

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P<0.05).

درآب لب شور(۷ در هزار)، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P<0.05).

درآب دریای خزر، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

۳- غلظت یون کلر (Cl):

جدول ۲۱: غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات مختلف ، درگروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۱۲۲ ± ۷/۵۵ a	۱۱۰ ± ۱/۴۱ a	۱۱۷/۵ ± ۲/۱۲ a	۱۰۸/۳ ± ۵/۰۳ a
	آب لب شور (7S)	۱۲۲ ± ۷/۵۵ a	۱۱۶ ± ۱/۴۱ a	۱۲۷ ± ۴/۲۴ a	۱۱۵/۳۳ ± ۹/۰۲ a
	آب دریای خزر	۱۲۲ ± ۷/۵۵ a	۱۱۰/۵ ± ۱۲/۰۲ a	۱۲۷/۵ ± ۶/۳۶ a	۱۲۴/۳۳ ± ۴/۱۶ a

- ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

نتایج اندازه گیری غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵گرمی درساعات مختلف به تفکیک هر تیمار شوری:

درآب شیرین، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

درآب لب شور(۷ در هزار)، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

- درآب دریای خزر، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

۴- غلظت یون پتاسیم (K):

جدول ۲۲:غلظت یون پتاسییم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات مختلف ، درگروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (میلی اکی والان در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ ab	۲/۸ ± ۰ a	۳ ± ۰/۱۴ a	۶/۳۳ ± ۱/۰۷ b
	آب لب شور (7S)	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ a	۲/۰۵ ± ۰/۰۷ a	۳/۲ ± ۰/۱۴ a	۴/۷۷ ± ۱/۱۸ a
	آب دریای خزر	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ a	۲/۳۵ ± ۰/۶۴ a	۲/۶۵ ± ۰/۶۴ a	۳/۳۷ ± ۰/۸۵ a

*ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون پتاسیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P<0.05). درآب لب شور(۷ در هزار) و آب دریای خزر، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر غلظت یون پتاسیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).

۵- غلظت یون کلسیم (**Ca**):

جدول۲۳: غلظت یون کلسیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات مختلف ، درگروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (میلی گرم در دسی لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ ^{a}	۱۰/۴۵ ± ۰/۲۱ ^{a}	۱۰/۱۵ ± ۰/۳۵ ^{a}	۹/۵۳ ± ۰/۷۸ ^{a}
	آب لب شور (7S)	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ ^{a}	۱۲/۱۵ ± ۰/۰۷ ^{b}	۱۰/۴۵ ± ۰/۳۵ ^{ab}	۱۰/۸۷ ± ۰/۷۱ ^{ab}
	آب دریای خزر	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ ^{a}	۱۲/۴۵ ± ۰/۲۱ ^{b}	۱۱/۵ ± ۰/۷۱ ^{ab}	۱۱/۸۳ ± ۰/۵۵ ^{b}

*ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر کلسیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).درآب لب شور(۷ در هزار) و آب دریای خزر بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر کلسیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید (P<0.05).

۶- غلظت یون منیزیم (**Mg**):

جدول ۲۲ : غلظت یون منیزیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات مختلف ، درگروه شاهد و پس از انتقال به تیمارهای شوری (میلی گرم در دسی لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۳/۶۷ ± ۰/۵ ^{a}	۳/۸۵ ± ۰/۷۸ ^{a}	۳/۲۵ ± ۰/۰۷ ^{a}	۳/۱۳ ± ۰/۰۶ ^{a}
	آب لب شور (7S)	۳/۶۷ ± ۰/۵ ^{a}	۵/۶۵ ± ۰/۶۴ ^{b}	۳/۹۵ ± ۰/۵ ^{ab}	۴/۳۷ ± ۰/۴۶ ^{ab}
	آب دریای خزر	۳/۶۷ ± ۰/۵ ^{a}	۶/۸۵ ± ۰/۰۷ ^{b}	۴/۵ ± ۰/۴۲ ^{a}	۴/۹۳ ± ۰/۶ ^{a}

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

درآب شیرین، بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر منیزیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05).درآب لب شور(۷ در هزار) و درآب دریای خزر بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر منیزیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید(P<0.05).

۷- هورمون کورتیزول :

جدول ۲۳ : مقادیر غلظت کورتیزول پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی در ساعات و تیمارهای مختلف شوری (نانو گرم در لیتر)

گروه وزنی	زمان (h) / تیمار شوری	۰	۳	۷۲	۲۴۰
۲/۵ گرمی	آب شیرین	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ [a]	۱۱۴۲/۵ ± ۱۳/۴۳ [a]	۱۰۲۰/۵ ± ۳۷/۴۸ [a]	۸۳۹ ±۲۸/۴۸ [a]
	آب لب شور (7S)	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ [a]	۸۱۰/۵ ± ۱۳۳/۶۴ [a]	۸۸۶ ± ۴۲/۴۳ [a]	۹۹۸/۳۳ ± ۷۱/۹۹ [a]
	آب دریای خزر	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ [a]	۶۵۲/۵ ±۱۳۷/۸۹ [a]	۸۳۹ ± ۲۹/۷ [a]	۹۴۶ ± ۱۴۶/۰۴ [a]

ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

در هر سه تیمار شوری بین ساعات مختلف مورد بررسی از نظر کورتیزول پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05). البته در محیط شورتر میزان کورتیزول کمی بالاتر رفته ولی این افزایش معنی دار نیست.

جدول ۲٤ : مقایسه هر یک فاکتورهای پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵گرمی در ساعات و شوری های مختلف

تیمار	Cl	Na	K	Ca	Mg	Cortisol
آب شیرین- زمان ۰ ساعت	۱۲۲ ±۷/۵۵ [a]	۱۴۲ ± ۳ [ab]	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ [a]	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ [a]	۳/۶۷ ± ۰/۵ [ab]	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ [a]
آب شیرین- زمان ۳ ساعت	۱۱۰ ± ۱/۴۱ [a]	۱۳۶/۵ ± ۲/۱۲ [ab]	۲/۸ ± ۰ [a]	۱۰/۴۵ ± ۰/۲۱ [abc]	۳/۸۵ ± ۰/۷۸ [ab]	۱۱۴۲/۵ ± ۱۳/۴ [a]
آب شیرین – زمان ۷۲ ساعت	۱۱۷/۵ ± ۲/۱۲ [a]	۱۱۸ ± ۱۱/۳۱ [a]	۳ ± ۰/۱۴ [ab]	۱۰/۱۵ ± ۰/۳۵ [abc]	۳/۲۵ ± ۰/۰۷ [a]	۱۰۲۰/۵ ± ۳۷/۵ [a]

آب شیرین – زمان ۲۴۰ ساعت	۱۰۸/۳۳ ± ۵/۰۳ a	۱۲۷ ± ۳ ab	۶/۳۳ ± ۱/۰۷ b	۹/۵۳ ± ۰/۷۸ ab	۳/۱۳ ± ۰/۰۶ a	۸۳۹ ± ۲۸/۵ a
آب لب شور- زمان ۰ ساعت	۱۲۲ ± ۷/۵۵ a	۱۴۲ ± ۳ ab	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ ab	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ a	۳/۶۷ ± ۰/۵ ab	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ a
آب لب شور - زمان ۳ ساعت	۱۱۶ ± ۱/۴۱ a	۱۰۹ ±۵/۶۶ a	۲/۰۵ ± ۰/۰۷ a	۱۲/۱۵ ± ۰/۰۷ bc	۵/۶۵ ± ۰/۶۴ cd	۸۱۰/۵ ± ۱۳۳/۶ a
آب لب شور – زمان ۷۲ ساعت	۱۲۷ ± ۴/۲۴ a	۱۲۹ ± ۱۵/۵۶ ab	۳/۲ ±۰/۱۴ ab	۱۰/۴۵ ± ۰/۳۵ abc	۳/۹۵ ± ۰/۵ abc	۸۸۶ ± ۴۲/۴ a
آب لب شور – زمان ۲۴۰ ساعت	۱۱۵/۳۳ ± ۹/۰۲ a	۱۵۳ ± ۴/۳۶ ab	۴/۷۷ ± ۱/۱۸ ab	۱۰/۸۷ ± ۰/۷۱ bc	۴/۳۷ ± ۰/۴۶ abc	۹۹۸/۳ ± ۷۱/۹ a
آب دریای خزر- زمان ۰ ساعت	۱۲۲ ± ۷/۵۵ a	۱۴۲ ± ۳ ab	۴/۸۷ ± ۱/۲۹ ab	۹/۱۳ ± ۱/۱۷ a	۳/۶۷ ± ۰/۵ ab	۸۳۴/۳ ± ۱۹۷/۸ a
آب دریای خزر- زمان ۳ ساعت	۱۱۰/۵ ± ۱۲/۰۲ a	۱۳۰ ± ۱۸/۳۹ ab	۲/۳۵ ± ۰/۶۴ a	۱۲/۴۵ ± ۰/۲۱ c	۶/۸۵ ± ۰/۰۷ d	۶۵۲/۵ ± ۱۳۷/۹ a
آب دریای خزر – زمان ۷۲ ساعت	۱۲۷/۵ ± ۶/۳۶ a	۱۵۰/۵ ± ۳۴/۶۵ ab	۲/۶۵ ± ۰/۶۴ a	۱۱/۵ ± ۰/۷۱ bc	۴/۵ ± ۰/۴۲ abc	۸۳۹/۰ ± ۲۹/۷ a
آب دریای خزر – زمان ۲۴۰ ساعت	۱۲۴/۳۳ ± ۴/۱۶ a	۱۳۸/۵۷ ± ۱۷/۹۹ b	۳/۳۷ ± ۰/۸۵ ab	۱۱/۸۳ ± ۰/۵۵ bc	۴/۹۳ ± ۰/۶ bc	۹۴۶ ± ۱۴۶ a

*ارقام دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار می باشند (آزمون توکی **P>0.05**)

- در ترکیب های ساعت و تیمارهای مورد بررسی از نظر کلر و کورتیزول پلاسمای خون بچه ماهیان سفید ۲/۵ گرمی اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید (P>0.05). ولی سایر شاخص ها دارای تفاوت معنی دار بوده اند(P<0.05).

بچه ماهیان ۵ ، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی (جداول در قسمت ضمیمه وجود دارد)

۱- نتایج اندازه گیری یون کلر پلاسمای خون بچه ماهیان سفید در تیمارهای مختلف شوری و اوزان مختلف:

- بچه ماهیان ۵ گرمی:

- کلر پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده نگردید (P>0.05).

- کلر پلاسمای خون در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده گردید (P<0.05). بطوریکه میزان این یون در زمان انتهایی (۲۴۰ ساعت) افزایش معنی داری را نسبت به زمان صفر نشان داده و ماهی نتوانسته در اثر تبادلات یونی ، میزان آن را به زمان صفر نزدیک نماید.

- بچه ماهیان ۱۰ گرمی:

- میزان کلر پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده نگردید (P>0.05).

همچنین مقدار این یون در پلاسمای خون ماهی در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که تفاوت معنی دار زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده گردید (P<0.05). در ضمن مقدار این یون در زمان انتهایی ۲۴۰ ساعت نسبت به زمان صفر تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد بنابراین ماهی قادر بوده سطح یون را به سطح اولیه بواسطه تبادلات یونی نزدیک نماید.

- بچه ماهیان ۱۵ گرمی:

- میزان یون کلر پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده نگردید (P>0.05).

- میزان یون کلر پلاسمای خون در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده گردید (P<0.05). در حقیقت سطح این یون پس از ۲۴۰ ساعت قرار گیری ماهی در محیط شورتر به سطح اولیه رسیده و تفاوت معنی داری نسبت به زمان صفر نشان نمی دهد.

- بچه ماهیان ۲۰ گرمی:

غلظت کلر پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده نگردید (P>0.05).

غلظت کلر پلاسمای خون در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور کلر مشاهده گردید (P<0.05). گرچه این اختلافات تا ۳ روز اول بوقوع پیوسته ولی پس از آن غلظت این یون به سطح اولیه نزدیک شده و در زمان انتهایی با زمان صفر تفاوت نشان نداده که حاکی از مکانیزم تنظیمی این یون می باشد.

۲- فشار اسمزی : (جدول در ضمیمه)

نتایج اندازه گیری مقادیر فشار اسمزی پلاسمای خون بچه ماهیان سفید در تیمارهای مختلف شوری و اوزان مختلف:

- بچه ماهیان ۵ گرمی:

فشار اسمزی پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید (P>0.05).

فشار اسمزی پلاسمای خون در آب لب شور ۷ در هزار و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده گردید (P<0.05). در نهایت (پس از ۲۴۰ ساعت) ، میزان فشار اسمزی به ۹/۶ ± ۳۵۲ رسید که نسبت به زمان صفر (زمان قرار گیری ماهی در آب شیرین) ۷/۵ ± ۳۲۳/۳۳ افزایش معنی داری نشان می دهد که حاکی از عدم مکانیزم تنظیمی در این گروه وزنی می باشد.

اسمولاریته پلاسمای خون در آب دریای خزر و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده گردید (P<0.05). در نهایت (پس از ۲۴۰ ساعت) ، میزان فشار اسمزی به ۵/۵ ± ۳۶۰/۳۳ رسید که نسبت به زمان صفر (زمان قرار گیری ماهی در آب شیرین) ۷/۱ ± ۳۲۶/۳۳ افزایش معنی داری نشان می دهد.

- بچه ماهیان ۱۰ گرمی:

میزان اسمولاریته پلاسمای خون در آب شیرین و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید (P>0.05).

فشار اسمزی پلاسمای خون در آب لب شور ۷ در هزار و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید(P>0.05).

فشار اسمزی پلاسمای خون در آب دریای خزر و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید (P>0.05). بنابراین پس از انتقال ماهی به

محیط شورتر، ماهی توانسته با تبادلات یونی سطح اسمولاریته را به حالت تعادل یعنی نزدیک به زمان صفر نگه دارد.

- بچه ماهیان ۱۵ گرمی:

اسمولاریته پلاسمای خون در آب شیرین ، در آب لب شور ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید (P>0.05). بنابراین مکانیزم تنظیمی در این گروه وزنی نیز مشاهده می شود.

- بچه ماهیان ۲۰ گرمی:

اسمولاریته پلاسمای خون در آب شیرین ، در آب لب شور ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور اسموتیک مشاهده نگردید (P>0.05). بنابراین مکانیزم تنظیمی در این گروه وزنی نیز مشاهده می شود.

۳- غلظت یون سدیم :

نتایج اندازه گیری مقادیر سدیم پلاسمای خون بچه ماهیان سفید در تیمارهای مختلف شوری و اوزان مختلف:

- بچه ماهیان ۵ گرمی:

سدیم خون در آب شیرین و در زمان های مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور سدیم مشاهده نگردید (P>0.05).

پس از انتقال ماهی به آب لب شور ۷ در هزار و آب دریای خزر با شوری بیش از ۱۱ در هزار ، اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین غلظت سدیم مشاهده گردید (P>0.05). بطوریکه در تیمار ۷ در هزار ، غلظت یون از ۱/۳۴ ± ۱۲۸/۶

در زمان صفر به ۴/۳۱ ± ۱۳۴/۹۷ میلی اکی والان در لیتر در زمان ۲۴۰ ساعت رسیده و در آب دریای خزر از ۲/۲۳ ± ۱۳۱/۷ به ۲/۷۹ ± ۱۴۱/۹ میلی اکی والان در لیتر رسیده که این افزایش معنی دار بوده است.

- بچه ماهیان ۱۰ گرمی:

میزان سدیم پلاسمای خون در تیمارهای شوری آب شیرین ، ۷ در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور سدیم مشاهده نگردید (P<0.05).

- بچه ماهیان ۱۵ گرمی:

پس از انتقال ماهی ۱۵ گرمی به سه تیمار شوری، میزان سدیم پلاسمای خون در زمانهای مختلف اختلافی نشان نداد (P>0.05).که حاکی از مکانیزم تنظیمی در مورد تبادل یون سدیم می باشد.

- بچه ماهیان ۲۰ گرمی:

پس از انتقال ماهی ۲۰ گرمی به سه تیمار شوری، میزان سدیم پلاسمای خون در زمانهای مختلف اختلافی نشان نداد ($P>0.05$).که حاکی از مکانیزم تنظیمی در مورد تبادل یون سدیم می باشد ($P<0.05$).

۴- آنزیم Na^+,K^+- ATPase :

جدول۲۵: میزان فعالیت آنزیم Na^+,K^+- ATPase (µmol P/mg protein/h) بچه ماهیان سفید در تیمارهای مختلف شوری و اوزان مختلف

گروه وزنی	زمان / تیمار شوری	۰	۳	۱۲	۲۴	۷۲	۲۴۰
۵ گرمی	آب شیرین	۳/۶۶ ± ۰/۰	۳/۵۳ ± ۰/۰	۳/۷۴ ± ۰/۰	۳/۷۱ ± ۰/۰	۳/۶۹ ± ۰/۰	۳/۷۳ ± ۰/۰
	آب لب شور	۴/۰۹ ± ۰/۲۱ ab	۴/۲۹۷ ± ۰/۲۸ ab	۳/۹۸ ± ۰/۱۷ a	۴/۰۸ ± ۰/۱۹ ab	۴/۶۱ ± ۰/۳۹ ab	۴/۸۴ ± ۰/۴۷ b
	آب دریای خزر	۳/۹۸ ± ۰/۲۷ a	۴/۸ ± ۰/۴ a	۴/۱۸ ± ۰/۸۲ a	۳/۸۸ ± ۰/۶۹ a	۵/۱۴ ± ۰/۳۳ ab	۶/۲۹ ± ۰/۳۴ b
۱۰ گرمی	آب شیرین	۴/۲۵ ± ۰/۰	۴/۳۴ ± ۰/۰	۴/۳۵ ± ۰/۰	۴/۲۶ ± ۰/۰	۴/۱ ± ۰/۰	۴/۲۱ ± ۰/۰
	آب لب شور	۴/۴۹ ± ۰/۱۹ a	۵/۱ ± ۰/۲۲ a	۴/۷۶ ± ۰/۳۵ a	۴/۵۲ ± ۰/۳ a	۴/۵۱ ± ۰/۲۹ a	۴/۶۵ ± ۰/۴۱ a
	آب دریای خزر	۴/۴۱ ± ۰/۴۲ a	۴/۸۹ ± ۰/۶۱ a	۴/۷۳ ± ۰/۳۴ a	۴/۸۱ ± ۰/۴۸ a	۴/۷۴ ± ۰/۳۸ a	۴/۸۴ ± ۰/۳ a
۱۵ گرمی	آب شیرین	۴/۷۸ ± ۰/۰	۴/۹۱ ± ۰/۰	۴/۷ ± ۰/۰	۵/۳۷ ± ۰/۰	۴/۸۳ ± ۰/۰	۴/۹۲ ± ۰/۰
	آب لب شور	۴/۸۷ ± ۰/۲۳ a	۷/۲۹ ± ۰/۳۳ b	۵/۸۵ ± ۱/۵۱ ab	۵/۹۲ ± ۰/۹۳ ab	۵/۸۶ ± ۰/۷۷ ab	۵/۶۹ ± ۰/۶۶ ab
	آب دریای خزر	۵/۶۱ ± ۰/۴۴ a	۹/۶۳ ± ۱/۴۲ b	۴/۲۸ ± ۱/۱۲ a	۴/۸۹ ± ۰/۴۷ a	۵/۹۹ ± ۰/۵۴ a	۵/۵۱ ± ۰/۳۵ a
۲۰ گرمی	آب شیرین	۴/۳۵ ± ۰/۰	۴/۲۲ ± ۰/۰	۴/۴۸ ± ۰/۰	۴/۲۹ ± ۰/۰	۴/۵۱ ± ۰/۰	۴/۴۵ ± ۰/۰
	آب لب شور	۴/۶۹ ± ۰/۴۷a	۵/۶۹ ± ۰/۵ ab	۵/۹۷ ± ۰/۲۵ b	۵/۰۴ ± ۰/۵۴ ab	۵/۱۹ ± ۰/۲۲ ab	۵/۱ ± ۰/۱۷ ab
	آب دریای خزر	۴/۷۸ ± ۰/۳۶ a	۹/۸۴ ± ۳/۰۴ b	۷/۳۳ ± ۱/۸۹ ab	۵/۳۶ ± ۰/۴۷ a	۵/۷۲ ± ۰/۴۷ a	۵/۷۸ ± ۰/۲۴ ab

نتایج اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم Na^+,K^-- ATPase بافت آبشش بچه ماهیان سفید در تیمارهای مختلف شوری و اوزان مختلف:

- بچه ماهیان ۵ گرمی:

میزا ن فعالیت آنزیم Na^+,K^-- ATPase در دو تیمار ۷در هزار و آب دریای خزر در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین آنزیم مشاهده گردید ($P<0.05$).بطوریکه از ۰/۲۱ ± ۴/۰۹(زمان صفر) به ۰/۴۷ ± ۴/۸۴ (۲۴۰ ساعت)در محیط ۷ در هزار و از ۰/۲۷ ± ۳/۹۸ (زمان صفر) به ۰/۳۴ ± ۶/۲۹ (زمان ۲۴۰ ساعت) در محیط دریای خزر رسیده است.

- بچه ماهیان ۱۰ گرمی:

فعالیت آنزیم فوق الذکر در آب لب شور و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فعالیت آنزیم مشاهده نگردید ($P>0.05$).

آنزیم فوق الذکر در آب دریای خزر و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین آنزیم مشاهده نگردید (P>0.05).

- بچه ماهیان ۱۵ گرمی:

آنزیم فوق الذکر در آب لب شور ۷ در هزار و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین آنزیم مشاهده گردید (P<0.05). بطوریکه فعالیت آنزیم دارای نوساناتی در ساعات مختلف بوده و پس از ۳ ساعت قرار گیری ماهی در این محیط به حداکثر (۰/۳۳ ± ۷/۲۹) رسیده و پس از آن با اندکی افزایش نسبت به سطح اولیه ادامه یافته است.

آنزیم فوق الذکر در آب دریای خزر و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین آنزیم مشاهده گردید (P<0.05). پس از ۳ ساعت قرار گیری ماهی در این محیط به حداکثر (۱/۴۲ ± ۹/۶۳) رسیده و پس از آن با اندکی نوسان به سطح اولیه نزدیک شده است.

- بچه ماهیان ۲۰ گرمی:

آنزیم فوق الذکر در آب لب شور و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف ازنظر میانگین آنزیم مشاهده گردید (P<0.05). بطوریکه در ساعات اولیه قرار گیری در این محیط ، فعالیت آنزیم به میزان

۰/۲۵ ± ۵/۹۷ رسیده و پس از آن با اندکی افزایش نسبت به سطح اولیه به روندش ادامه داده است.

آنزیم فوق الذکر در آب دریای خزر و در زمانهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت که اختلافی بین زمان های مختلف از نظر میانگین فاکتور آنزیم مشاهده گردید (P<0.05). بطوریکه در ساعات اولیه قرار گیری در این محیط ، فعالیت آنزیم به میزان ۳/۰۴ ± ۹/۸۴ رسیده و پس از آن با اندکی افزایش نسبت به سطح اولیه به روندش ادامه داده است.

۵- مساحت سلول های کلراید

جدول ۲۶: مساحت سلولهای کلراید بین گروههای مختلف وزنی به تفکیک تیمارهای مورد بررسی (مقایسه بین گروههای مختلف وزنی به تفکیک شوری صورت گرفته است.)

غلظت / تیمار	مساحت سلولهای کلراید در آب لب شور ۷ در هزار	مساحت سلولهای کلراید درآب دریای خزر	مساحت سلولهای کلراید آب شیرین
بچه ماهیان ۵ گرمی	۶۲/۱۵± ۸/۶۹ [a]	۶۲/۲۳ ± ۶/۹۴ [a]	۶۲ ± ۷/۲۳ [a]
بچه ماهیان ۱۰ گرمی	۹۰/۴۳ ± ۱۷/۴۸ [a]	۹۴/۸ ± ۱۵/۱۳ [b]	۶۲/۹۷ ± ۸/۰۳ [a]
بچه ماهیان ۱۵ گرمی	۸۷/۹۷ ± ۸/۶۹ [a]	۹۹/۸۳ ± ۸/۹۵ [b]	۸۵/۰۳ ± ۸/۵ [b]
بچه ماهیان ۲۰ گرمی	۹۵/۲ ± ۱۴/۲۳ [a]	۱۱۳/۳۳ ± ۱۰/۶۱ [b]	۸۰/۶۳ ± ۸/۰۴ [ab]

- آب شیرین:

- مساحت سلولهای کلراید بچه ماهیان سفید بین گروههای وزنی مختلف آنالیز گردید که اختلاف معنی دار آماری بین گروههای وزنی مربوطه از نظر میانگین مساحت کلراید مشاهده گردید($P<0.05$) و با افزایش وزن ماهی بر سطح سلول های کلراید افزوده شده که در گروه ۱۵ و ۲۰ گرمی بیشترین سطح سلولی ملاحظه گردید.

- آب لب شور ۷ در هزار

- مساحت سلولهای کلراید بچه ماهیان سفید بین گروههای وزنی مختلف آنالیز گردید که اختلاف معنی دار آماری بین گروههای وزنی مربوطه از نظر میانگین مساحت کلراید مشاهده نگردید($P>0.05$). ولی در اوزان بالاتر ماهی ، سطح سلولی افزایش یافته که این افزایش نسبت به ماهیان ۵ گرمی بیشتر می باشد.

- آب دریای خزر

- مساحت سلولهای کلراید بچه ماهیان سفید بین گروههای وزنی مختلف آنالیز گردید که اختلاف معنی دار آماری بین گروههای وزنی مربوطه از نظر میانگین مساحت کلراید مشاهده گردید($P<0.05$) که در گروه های وزنی ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ گرمی نسبت به گروه ۵ گرمی تفاوت مشاهده می شود و این افزایش در گروه ۲۰ گرمی حداکثر است.

٤-بحث

یکی از راه های افزایش ضریب بقای بچه ماهیان بررسی وضعیت فیزیولوژیک می باشد. در میان عوامل فیزیولوژیک، تنظیم اسمزی از نقش و اهمیت ویژه ای برخوردار است. مطالعه تنظیم اسمزی می تواند زمان مناسب مهاجرت ماهی از رودخانه به دریا و در حقیقت اندازه مناسب رهاسازی یا پرورش در محیط های دریایی را مشخص نماید (Laird and Needham،۱۹۸۸) از این طریق بر میزان بازگشت ماهیان مولد بیافزاید (Peterson,1973؛ Hansen and Jonsson،۱۹۸۹).

در این تحقیق پاسخ های فیزیولوژیک بچه ماهیان سفید به افزایش شوری محیط در ۷ گروه وزنی ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ گرمی که هر گروه بواسطه همبستگی مستقیم وزن و طول معرف اندازه مشخصی نیز می باشد، مطالعه شد. پاسخ های بررسی شده شامل تغییرات اسمولاریته پلاسما، تغییر غلظت یون های اصلی خون، سطح هورمون کورتیزول، تغییرات بافتی آبشش، کلیه و فراوانی مکان یابی آنزیم NA^+ , K^+- ATpase بود که هر یک نشان دهندهٔ عملکرد یک یا چند دستگاه بدن در مقابله با شوری است.

روند بررسی فشار اسمزی:

با مشاهده نتایج فشار اسمزی در گروه های وزنی در آب شیرین و در سطح شوری ۷ در هزار و آب خزر با شوری ۱۱/۵– ۱۱ در هزار نشان داد که در گروه وزنی ۰/۵ گرمی روند تغییرات فشار اسمزی مایعات بدن در آب ۷ در هزار و آب دریای خزر با افزایش مواجه بود. سنجش فشار اسمزی پس از ده روز بیاتگر عدم فعالیت مکانیزم های تنظیمی در گروه ۰/۵ گرمی بود.

این سنجش در گروه وزنی ۳–۲/۵ گرمی بیانگر فعالیت مکانیزم تنظیمی در آب ۷ در هزار بود بطوریکه میزان فشار اسمزی پس از ده روز نوسان به سطح اولیه، اختلاف معنی داری را نشان نداد. همچنین مواجهه این گروه وزنی با آب دریای خزر، سطح فشار اسمزی در زمان ۲۴۰ ساعت نسبت به سطح اولیه افزایش معنی داری نشان داد. بنابراین توانایی این گروه در مطابقت با شوری خزر مورد تأیید می باشد. فعالیت مکانیزمی تنظیمی در گروه ۵ گرمی در مواجهه با آب دریای خزر (شوری ۱۱/۵– ۱۱ در هزار) مشاهده نشد. افزایش فشار اسمزی پس از ده روز نسبت به سطح اولیه مشهود بود ولی در مواجهه با آب ۷ در هزار مکانیزم تنظیمی اتفاق افتاد. سنجش فشار اسمزی پس از ده روز بیانگر فعالیت های تنظیمی در ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی بود.

بهبود توانایی تنظیم اسمزی و بقاء در آب دریا با بالا رفتن سن و اندازه بدن ماهی در مطالعات بسیاری مورد تأکید قرار گرفته است (Mccormick and NaimanY،1987؛ Mccormick and saunder,1984). Ugedal و همکاران (1998) نیز تکامل رفتار مهاجرتی بچه ماهیان با افزایش اندازه بدن را تأئید نمود.

در شوری ۷ در هزار تغییرات فشار اسمزی در تمام گروه ها بیش از آنکه متأثر از شوری محیط باشد از استرس و شرایط محیطی اثر پذیرفته بود. این شوری که به عنوان نماینده شرایط مصبی در تحقیق جای گرفته بود و در

دوره های پرآبی رودخانه های خزر جنوبی در بخش های وسیعی از آبهای حاشیه حاکم می شود، از نظر اسمولاریته به شرایط داخلی بچه ماهیان بسیار نزدیک بود، بنابراین عدم تأثیر بارز این شوری و متعادل شدن اسمولاریته همه گروه ها پس از ۱۰ روز قابل توجیه است. در جمع بندی داده های اسمومتری در روز دهم تیمارها، می توان قابلیت تنظیم اسمولاریته بچه ماهیان ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ گرمی در شوری دریای خزر و قابلیت تنظیم همه گروه های وزنی در شوری ۷ در هزار را تأئید نمود. سن بعنوان یکی از شاخص های زیستی اهمیت کمتری در مقایسه با طول و وزن ماهی در تکامل سیستم تنظیم اسمزی و یونی دارد (Mccormick and NaimanY،1984؛ Conet and Wagner,1965). طول بدن ماهی بر توانایی تنظیم اسمزی و یونی آنها هم در محیط آب شیرین و هم در دریا اثر مثبت دارد (Conet and Wagner, 1965).

روند بررسی یونی:

در بررسی روند تغییرات یون های سدیم، کلر، کلسیم، منیزیم و پتاسیم که اجزای اصلی ایجادکننده فشار اسمزی هستند می توان برداشت مشابهی با وضعیت تغییرات اسمولاریته بدست آورد. بر اساس مطالعات Mccormick ،Naiman(1984)، در جریان تغییر شوری محیط، طی ۴ روز اول بیشترین تغییرات در مقادیر یون های پلاسما و فشار اسمزی ایجاد می گردد. بنابراین، اندازه گیری متغیرهای پلاسمای خون پس از ۴ روز در آب دریا بعنوان یک شاخص توانایی تنظیم در محیط غلیظ (Hypoosmoregulation) مطرح بود.

مهمترین یون های موثر در فشار اسمزی ماهی یون های کلر و سدیم بودند که در گروه های وزنی ۲/۵، ۱۰ و ۲۰ گرمی پس از قرار گرفتن در آب دریا افزایش یافت و پس از آن مجدداً کم شد و به مقادیر زمان صفر نزدیک شدند (P> ۰/۰۵). در حالی که در گروه های ۵ و ۱۵ گرمی روند غلظت یون ها افزایشی بود و از مقادیر اولیه فاصله گرفت. در شوری ۷ در هزار تغییرات یون ها در گروه های ۲/۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرمی بیش از آنکه متأثر از شوری محیط باشند از استرس و شرایط محیطی اثر پذیرفته بودند. بواسطه نزدیکی غلظت یون ها در این میزان شوری با مقدار یون های خون بچه ماهیان، عدم تأثیر بارز شوری ۷ در هزار و متعادل شدن ترکیب یونی گروه های فوق پس از ۱۰ روز را می توان توجیه نمود.

میزان یون سدیم وکلر آب دریای خزر بترتیب ۱۳۰ و ۱۲۱ میلی اکی والان در لیتر محاسبه شد، در صورتی که غلظت پلاسمایی این یون ها در بچه ماهیان ۲/۵، ۱۰ و۲۰ گرمی پس از ۷۲ ساعت تا حدودی پائین تر از مقادیر محیطی داشت .

بر اساس مطالعات Krayushkina (۲۰۰۵)، گونه هایی که پس از انتقال از آب شیرین بر 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.

در جمع بندی کلی نتایج سنجش یون ها در روز دهم تیمارها ، می توان قابلیت اسمزی بچه ماهیان ۳-۲/۵ ، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرمی در شوری دریای خزر و قابلیت همه گروه ها به استثناء ۰/۵ گرمی را در آب ۷ در هزار تأئید نمود.

فعالیت گلومرولی:

نتایج بررسی سطوح مقطع شبکه گلومرولی کلیه در بچه ماهیان سفید در گروه های وزنی ۰/۵، ۱ و ۳ گرمی نشان داد که این شاخص در گروه های وزنی ۱ و ۳ گرمی طی مدت زمان ۱۰ روزه کاهش داشته است. پس از انتقال بچه ماهیان ۰/۵ گرمی به آب دریای خزر هیچ گونه تغییر معناداری در سطح شبکه گلومرولی رخ نداد و حاکی از عدم سازگاری بافت کلیه در مواجهه با شوری دریای خزر بود. این تغییر حتی پس از قرارگیری ماهی در آب شیرین نیز مشاهده نگردید. این کاهش سطح، حاکی از کاهش تصفیه آب جهت تنظیم آب و املاح داخلی بدن ماهی می باشد.

بسیاری از گونه ها با ایجاد تغییراتی در وظایف کلیه نسبت به محیط شورتر پاسخ می دهند. میزان تصفیه گلومرولی به شدت تقلیل می یابد و معمولاً باز جذب لوله ای افزایش می یابد. ادرار تولیدی به ۱۰٪ مقدار آن در آب شیرین تقلیل می یابد. ماهیان دریایی که آب را به غیر از کلیه، از طریق دیگری نیز از دست می دهند نسبت به ماهیان آب شیرین از گلومرولی های کوچک تر و کمتری برخوردارند (ستاری،۱۳۸۱). علاوه بر مکانیسم کلیویِ فیلتراسیون گلومرولی، باز جذب لوله ای نیز در تنظیم کلیوی فشار اسمزی نقش دارد. در ماهیان آب شیرین میزان فیلتراسیون گلومرولی بالا و با جذب لوله ای پائین بوده در حالی که در دریا میزان فیلتراسیون گلومرولی به شکل قابل ملاحظه ای کاهش یافته و میزان باز جذب لوله ای افزایش می یابد (Hoar،1988).

روند بررسی کورتیزول:

سیستم اندوکرینی، بعنوان حلقه بین نوسانات محیطی و رویدادهای فیزیولوژیک عمل می کند (Bisbal and specker ،1991). هورمون کورتیزول بواسطه اهمیت آن در تنظیم اسمزی و بقای انواع مختلف ماهیان در دریا و با درجات کمتر در آب شیرین دخیل است (Madsen,1990).

مکانیسمی که بوسیلهٔ کورتیزول، ماهی را برای سازگاری با محیط های Hypoosmotic آماده می کند ممکن است ناشی از تکثیر و ازدیاد سلول های کلراید (Foskett etal,1981) و یا توسعه فعالیت آنزیم Na+,K+ باشد (Mccormick etal,1988).

اندازه گیری کورتیزول در تیمار ۷ در هزار (پس از قرارگیری ۷ الی ۱۰ روزه) در این تحقیق نشان داد که غلظت آن در مورد گروه وزنی ۲/۵ تا ۳ گرمی با توجه به افزایش مقدار ان نسبت به زمان صفر، بیشتر بود ولی تفاوت معنی دار نبود. در گروه های وزنی ۵، ۱۰ و ۲۰ گرمی افزایشی در سطح کورتیزول در ساعات ابتدایی قرارگیری

رخ داد ولی پس از ۷ روز این سطح به زمان اولیه نزدیک شد و تفاوت معنی داری را نشان نداد. در گروه ۱۵ گرمی، میزان هورمون تا زمان ۲۴ ساعته افزایش معنی داری نشان داد ولی پس از آن روند کاهشی را طی نمود، بطوری که در زمان ۱۶۸ ساعته، میزان آن از سطح اولیه نیز پایین تر بود و تفاوت معنی دار داشت. بنابراین در گروه های ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرمی میزان هورمون پس از ۷ الی ۱۰ روز قرارگیری در آب ۷ در هزار به سطح تعادل رسید. وجود غلظت های متعادل هورمون نشان دهندهٔ 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 بافت های هدف کاهش می یابد و تعادل این دو فرآیند تعیین کنندهٔ سطح پلاسمایی آن است (Nichols and Weisbart,1985)

با انتقال بچه ماهیان از آب شیرین به آب دریای خزر، باز هم در گروه ۲/۵ گرمی افزایشی بیش از ۱۰ روز مشاهده می شود که این افزایش معنی دار نیست. پس از ۷ روز قرارگیری گروه های ۱۰ و ۲۰ گرمی در آب دریای خزر، اختلاف معنی داری نسبت به زمان صفر مشاهده نگردید ولی در گروه ۵ گرمی، افزایشی معنی دار و در گروه ۱۵ گرمی کاهشی معنی دار مشهود بود. عوامل مختلف و متعددی بر سطح پلاسمایی کورتیزول اثرگذار هستند که انواع استرس ها 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 etal,1990). بنابراین در تمامی گروه های وزنی یک تا ۳ روز اول قرارگیری در محیط شورتر بوقوع می پیوندد و پس از آنست که سطح آن یا به حدتعادل یا به حد عدم تعادل خواهد رسید.

سلول های کلراید آبشش:

سلول های کلراید آبشش ماهیان دارای نقش اساسی در تنظیم یونی آنها هستند. این سلول در ماهیان آب شیرین بزرگتر ولی تعدادش کمتر و در محیط آب دریا کوچکتر ولی با تعداد بسیار بیشتر دیده می شوند. پس از انتقال به محیط آب دریا، از حالت نوع آب شیرین به سلول های کلراید نوع آب دریا تغییر شکل می دهند، بطوری که از وظیفهٔ جذب یون به وظیفه ترشح یون تغییر حالت می دهند (Hiroi etal,1999).

مطالعاتی که Hebebi,Laurent (1989) روی تنظیم فشار اسمزی ماهیان انجام دادند نشان داد که تعداد و یا اندازه سلول های کلراید بین لاملایی در هنگام سازگاری ماهیان یوری هالینی افزایش می یابد. طبق یافته های Maetz (1974) در برخی ماهیان استخوانی تعداد سلول های کلراید نسبتاً سریع افزایش یافته و نتیجه آن را طی ۳ روز اول سازگاری به آب دریا می توان دید.

بررسی تعداد و تغییرات سلول های کلراید در بین متغیرهای ثانویه در این تحقیق، کاهش تعداد سلول ها پس از ۱۰ روز در تیمار آب دریای خزر برای ماهیان ۰/۵ گرمی، افزایش آن در ماهیان ۱و ۲/۵ گرمی در آب ۷ در هزار و دریای خزر را نشان داد که فقط این تغییرات در ماهیان ۲/۵ گرمی معنی دار بوده است.

فعالیت آنزیم فسفاتاز آبششی که با فعالیت سلول های کلراید ارتباط مستقیمی دارد در بچه ماهیان ۵ ، ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ گرمی نسبت به سطح اولیه افزایش نشان داد ولی این اختلاف معنی دار نبود. پس از ۳ ساعت قرارگیری بچه ماهیان ۱۵ و ۲۰ گرمی، افزایش در سطح فعالیت آنزیم در مقایسه با زمان صفر مشاهده شد (P<۰/۰۵) که این افزایش در سایر زمان ها اتفاق افتاد ولی معنی دار نبود.

اندازه سلول های کلراید (سطح سلول های کلراید) پس از قرارگیری بچه ماهیان ۰/۵ گرمی در محیط های با شوری های مختلف، تفاوت معنی داری با زمان صفر نشان نداد. در ماهیان ۱ گرمی نیز این تفاوت معنی دار نبود ولی سطح سلول های کلراید در آبشش بچه ماهیان ۱ گرمی نسبت به بچه ماهیان ۰/۵ گرمی بیشتر بود. در بچه ماهیان۲/۵ گرمی نیز سطح سلول ها افزایش یافت و سطح سلول های کلراید نسبت به دو گروه وزنی قبل افزایش داشت. اندازه این سلول در سایر گروه های وزنی نیز (۵،۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ گرمی) پس از قرارگیری ماهی در محیط هایی با درجات شوری مختلف گرچه افزایش داشت ولی معنی دار نبود.

۵-نتیجه گیری نهایی

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون های شوری، تنظیم یونی، اسمزی و هورمونی و نیز تکامل بافت های درگیر سازگاری ماهی با شرایط جدید مانند کلیه و آبشش در این تحقیق و نیز بمنظور کاهش هزینه های بسیار هنگفت تولید و پرورش بدون افزایش مرگ و میر بچه ماهی، می توان چنین نتیجه گیری نمود: در صورت مناسب بودن شرایط رودخانه، درصدی از ماهیان ۱ گرمی در داخل رودخانه و ماهیان ۳ گرمی نزدیک به مصب (دهانه رودخانه) رهاسازی شوند. اگر شرایط مصبی جهت رهاسازی بچه ماهی سفید مناسب باشد، با توجه به این که شوری مصبی در بیشتر نقاط جنوبی دریای خزر بیش از ۷ گرم در هزار نیست، می توان از بچه ماهی سفید یک تا ۳ گرمی (ترجیحا ۲/۵ تا ۳ گرمی) برای حفظ ذخایر برای رهاسازی به محیط طبیعی استفاده نمود. اما در صورت نامساعد بودن شرایط رودخانه ای و مصبی جهت رهاسازی بچه ماهی سفید، می توان بچه ماهی های ۲/۵ تا ۳ گرمی را مستقیم در مناطق ساحلی با شوری بین ۷ تا ۸ گرم در لیتر و می توان بچه ماهی های ۱۰ تا ۲۰ گرمی را مستقیم در مناطق با فاصله بیشتر از ساحل (مکانی که شوری بیش از ۱۱ گرم در لیتر باشد)، رهاسازی نمود. اگرچه در صورت مناسب بودن شرایط رودخانه ای رهاسازی بچه ماهیان در مناطق رودخانه ای شرط لازم است تا آداپتاسیون تدریجی در بچه ماهیان بوقوع بپیوندد.

منابع

- آذری تاکامی ق. ۱۳۵۸. بیوتکنیک تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی سفید. دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
- بریمانی ا. ۱۳۵۶. ماهی شناسی و شیلات. انتشارات دانشگاه تهران.
- پوستی ا، صدیق مرودستی ع. ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب شناسی). انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.
- رضوی صیاد ب. ۱۳۶۷. بیولوژی ماهی سفید. سازمان تحقیقات شیلات ایران.
- رضوی صیاد، ب. ۱۳۷۴. ماهی سفید. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۶۵ ص.
- صیاد بورانی م، طلوعی م، عبدالملکی ش، پورغلامی مقدم ا، خداپرست ح، غنی نژاد د، حسینی ا. ۱۳۷۹. بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان استخوانی رهاسازی شده در آبهای استان گیلان. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر.
- صیادبورانی، م. ۱۳۸۶. تعیین اندازه مناسب رهاسازی بچه ماهی آزاد دریای خزر از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۵۴ ص.
- عبدا... مشائی م. ۱۳۸۳. کاربرد های فیزیولوژی در پرورش ماهی. تهران: دریاسر.
- غنی نژاد د، مقیم م، صیادبورانی م، عبدالملکی ش. ۱۳۸۰. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۸۰-۷۹. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر، بندر انزلی. ۹۸ صفحه.
- قاسم اف ع. ۱۳۷۹. دریای خزر. ترجمه ی عادلی. مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان.
- بون کیو، مارشال ان بی، پلاکستر جی اچ اس. ۱۳۸۴. زیست شناسی ماهی ها. ترجمه ی کیوانی. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان
- کازرونی منفرد م. ۱۳۷۴. بررسی نرماتیو نکثیر ماهی سفید در رودخانه های حوزه جنوبی دریای خزر. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. ۴۸ صفحه.
- 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.
- کاظمی، ر. م. بهمنی. و م. پورکاظمی. و ب. مجازی امیری. ۱۳۸۱. بررسی سیستم اسمزی در تاسماهی ایرانی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۶۹ ص .
- کرایوشکینا ل. ۱۳۷۸. بررسی سیستم اسمزی ماهیان. گرد آوری دانش خوش اصل ع ، مرادی م. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر. ۸۳ صفحه.
- وثوقی غ، مستجیر ب. ۱۳۷۱. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه گیلان.
- وحدتی ا، فتح پور ح. ۱۳۶۴. فیزیولوژی جانوری سازش و محیط. انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان

- ولی پور ، ع. خانی پور، ع. ۱۳۸۸. ماهی سفید جواهر دریای خزر. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. صفحات ۱ تا ۱۴.
- **ASTM. 1989**. American standard methods for examination of water and waste water.American public health association,Washington. 2005.
- **Avella M, Young G, Prunet P, Schreek CB. 1990**.Plasma prolactin and cortisol concaentration during salinity challenges of coho salmon(Oncorhynchus kisutch) at smolt and post-smolt stages. Elsevier Science publishers B.V. Amesterdam. Aquaculture. pp: 359-370.
- **Berg LS. 1965** . Fresh water fishes of the U.S.S.R and adjacent countries.Vol II. Translation Jarusalem.
- **Cataldi E, Barzaghi C, Dimarco P, Boglione C, Dini L, McKenzie DJ, Bronzi P,Cataudella S.1999**. Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*. I: Ontogensis of salinity tolerance. Journal of appl Icthyology. Vol 155, pp 57-60.
- **Eliassen, A. R., Johnsen, H. K., Mayer, I. and Jobling, M**. 1998. Contrasts in osmoregulatory capacity of two Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), strains from northern Norway. Aquaculture. 168, 255-269.
- **Evans DH, Dessert MT.1993**. The physiology of fishes. CRC Press.INC.]
- **Krischner LB.1991**. Environmental and metabolic animal physiology,chapter 2,pp 13-107.
- **King IAC, Abel DC. 1989.** Effects of salinity on chloride cells in the euryhaline cypriniolontid fish rivulus marmoratus,Cell tissue Res. 257 , pp 367-377.
- **Khodabandeh, S., Shahriari, M. , Abtahi, B. 2009a**. Changes in chloride cells abundance Na^+ ,k^+ -ATPase immunolocalization and activity in gills of golden grey Mullet, *Liza aurata*, fry during adaptation to different salinities. Yakhteh Medical Journal. 11, 49-54.
- **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.
- **Krayushkina LS, Semenova OG, Panov AA, Gerasimov AA. 1996**. Functional traits of the osmoregulatory system of juvenile paddle fish Polyodon spathula. Journal of ichthyology, vol 36, no 9, pp 787-793.
- **Madsen SS, Naamansen ET. 1989**. Plasma ionic regulation and gill Na+, K+, ATPase changes during rapid transfer to seawater of yearing rainbow trout,*salmo gaideri*: Time course and seasonal variation. Journal of fish, Biol, Vol 34. No 6, pp 829-840.
- **McCormik SD, Naiman RJ. 1984**. Osmoregulation in the bruke trout, *Salvelinus fontinalis*.2. Effect of size,age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation.Comp Biochem. –physiol.-A, vol79a, no 1, pp 17-28.
- **Oozeki Y,Ishii T. 1989**. Histological study of the effects of starvation on reread and wild-caugh laveral stone flounder,kareius bicoloratus. Marine biology 100, pp 269-275.
- **Pelis, R. and McCormick. S.D**. 2001. Effects of growth hormone and cortisol on Na+,K+- 2Cl- cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic salmon. Gen. Comp. Endocrinol. (In press)
- **Seidelin M.S. Madsen. H., Blenstrup. C., Tipsmark**.2000. Time-course changes in the expression of Na^+, K^+-ATPase in Gills and Pyloric Caeca of Brown Trout (*Salmo trutta*) during Acclimation to Seawater. Physiological and Biochemical Zoology, university of Chicago. pp: 446-453.
- **Zaugg, W.S.,** 1982. A simplified preparation for adenosine triphosphate determination in gill tissue. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39,215-217.

Abstract:

The study was done in Nutrition and Live Food Station was located in Bandar Anzali Ghaziyan. Juveniles weighted average 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15 and 20 g were randomly selected in three water conditions with a salinity of 11 ppt (Caspian sea water), water 7 ppt and freshwater (with three replicates per group) were included.
At intervals of 0, 3, 6, 12, 24, 72, 168, 240 hours, blood samples were heparinized capillary tubes by caudal juveniles and ion concentrations Mg, Ca,Cl using the spectrophotometer and sodium and potassium ions with Flaym photometry (flame photometric), the osmotic pressure of blood plasma by osmometer and cortisol levels were measured by RIA method.
To study the microstructure of gill and kidney tissue for each treatment , tissue samples by classical histological methods and stained with hematoxylin - eosin slides were prepared. The frequency and location of the enzyme Na +, K + - ATPase and chloride cells with immunohistochemical localization was performed. Studies micrometric gill chloride cells and renal glomerular networks by software Image tool (version 2.0) was performed. Measurement of enzyme Na +, K +-ATPase, by Zaugg (1982) method was conducted. Data analyzed by one-way ANOVA (Oneway ANOVA) with Tukey's test was performed. Overall, the results of measuring ions and osmotic pressure on the tenth day of treatment, the osmotic potential juveniles 2.5, 5, 10, 20 gr in Caspian sea water and all groups except the 0.5 in water of 7 ppt confirmed. But in case of unfavorable conditions for the release in estuaries river and river, fish with weight 1 to 3 release directly to beach (where the salinity is 7 grams per liter) and fishes with weight from 10 to 20 gr to sea. Although suitable river conditions necessary condition for release of juveniles in riverine areas to adaptation juveniles occur gradually.

Key words: *Rutilus frisii kutum, osmolarity, suitable size, release, Caspian sea, Iran*

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRAN FISHERIES SCIENCE RESEARCH INSTITUTE – Inland Waters Aquaculture Research Center

---

Project Title : Determination of Suitable size of *Rutilus frisii kutum* for Releasing by Evaluation of Osmotic Regulation Ability
Approved Number: 2-73-12-89024
Author: Mohammad Sayyadbourani
Project Researcher : Mohammad Sayyad bourani
Collaborator(s) *:* M. Bahmani , H. Abdolhai, M. Darvishi, A. Hossein jani, A. Amiri, A.R. Valipoor, R. Ladani, S. Dezhandian, F. Chakmedooz, M. Sharifian, M. Ahmadnejad, H. Maghsoudieh kohan,H. Saberi, K. Khedmati, R. Kazemi, D. Parvaneh moghadam, H. Babaei, J. Daghigh roohi, Sh. Abdolmalaki, F. Mahisefat, F. Chakmedooz
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution : Guilan province
Date of Beginning : 2010
Period of execution : 2 Years & 9 Months
Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing : 2016

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

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRAN FISHERIES SCIENCE RESEARCH INSTITUTE - Inland Waters Aquaculture Research Center

Project Title :

Determination of Suitable size of *Rutilus frisii kutum* for Releasing by Evaluation of Osmotic Regulation Ability

Project Researcher :

Mohammad Sayyadbourani

Register NO.

46918