فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۳، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۳، صفحه ۱۳- ۲٤

مطالعه برخی پارامترهای تنظیم اسمزی در ماهیان قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید *Oncorhynchus mykiss* در سازگاری با سطوح متفاوت شوری آب

ساحل سلطان کریمی [۱]، محمدرضا کلباسی*[۲]، صابر خدابنده[۳]، مهدی فروزنده[٤]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی‌دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

٤- استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

دریافت: ۹۳/٦/۳۰ پذیرش: ۹۳/۷/۱۰

*نویسنده مسئول مقاله: Kalbassi_m@modares.ac.ir

چکیده:

تغییرات مورفولوژی سلول‌های کلراید و بیان ژن زیرواحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase قزل‌آلای تریپلوئید *Oncorhynchus mykiss* (میانگین وزن ۷۰/٦ گرم)، در انتقال مستقیم به شوری‌های ٦، ۱۲ و ۱۸ ppt مورد بررسی قرار گرفتند. تغییرات در فراوانی، الگوی پراکنش و سطح مقطع برش‌خورده سلول‌های کلراید آبشش با استفاده از تکنیک بافت‌شناسی کلاسیک و مکان‌یابی Na^+-K^+-ATPase آبشش با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی و استفاده از آنتی‌بادی $IgG\alpha_5$ انجام شد. بیان ژن زیرواحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase با استفاده از تکنیک بیان ژن نیمه‌کمی مورد سنجش قرار گرفت. میزان بقا در طی دوره ۱۰ روزه آزمایش در تمام تیمارها صد درصد بود و ماهیان منتقل شده به سطوح مختلف شوری اسمولالیته پلاسما را در سطوح استاندارد حفظ کردند. الگوی پراکنش سلول‌های کلراید در تمام تیمارها مشابه و بر روی لاملا، پایه و بین لاملا بوده است. نتایج مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان دادند که بیشترین تعداد سلول‌های کلراید لاملایی و بین لاملایی در تیمار ۱۸ ppt وجود دارند. بیشترین مساحت سطح مقطع برش‌خورده سلول‌های کلراید در آب شیرین مشاهده شد. تغییرات بیان ژن زیرواحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase با افزایش شوری، روند افزایشی نشان داد. با توجه به نتایج تحقیق به‌نظر می‌رسد ماهی قزل‌آلای تریپلوئید به‌خوبی خود را با شوری‌های اعمال شده در محیط آزمایش سازگار کرده و توانایی لازم در مقابله با شوری‌های بررسی شده را دارند و به‌نظر گونه مناسبی جهت پرورش در آب‌های لب‌شور می‌باشند.

کلید واژگان: تریپلوئیدی، سلول‌های کلراید، بیان ژن نیمه‌کمی، ایمونوهیستوشیمی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

مقدمه:

قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*، یکی از ماهیان سردآبی می‌باشد که به‌منظور توسعه فعالیت‌های شیلاتی و آبزی‌پروری به بسیاری از مناطق جهان، از جمله ایران معرفی شده است (Abdoli, 2000).

تولید موجودات تریپلوئید به‌ویژه در صنعت آبزی پروری رو به افزایش است. ماهیان تریپلوئید به دلیل داشتن سه دسته کروموزوم عقیم می‌باشند . عقیم شدن از طریق تریپلوئیدی به دلیل جلوگیری از اثرات نامطلوب هورمونهای جنسی در زمان بلوغ بر روی کیفیت گوشت و همچنین جلوگیری از کاهش رشد ، در آبزی پروری بسیار مد نظر قرار می‌گیرند. از سوی دیگر قزل الای رنگین‌کمان در آب‌های لب شور از رشد بیشتری در قیاس با آب شیرین برخوردار خواهد بود (Kalbassi et al., 2009).

ماهیان، قدیمی ترین و متنوع ترین گروه مهره داران هستند(Beyenbach 2004). مکانیسم‌های تنظیم اسمزی- یونی درماهیان به طور چشم گیری رشد نموده و به آن‌ها امکان سکونت و بقا در آشیان‌های اکولوژیک، بالقوه بسیاری از آبهای سرد و یخ زده دریاهای قطبی گرفته تا دریاچه‌های قلیایی استوا را داده است(Evans ۱۹۹۳). در شوری بیشتر از شوری ایزواسمتیک و در آب دریا ماهی با ورود دائمی یون‌ها به بدن خود و از دست دادن آب به طریق اسمزی مواجه است بنابراین این ماهیان با نوشیدن آب دریا با مشکل کم آبی مبارزه کرده و در عوض با مشکل تراکم یون مواجه می شوند. برای حل این مشکل مکانیسم‌های انتقال فعال در سلولهای کلراید آبشش، NaCl را به خارج دفع می کنند، کلیه نیز $So4^{-2}$ و Mg^{+2} و دیگر یون‌های دو ظرفیتی را به خارج دفع می کند(Bartley et al., 2001).

اندام‌های تنظیم اسمزی شامل آبشش، روده و کلیه در ماهیان استخوانی یوری هالین در نگهداری هموستازی بدن نقش دارند و با توجه به شوری محیطی نقش‌های مختلفی دارند(Marshall, 2002) . در میان این اندام‌ها آبشش‌ها مهمترین اندام خارجی برای تنظیم اسمزی در ماهی‌ها می باشند. در اپیتلیوم آبششی سلول‌های غنی از میتوکندری (سلول‌های کلراید) وجود دارند که از مکان‌های اصلی برای تبادل یون می باشند که در ماهی‌های سازگار شده با آب دریا ترشح یون و در ماهی‌های سازگار شده با آب شیرین کار جذب یون و توازن اسید و باز را به عهده دارند Evans (1975).

سلول‌های کلراید، سلول‌های انتقال دهنده یون در آبشش ماهیان استخوانی هستند که نقش مهمی را در نگهداری توازن یونی بدن جانوران ایفا می کنند (Nebel و همکاران ۲۰۰۵، Varsamose و همکاران ۲۰۰۲) نقش این سلول‌ها از جذب یون تا ترشح یون با توجه به شوری محیط تغییر می کند (Katoh و همکاران، ۲۰۰۳). این سلول‌ها، سلول‌هایی بزرگ، تخم مرغی شکل، دارای حفره راسی بوده و غنی از میتوکندری می باشند (Evans و همکاران ۲۰۰۵، Katoh و Kaneko 2003، Khodabandeh و همکاران ۲۰۰۵، Rao 1968، Seidelin و همکاران ۲۰۰۰). حرکات یونی در این سلول‌ها به کمک آنزیم‌های مختلفی انجام می شود که مهمترین آن‌ها، آنزیم Na^{+}-K^{+}-ATPase می باشد (Uchida ۱۹۹۶). Na^{+}-K^{+}-ATPase هترودایمری از اعضای خانواده ژن‌های ATPase نوع p است که دارای زیر واحدهای α و β می‌باشد، زیر واحد α و زیر واحدهای آن برای پمپ فعال پتاسیم به داخل و سدیم به خارج سلول خلاف جهت شیب غلظت فعالیت می‌کنند

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

(Chow و Forte 1995، Evart و Klip ۱۹۹۵، Gaunet و همکاران ۱۹۹۵، Hyndman و همکاران ۲۰۰۳). با توجه به بحث لزوم معرفی گونه‌های جدید به صنعت آبزی پروری در کشور، کمبود منابع آب شیرین و همچنین لزوم توجه به عواملی از قبیل القای تریپلوئیدی و پرورش آبزیان در آبهای شور که عواملی موثر در جهت افزایش رشد ماهی به شمار می روند، در این تحقیق با سازگار نمودن گونه مورد مطالعه به شوری‌های متفاوت و بررسی اثر توام شوری و تریپلوئیدی از طریق بررسی تغییرات سلول‌های کلراید و بیان ژن Na^+-K^+-ATPase امکان بهبود وضعیت اقتصادی و پرورشی این آبزی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار:

تهیه و سازگاری ماهیان مورد مطالعه:

ماهیان مورد آزمایش شامل قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلوئید (با میانگین وزنی ۷۰/٦گرم) از کارگاه شهید باهنر کلاردشت (درافشان ، ۲۰۰۸) با استفاده از کیسه‌های پلاستیکی ۳۰ لیتری شامل ۳۰ درصد آب ۷۰ درصد اکسیژن با تراکم ۱۵ عدد ماهی در هر کیسه به آزمایشگاه ماهیان سردآبی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل و بمدت ١٤روز درآب شیرین به شرایط آزمایشگاهی آداپته شدند. سپس برای هر تیمار تعداد ۳۰ عدد ماهی (۳ تکرار ۱۰ عددی) پس از بیومتری به تانک‌های ۱۰۰ لیتری حاوی آب با شوری‌های٦ ، ۱۲ و ۱۸ در هزار و آب شیرین بعنوان شاهد منتقل شدند. شوری‌ها بطور مصنوعی مطابق ترکیب نمک دریای خزر ساخته شدند (Kazemi and Bahmani, 1999). غذادهی با استفاده از پلت‌های غذایی شرکت چینه در مدت دوره آزمایش و به میزان ۲ درصد وزن بدن به طور روزانه و میزان تعویض روزانه آب ۲۰% در نظر گرفته شد.

شرایط محیط آزمایش:

طی دوره آزمایش، دوره نوری بصورت ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، میانگین pH ۷/۸، میانگین میزان اکسیژن محلول در آب برابر ۸/۵ mg/l و محدوده دمایی ۱۰–۱۱/٦°C بوده است.

پس از طی دوره ده روزه آزمایش، ماهیان پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (۱۵۰ mg/l)، وزن کشی شده، طول کل، چنگالی و استاندارد آن‌ها نیز اندازه گیری شد و در ادامه سریعاً جهت تعیین میزان پلوئیدی از آن‌ها خون گیری بعمل آمد و گسترش خونی تهیه گردید. سپس آبشش آن‌ها بمنظور انجام آزمایشات بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی در محلول بوئن و جهت انجام آزمایشات مربوط به بیان ژن آنزیم Na^+-K^+-ATPase سریعاً در ازت مایع فیکس شد. نمونه‌ها بعد از فیکس شدن در محلول بوئن جهت آبگیری و نگهداری در الکل اتانل ۷۰ درصد قرارداده شدند.

سنجش فشار اسمزی پلاسما:

برای اندازه گیری فشار اسمزی پلاسما از دستگاه اتوماتیک اسمومتر(مدل۱۳،۹٦۱۰۰۳،Nr،Germany،co) استفاده شد.به این ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر پلاسما به تیوپ‌های ۱.۵ سی سی منتقل شد و سپس فشار اسمزی پلاسما (mosmol/L) توسط دستگاه اندازه گیری شد. قبل از اندازه گیری دستگاه با آب مقطر روی عدد صفر و با محلول نمکی مخصوص روی عدد ۳۰۰ کالیبره شد. دستگاه فوق بر اساس نقطه انجماد عمل نموده و هسته گذاری در دمای ۷۰ – درجه سانتی گراد انجام می‌شود.

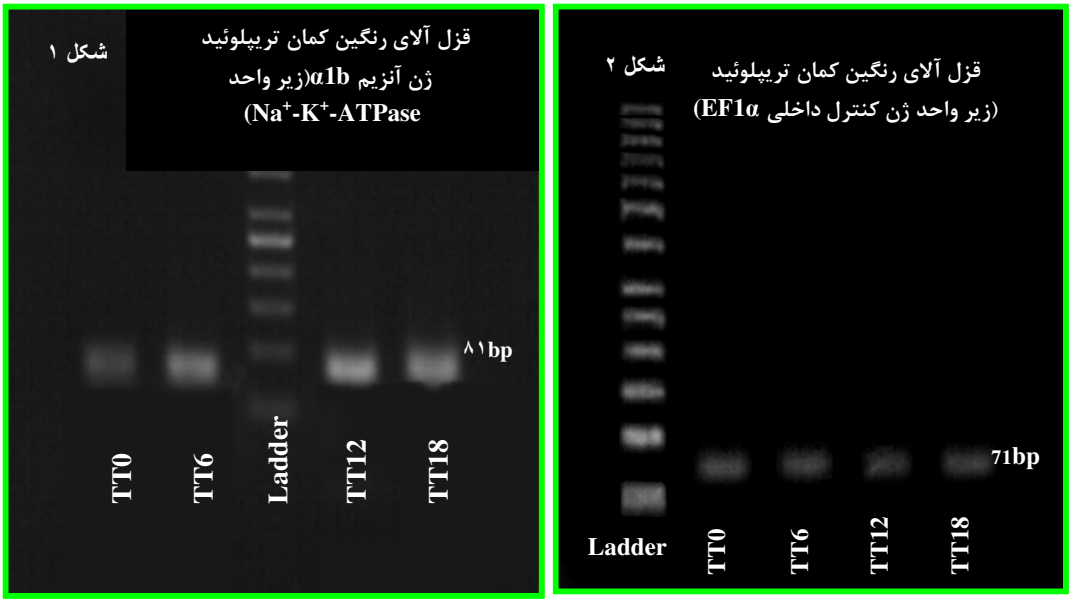
مطالعات بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی:

مراحل آماده سازی نمونه‌ها جهت بافت شناسی کلاسیک طبق روش خدابنده و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. نمونه‌ها

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

با میکروسکوپ نوری معمولی مطالعه و عکس برداری شدند. برای ایمونوهیستوشیمی مشابه روش کار بافت شناسی از بافت‌ها برش گیری شد اما برش‌ها بروی لام‌های پلی ال- لایزینه (Poly-L-Lysine) قرار گرفتند. مطالعات از ژل آگارز و UV اسپکتروفتومتری، توسط DNase تیمار شده و جهت ساخت cDNA مورد استفاده قرار ایمونوهیستوشیمی طبق روش khodabande و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد.



شکل ۱ باندهای حاصل از واکنش PCR نیمه کمی نمونه های تیمارهای مختلف شوری در قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید.

شکل ۲ باندهای قطعه تکثیر شده از زیر واحد α_{1b} ژن آنزیم Na^+-K^+-ATPase در تیمارهای مختلف شوری آب..

نمونه برداری جهت مطالعات مولکولی:

تعداد ٦ عدد ماهی از هر تیمار (۲عدد ماهی از هر تکرار) برای انجام آزمایشات مولکولی ابتدا بیومتری شدند و پس از خون گیری از ماهی‌ها، از آبشش آن‌ها نمونه برداری شد. پس از نمونه برداری، نمونه‌های بافت آبشش آن‌ها (کل آبشش) جهت جلوگیری از تجزیه RNA بسرعت در ازت مایع فیکس شدند. RNA ی کل موجود در نمونه‌ها با استفاده از کیت کیاژن (Qiagene) استخراج شده و پس از بررسی کمی و کیفی RNA ی استخراج شده با استفاده گرفتند. جهت ساخت cDNA از کیت سیناژن استفاده گردید. PCR بصورت نیمه کمی (Semi Quantitative) انجام شد (Lin وهمکاران ، ۲۰۰٤). در این تحقیق، ژن EF1α بعنوان کنترل داخلی انتخاب شدند. ژن مورد بررسی، زیر واحد α_{1b} ژن آنزیم Na^+-K^+-ATPase می باشد که توالی RNA این ژن در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *O. mykiss* در سایت NCBI ثبت گردیده است (جدول ۱) (Perry۱۹۷۷).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

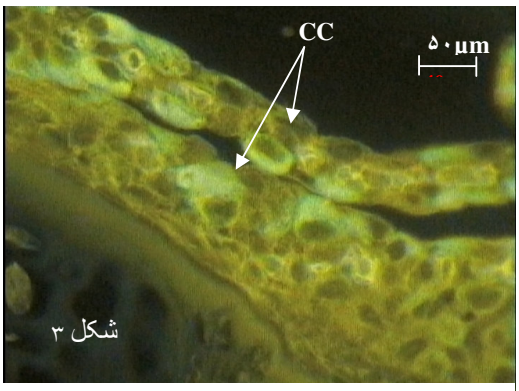
نتایج:

نرخ بقای ماهیان مورد مطالعه:

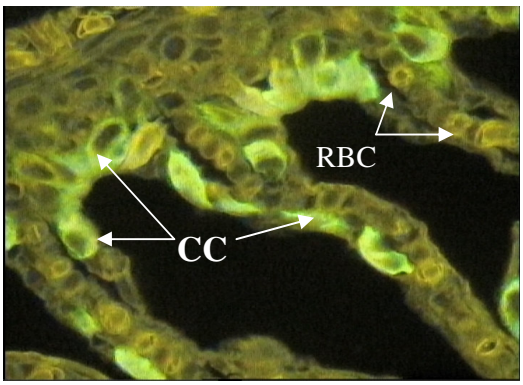
ماهیان قزل آلای تریپلوئید در تمام تیمارها طی دوره ۱٤ روزه آداپته شدن با آب شیرین و همچنین دوره ۱۰ روزه انجام آزمایش هیچ گونه تلفاتی در آن‌ها مشاهده نشد.

مطالعات بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی:

نتایج مطالعات بافت شناسی نشان داد که در گونه مورد مطالعه، در هر سمت حفره دهانی ٤ جفت کمان آبششی قرار گرفته است، بر روی هر کمان آبششی ، دو ردیف رشته ظریف آبششی قرار دارد و بر روی هر رشته آبششی تعدادی صفحات ظریف بنام تیغه‌های آبششی قرار دارد که عمود بر رشته‌های آبشش قرار دارند. در قسمت انتهایی رشته‌های آبشش لاملا مشاهده نمی شوند. در برش طولی هر رشته، یک محور مرکزی شامل رگ‌های خونی و همچنین دو ردیف لاملا مشاهده می شود(شکل ٤). تعداد زیادی سلولهای خونی در داخل رگ‌ها مشا هده می شوند. در قسمت داخلی کمان آبششی خار آبششی قرار گرفته که کوتاه می باشند. رشته‌های آبششی توسط بافت پوششی ، پوشانده شده اند که بافت پوششی متشکل از سلولهای سنگ فرشی[1] ، سلولهای پیلار[2] و سلولهای کلراید می باشد (شکلهای ٥ و ٦). سلول‌های سنگفرشی بیشترین تعداد سلول را در بافت پوششی بخود اختصاص می دهند، سلول‌های پیلار کانال‌های خونی را از هم جدا می کنند.



شکل۳ تصویر ایمونوهیستوشیمی از آبشش ماهی قزل آلای تریپلوئید قرار گرفته در آب شیرین. سلول های کلراید بر روی لاملا و فیلامنت قابل مشاهده می باشند.

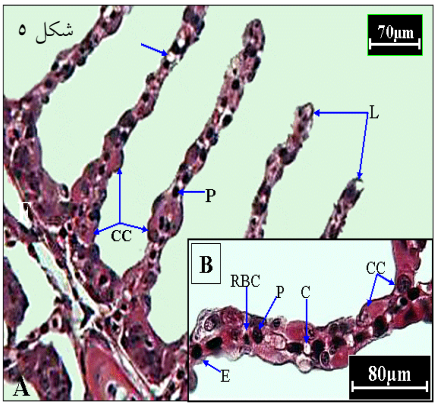


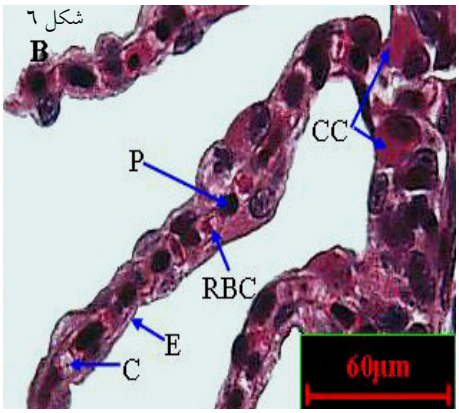
شکل ٤ تصویری با بزرگنمایی ٤۰۰ از بافت آبشش ماهی قزل آلای تریپلوئید قرار گرفته در شوری ppt۱۸. سلول های کلراید در تصویر نشان داده شده اند.CC: سلول های کلراید، RBC: گلبول های قرمز، F: فیلامنت، L: لاملا

1. Pavment Cell
2. Pillar Cell

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]





شکل A٥: تصویری از بافت آبشش ماهی قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید قرار گرفته در آب ٦% (بزرگنمایی ٤٠٠). B: قسمتی از لاملای آبشش ماهی قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید قرار گرفته در آب ٦% (بزرگنمایی ١٠٠٠).

شکل ٦: تصویری با بزرگنمایی ١٠٠٠ از لاملای آبشش قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید قرار گرفته در آب ١٢% ، سلول های کلراید، سنگفرشی، پیلار، خونی و مویرگ در تصویر نشان داده شده اند.

اختصارات: RBC : گلبول قرمز، C: مویرگ، P : سلول پیلار، CC: سلول کلراید، E : بافت پوششی، F : فیلامنت، L : لاملا

در روش ایمونوهیستوشیمی، آنتی بادی $IgG\alpha_5$ با اتصال به آنزیم Na^+-K^+-ATPase و بواسطه داشتن خاصیت فلئورسانس موجب گردید تا سلولهای کلراید مورد مطالعه بسهولت مشاهده و از سلولهای دیگر (بویژه سلولهای خونی که به رنگ زرد مشاهده می شوند) تفکیک گردند (شکل‌های ٣ و ٤) در این تحقیق سلولهای کلراید در روی لاملا و همچنین در منطقه بین و پایه لاملا مشاهده شدند. سلولهای کلراید اغلب بصورت چند تایی در پایه لاملا و معمولا بصورت منفرد بر روی لاملا مشاهده شدند(شکل‌های٣ و ٤) همچنین در بافت آبشش ماهیان تیمار ١٨ در هزار پارگی لاملا مشاهده گردید (شکل٣). اندازه و نحوه پراکنش سلول‌های کلراید با توجه به نتایج مطالعات ایمونوهیستوشیمی در جدول شماره ١ آورده شده است.

جدول١ تغییرات سلول‌های کلراید واقع در رو و پایه لاملای آبششی ماهیان قزل‌آلای تریپلوئید در سطوح مختلف شوری، (Mean±SD). حروف متفاوت بیانگر معنی دار بودن و اختلاف میانگین‌ها است.

شاخص‌های مورد سنجش	آب شیرین	آب٦‰%	آب ١٢‰	آب ١٨‰
میانگین مساحت سطح مقطع برش خورده سلول‌های کلراید لاملا N=150 (μm^2)	a٤١/٧ ± ٣/٧٠٥	a٣٨/٦ ±١/٩	b٣٠/٧ ±٢/٣	a٣٦/٦ ±٣/٢
میانگین مساحت سطح مقطع برش خورده سلول‌های کلراید بین لاملا N= 150(μm^2)	a٣٨/٩١ ± ٢/٠١	ab٣٦/٥ ±٢/٨	b٣٢/٨ ±١/٨	b٣٤/٢ ±٢/٣
میانگین تعداد سلول‌های کلراید روی لاملا N= 150	b٥/٤٧ ±٠/٣	a٥/٦٥ ±٠/٣٣	c٣/٦٩ ±٠/١٥	a٥/٦٥ ±٠/٢٧
میانگین تعداد سلول‌های کلراید بین و پایه لاملا N= 150	c٢/٦٩ ±٠/١١	a٣/٧٨ ±٠/١٧	b٣/١٣ ±٠/١٣	a٤/١٧ ±٠/١٤

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

نتایج مطالعات سنجش اسمزی:

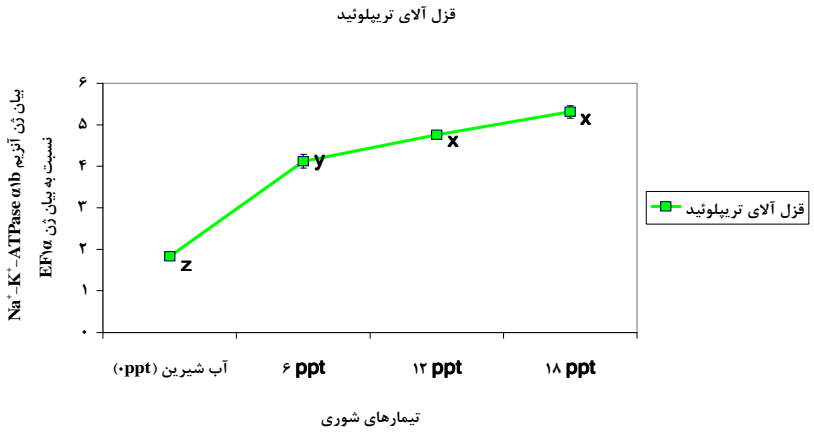
نتایج سنجش اسمولالیته پلاسمای خون ماهی‌های مورد مطالعه و آب محیط آزمایش در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۲ تغییرات اسمولالیته پلاسمای خون ماهی قزل آلای رنگین‌کمان تریپلوئید در سطوح مختلف شوری آب.

میزان اسمولالیته (mOsm/L)	آب شیرین	6 ppt	12 ppt	18 ppt
آب	۱۲	۱۹۵	۳٤۲	۳۵۰
پلاسمای خون قزل آلای تریپلوئید	۲۹۰	۳۱۵	۳۳۳	۳٤۷

بررسی تغییرات بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase:

برآورد میزان نسبی بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase (NKA) (نسبت به بیان ژن EF-1α) در ماهیان قزل‌آلای تریپلوئید نشان داد که میانگین میزان نسبی بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم NKA در گروه شاهد به طور معنی داری کمتر از دیگر تیمارهای شوری است (P<0/001). پس از گروه شاهد میانگین میزان نسبی بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم NKA به ترتیب در تیمارهای ٦ ، ۱۲ و ۱۸**ppt** افزایش یافت (نمودار۱) (تصویر 1A-1B).



نمودار۱ – مقایسه میزان بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase نسبت به ژن کنترل داخلی EF1α در ماهی قزل آلای رنگین کمان تریپلوئید قرار گرفته در سطوح مختلف شوری

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

بحث

اگرچه القای تریپلوئیدی در ماهیان باعث کاهش عملکرد دستگاه ایمنی می شود (Cotter و همکاران ۲۰۰۰، Hulata ۲۰۰۱) هیچ تاثیری بر روی توانایی تحمل به شوری نداشته و ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید در انتقال مستقیم به شوری از مقاومت یکسانی برخوردارند (Dumas و همکاران ۱۹۹۵ ، Taylor و همکاران ۲۰۰۷). در تحقیق حاضر نیز انتقال ماهیان قزل‌آلای تریپلوئید به شوری‌های مختلف بازماندگی صد در صد داشته و هیچ گونه تلفاتی را به همراه نداشته است (Singer و همکاران ۲۰۰۶، Dumas و همکاران ۲۰۰۵).

با توجه به نزدیکی اسمولالیته پلاسمای خون ماهی و اسمولالیته آب در تیمارهای ۱۲ و ۱۸ در هزار به نظر می‌رسد این شوری‌ها برای نگهداری ماهی بسیار مناسب می‌باشند. مطالعات ابتدایی نشان دادند که مصرف انرژی در تنظیم اسمزی ماهیان استخوانی بسیار بالاست (Farmer و Beamish ۱۹۶۹؛ Rao ۱۹۶۸) و این محققان افزایش ۲۰-۳۰% متابولیسم را در آب شیرین و آب دریا در مقایسه با محیط ایزواسمتیک گزارش کرده اند، به طوری که هزینه تنظیم اسمزی در مجیط ایزواسمتیک به صفر می‌رسد.

ایزوفرم‌های زیر واحد آلفا Na^+-K^+-ATPase آبشش در اثر انتقال به آب شور دچار تغییر می شود، Crombie و همکاران (۱۹۹۶)، این تغییرات را در آبشش ماهی کاد اطلس و Tipsmark و Madsen (۲۰۰۱) در قزل‌آلای قهوه ای مشاهده کردند(Crombie و Bell ۱۹۹۶، Sedgwick۱۹۹۵) در طول انتقال به آب دریا بسیاری از ماهیان یوری‌هالین و آنادروم فعالیت Na^+-K^+-ATPase خود را افزایش می دهند تا فرآیند ترشح یون را بر خلاف شیب غلظت تسهیل کند (Madsen و همکاران ۱۹۹۵).

این افزایش در فعالیت Na^+-K^+-ATPase همراه با افزایش فعالیت زیر واحدهای Na^+-K^+-ATPase می باشد. به ویژه افزایش فعالیت زیر واحد آلفا در ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) (D'Cotta et al., 2000) قزل‌آلای جویباری (*Salmo trutta*) (Mackie وهمکاران ۲۰۰۵، Roche و همکاران ۱۹۸۹) و مار ماهی اروپایی(Cutler et al., 1995) مشاهده شده است. در سال ۲۰۰۶ Bystriansky و همکاران بیان کردند که افزایش فعالیت Na^+-K^+-ATPase آبشش در آب شور به علت افزایش میزان زیر واحد α_{1b} می باشد زیرا بیان زیر واحد α_{1a} در آب شور کاهش می یابد (Bystriansky et al., 2006). افزایش بیان زیر واحد آلفا در سایر مطالعات (Mackie و همکاران ۲۰۰۵، Roche و همکاران ۱۹۸۹، Sedgwick 1995) به علت افزایش بیان ایزوفرم α_{1b} بیان شده است و این امر پیشنهاد می کند که ایزوفرم α_{1b} اختصاصاً ایزوفرم مرتبط با تنظیم Na^+-K^+-ATPase در سازگاری با آب شور آزاد ماهیان می باشد. در تحقیقی که توسط محققین بر روی چندین خانواده از آزاد ماهیان انجام شد مشاهده گردید که میزان بیان ژن زیر واحد α_{1b} آنزیم Na^+-K^+-ATPase آبششی در تیمار شوری بیش از تیمار آب شیرین بوده است و این روند افزایشی طی دوره ۳۰ روزه آزمایش مشاهده شده است (Lin و همکاران 2004) زیر واحدα آنزیم Na^+-K^+-ATPase نقش کاتالیزی داشته و در انتقال پتاسیم به داخل سلول و خروج سدیم از سلول به طرف پلاسما نقش فعالی را ایفا می کند. وجود آنزیم Na^+-K^+-ATPase جهت تبادلات یونی و خصوصاً حفظ یون در آبزیان آب شیرین الزامی است ولی از آنجاییکه فعالیت کوترنسپورتر NKCC، واقع در بخش قاعده ای- جانبی سلول‌های کلراید برای فعالیت در جهت دفع یونهای اضافی در آبهای شور وابسته به میزان حضور و فعالیت Na^+-K^+-ATPase می باشد ، لذا

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

افزایش کل Na^+-K^+-ATPase در آبهای شور بعنوان نشانه سازشی محسوب می گردد(Khodabandeh ۲۰۰٦). در بررسی حاضر نیز تغییرات بیان ژن Na^+-K^+-ATPase α_{1b} آبشش ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان از آب شیرین تا آب ۱۸ ppt یک روند افزایشی مستقیم و خطی را طی کرده و در آب ۱۸ ppt به حداکثر خود رسیده است (نمودار۱). بیشتر مطالعاتی که در مورد سازگاری آزادماهیان آنادروم به آب شور بحث کرده اند ، یک افزایش در فعالیت Na^+-K^+-ATPase آبششی را گزارش کردند (Flik و Verbost ۱۹۹۳، Marshall ۲۰۰۲) که نشان دهنده سازگاری موفقیت آمیز آن‌ها می باشد.

نقش سلول‌های کلراید در ماهیان به طور گسترده مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Evans و همکاران ۲۰۰۵، Madsen و همکاران ۱۹۹۵، Uchida و همکاران ۱۹۹٦، Van der Heijden و همکاران ۱۹۹۷) و در گونه‌های مختلف با توجه به شرایط اسمزی حاکم، فیلامنتها یا لاملاها در تنظیم اسمزی نقش دارند (Rao ۱۹٦۸). حضور سلول‌های کلراید در روی لاملاهای برخی ماهیان از جمله *Dicentrarchus labrax* (Uchidaو همکاران۱۹۹٦) ،*Dasyatis* (Evans ۲۰۰۵) و عدم حضور آن‌ها در برخی دیگر(*Tetraodon nigroviridis*) (Lignot و همکاران ۲۰۰۱) ،*Oreochromis mossambicus* گزارش شده است (Tipsmark و Madsen ۲۰۰۱). استفاده از آنتی کورIgGα جهت مکان یابی سلولهای کلراید در بسیاری از آبزیان به عنوان روشی موفق گزارش شده است. (Katoh و Kaneko ۲۰۰۳، Khodabandeh ۲۰۰۵a ، Khodabandeh و همکاران ۲۰۰۵b ، Khodabandeh ۲۰۰٦).

در مطالعه حاضر کمترین تعداد تیمار سلول‌های کلراید بین لاملایی در تیمار آب شیرین مشاهده شد و سلول‌های کلراید لاملایی تعداد بالایی داشتند و این می تواند نشان از نقش کمتر سلول‌های کلراید بین لاملایی (فیلامنتی) در آب شیرین باشد. بسیاری از محققان نیز معتقدند که سلول‌های کلراید روی لاملا فقط در محیط هیپواسمتیک نقش دارند (Jaunin و همکاران ۱۹۹۳، Kuwaye و همکاران ۱۹۹۳). همچنین(Uchida و همکاران۱۹۹٦). بیان کردند که نقش سلولهای کلراید لاملایی در آب شور کمتر از آب شیرین می باشد. مساحت سطح مقطع سلول‌های کلراید لاملایی در چهار تیمار تفاوت معنی دار نشان ندادند اما مساحت سلول‌های کلراید بین لاملایی در آب شیرین به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بوده است ممکن است با توجه به اینکه ماهی در محیطی هیپواسمتیک قرار گرفته و از طرفی کمترین تعداد سلولهای کلراید بین لاملایی را دارد با افزایش اندازه تا حدودی توانسته تعادل اسمزی بدن را حفظ کند.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی مشاهده شد که بیشترین تعداد سلولهای کلراید لاملایی و بین لاملایی در آب ٦ و ۱۸ ppt وجود دارد واین روند افزایشی از آب شیرین به آب ۱۸ ppt به چشم می خورد به استثنای تیمار ۱۲ ppt که ماهی در محیط ایزواسمتیک قرار گرفته و نیازش به تنظیم یونی کاهش یافته است، از سوی دیگر تعداد بالای سلولهای کلراید در تیمار٦ ppt مانند تیمار ppt۱۸ ممکن است به این علت باشد که نوع سلول‌های کلراید در این دو شوری متفاوت بوده که برای درک بیشتر نیاز به مطالعات میکروسکوپ الکترونی دارد. از سوی دیگر افزایش تعداد سلول‌های کلراید در تیمار ۱۸ ppt که با افزایش اندازه سلول‌های کلراید نیز توام بوده احتمالاً به همراه افزایش ناگهانی اسمولالیته پلاسما دلیلی برای پارگی لاملا در بافت آبشش ماهیان تیمار ۱۸ بخش در هزار باشد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

جمع بندی نهایی حاصل از مطالعه تغییرات ریخت شناسی و فیزیولوژیک مشاهده شده در ماهیان قزل‌آلای تریپلوئید بدنبال انتقال مستقیم آن‌ها به آب شور گویای این واقعیت است که این ماهیان به خوبی توان سازگاری با شوری‌های مختلف را داشته و با توجه به بازار پسندی قزل الای رنگین‌کمان و کمبود منابع آب شیرین در کشور، این گونه جهت پرورش در منابع آب‌های لب شور کشور مستعد می‌باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان از کارشناسان محترم آزمایشگاههای بیولوژی و شیلات دانشکده علوم دریایی و آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و همچنین از مدیریت و پرسنل گرانقدر مرکز تکثیر ماهی آزاد شهید باهنر کلاردشت بخاطر کمک‌های بسیار سودمندشان تشکر وقدردانی می نماییم.

منابع

Abdoli, A. 2000. Inland water fishes of Iran. Publications Museum of Nature and Wildlife of Iran. 378 p.

Bartley, D. M., Rana. K. and Immink, A. J. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 10: 325-337

Beyenbach, K. B. 2004. Kidneys sans glumeruli. *American Journal of Physiology*, 286: 81- 827.

Bystriansky, J. S., Richards, J. G., Schulte, P. M. and Ballantyne, J. S., 2006. Reciprocal expression of gill Na^+-K^+-ATPase αsubunit isoforms α_{1a} and α_{1b} during seawater acclimation of three salmonid fishes that vary in their salinity tolerance. *The Journal of Experimental Biology,* 209: 1848-1858.

Bystriansky, J. S., Frick, N.T., Richards, J. G., Schulte, P. M. and Ballantyne, J. S. 2007. Failure to up-regulate gill Na^+,K^+-ATPase α-subunit isoform α_{1b} may limit seawater tolerance of. Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A 148: 332–338.

Cleveland, B. M., M. and Weber, G. 2013. Effects of triploidy on growth and protein degradation in skeletal muscle during recovery from feed deprivation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A 166:128–137.

Chow, D. C. and Forte, J. G. 1995. Functional significance of the b-subunit for heterodimeric P-type ATPases. *Journal of Experimental Biology*, 198: 1–17.

Cotter, D., O'Donovon, V., O'Maoileidigh, N., Rogan, G., Roche, N. and Wilkins, N. P. 2000. An evaluation of the use of triploid Atlantic salmon *(Salmo salar*) in minimizing the impact of escaped farmed salmon on wild populations. *Aquaculture*, 186: 61–75.

Cutler, C.P., Sanders, I. L., Hazon, N. and Cramb, G., 1995. Primary sequence, tissue specificity and expression of the Na^+-K^+ATPase α1 subunit in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. B 111: 567–573.

Crombie, H. J., Bell, M. V. and Tytler, P. 1996. Inhibition of sodium plus- potassium-stimulated adenosine triphosphatase (Na^+-K^+ATPase) by protein kinase C activators in the gills of Atlantic cod (*Gadus morhua*).*Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 113: 765-772.

Dorafshan S., Kalbassi M. R., Pourkazemi M., Amiri B. and Soltankarimi S. 2008. Effects of triploidy on the Caspian salmon (*salmo trutta caspius*) haematology. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*. 34 (3): 195-200

D'Cotta, H., Valoaire, C., Le Gac, F. and Prunet, P., 2000. Synthesis of gill Na^+-K^+-ATPase in Atlantic salmon smolt: differences in mRNA and protein levels**.** *American Journal Of Physiology.* 278: 101-110.

Dendrinos, P. and Thorpe, J. P. 1985. Effects of reduced salinity on growth and body composition in the European bass (*Dicentrarchus labrax* L). *Aquaculture*, 49:333-358.

Dumas, S., Audet, C., Blanc, J. M. and De la Nou E, J. 1995. Seawater acclimation of diploid and triploid brook charr (*Salvelinus fontinalis*), diploid

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

growth parameters, blood factors and proximate composition of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*) cultured in underground brackish and freshwater. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4):836-842.

Hulata, G. 2001. Genetic manipulation in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genetica*, 111: 155-173.

Hyndman, C. A., Kieffer, J. D., Benfey, T. J. 2003. Physiology and survival of triploid brook trout following exhaustive exercise in warm water. *Aquaculture,* 221: 629-643.

Jaunin, P., Jaisser, F., Beggah, A. T., Takyasu, K., Mangeat, P., Rossier, C., Horisberger, J. D. and Geering, K. 1993. Role of the transmembrane and extra cytoplasmic domain of β subunits in subunit assembly, intracellular transport and functional expression of Na ,K-pumps. *Journal of Cell Biology,* 123: 1751-1759.

Kalbassi M., Dorafshan S., Pourkazemi M. and Amiri B. 2009. Triploidy induction in the Caspian salmon (*salmo trutta caspius*) by heat shock. *Journal of Applied Ichthyology*, (25): 104-107

Katoh, F. and Kaneko, T., 2003. Short-term transformation and long-term replacement of bronchial chloride cells in killifish transferred from seawater to freshwater, revealed by morphofunctional observations and a newly established 'time-differential double fluorescent staining' technique. *Journal of Experimental Biology*. 206: 4113-4123.

Kazemi, R. and Bahmani, M. 1999. Annual Report of the International Sturgeon Research Institute. Department of Physiology and Biochemistry.

Khodabandeh, S., Charmantier, G., Blasco, C., Grousset, E. and CharmantierDauky, M. 2005. Ontogeny of the antennal glands in the Crayfish *(Astacus leptodactylus*) (Crustacea. Decapoda): Anatomical and cell differentiation. *Cell and Tissue Research*, 319: 153-165.

Khodabandeh, S. 2006. Na^+,K^+-ATPase in the gut of the Zygoptera (*lschnura elegans*) and Anisoptera *(Libellula lydia*) Lydia larvae (Odonata): activity and immunocytochemical localization. *Zoological Studies*, 45: 53-63.

Khodabandeh, S., Mosafer, S., Khoshnood, Z. and Tolouei, M. 2007. Salinity tolerance capacity Arctic charr (*Salvelinus alpinus*), and their diploid and triploid hybrids. *Journal of Fish Biology*, 46: 302-316.

Evans, D. H., 1975. Ionic exchange mechanisms in fish gills. *Comparative Biochemistry and Physiology* , 51: 491-495.

Evans, D. H . 1993. Osmotic and Ionic Regulation. *The Physiology of Fishes*. CRC Press. 315- 341.

Evans, D. H., Piermarini, P. M. and Choe, K. P. 2005. The Multifunctional Fish Dominant Gill: Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation and Excretion of Nitrogenous Waste. *Physiological Reviews*, 85: 97-177

Ewart, H. S. and Klip, A., 1995. Hormonal regulation of the Na^+·K^+-ATPase: mechanisms underlying rapid and sustained changes in pump activity. *American Journal of Physiology*, 269: C295–C311.

Falahati, A. 2002. Comparison of the development process gonads rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in freshwater and brackish. M.Sc. Thesis. School of Marine Science. Tarbiat Modares University. (Abstract in English)

Farmer, G. J. and Beamish, F. W. H. 1969. Oxygen consumption of *Tilapia nilotica* in relation to swimming speed and salinity. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 26: 2807–2821.

Fish Stat Plus, **2006.** FAO Fisheries statistics.

Flik, G. and Verbost, P. M. 1993. Calcium Transport in Fish Gills and Intestine. *The Journal of Experimental Biology*. 184: 17-29.

Folmar, L. C. and Dickhoff, W. W. 1979. Plasma thyroxin and gill Na^+-K^+-ATPase changes during seawater acclimation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63A: 329-332.

Gaumet, F., Boeuf, G., Severe, A., Le Roux, A., Mayer Gostan, N., 1995. Effects of salinity on the ionic balance and growth of juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*, 47: 865-876.

Horisberger, J. D., Lemas, V., Kraehenbuhl, J. P. and Rossier, B. C., 1991. Structure-function relationship of Na,K-ATPase. *Annual Review Physiology*, 53: 565-584

Hosseinzadeh Sahafi, H., Masaeli, S., Alizadeh, M., Negarestan H. and Naji, T. 2013. A study on

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

Mortoja, R. and Mortoja Pierson, M. 1967. Initiation aux techniques de l'histologie animale . *Masson et Cie, Paris*, 345p.

Nebel, C., NegreSadargues, G., Blasco, C. and Chamantier, G. 2005. Morphofunctional ontogeny of the urinary system of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Anatomy and embryology*, 209(3):193-206.

Perry, S. F. 1997. The chloride cell: structure and function in gills of freshwater fishes *.the Review Annual Physiology.* 59: 325-347

Richards, J. G., Semple, J. W., Bystriansky, J. S. and Schulte, P. M. 2003. Na^+/K^+-ATPase

alpha isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer *Journal of Experimental Biology*, 206: 4475-4486.

Roche, H., Chaar, K. and Peres, G. 1989. The effect of a gradual decrease in salinity on the significant constituents of tissue in the sea bass *Dicentrarchus labrax* Pisces. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 93A: 785-789

Rao, G. 1968. Oxygen consumption of rainbow trout in relation to activity and salinity. *Canadian Journal of Zoology*, 46: 781-786.

Seidelin, M., Madsen, S. S., Blenstrup, H. and Tipsmark, C. K. 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*, 73: 446-453.

Shikano, T. and Fujio, Y., 1998a. Immunolocalization of Na^+/K^+-ATPase and morphological changes in two types of chloride cells in the gill epithelium during seawater and freshwater adaptation in a euryhaline teleost, *Poecilia reticulate. Journal of Experimental. Zoology*, 281: 80-89.

Shikano,T. and Fujio, Y. 1998b. Relationships of salinity tolerance to immunolocalization of Na^+,K^+-ATPase in the gill epithelium during seawater and freshwater adaptation of the guppy, *Poecilia reticulate. Zoological Science*, 15: 35-41.

Singer, T. D., Clements, K. M., Semple, J. W., Schulute, P. M., Bystriansky, J. S., Singer, T. D., Raptis, S., Sathiyaa, R., Nichols, J. W., Playle, R. C. and Vijayan, M. M. 2006. Tissue-specific modulation of glucocorticoid receptor expression in response to salinity acclimation in rainbow trout. inn Persian sturgeon, *Acipenser persicus* Fry. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*: Molecular and integrative Physiology,* 146(4): 93-94.

Kuwaye, T. T., Okimoto, D. K., Shimoda, S. K., Howerton, R. D., Lin, H. R., Pang, P. K. T. and Grau, E. G., 1993. Effect of 17a-methyltestosterone on the growth of the euryhaline tilapia, (*Oreochromis mossambicus*) in fresh water and sea water. *Aquaculture* 113, 137-152.

Laurent, P., Dunel, E. S., Chevalier, C. and Lignon, J. 1994. Gill epithelial cell kinetics in a freshwater teleost, *Oncorhynchus mykiss*, during adaptation to ion-poor water and hormonal treatments. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 353-370.

Lignot, J ,H Charmantier Daures, M. and Charmantier, G. 2001. Immunolocalization of Na+,K+-ATPase in the organs of the bronchial cavity of the European Lobster (*Homarus gammarus*) (Crustacea, Decapoda).*Cell and Tissue Research*, 296: 417-426.

Lin, C. H., Tsai, R. S. and Lee, T. H. 2004. Expression and distribution of Na^+,K^+-ATPase in the gill and kidney of the spotted green pufferfish, *(Tetraodon nigroviridis)* in response to salinity challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A138: 287-295.

Mackie, P., Wright, P. A., Globe, B. D. and Ballantyne, J. S. 2005. Osmoregulation and gene expression of Na^+-K^+-ATPase in families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic sciences*, 62: 2661-2672

Madsen, S. S., Jensen, M. K., Nohr, J. and Kristiansen, K. 1995. Expression of Na^+-K^+-ATPase in the brown trout *(Salmo trutta*): in vivo modulation by hormones and seawater. *American journal of Physiology,* 269, 1339- 1345.

Marshall, W. S. 2002. Na^+, Cl^-, Ca^{2+} and Zn^{2+} transport by fish Gills: retrospective review and prospective synthesis. *Journal of Experimental zoology*, 293: 264-283

McCormick, S. D. and Saunders, R. L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life in salmonids: Osmoregulation,. Growth and metabolism. *American Fisheries Society Symposium Series*, 1: 211-229.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 146: 271-278.

Sedgwick, S. D. 1995. Trout Farming Handbook. Fifth Ed. Fishing News Books, Alden Press, Oxford.

Taylor, J. F., Needham, M. P., North, B. P., Morgan, A., Thompson, K. and Migaud, H. 2007. The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout, *General and Comparative Endocrinology*, 152: 314-325.

Tipsmark, C. K. and Madsen, S. S. 2001. Rapid modulation of Na^+K^+-ATPase activity in osmoregulatory tissues of a salmonid fish. *Journal of Experimental Biology*, 204: 701-709.

Uchida, K., Kaneko, T., Yamauchi, K., Hirano, T., 1996. Morphometrical analysis of chloride cell activity in the gill filaments and lamellae and changes in $Na^{+,}K^+$-ATPase activity during seawater adaptation in chum salmon fry. *Journal of Experimental Zoology*, 276: 193-200.

Van der Heijden, A. J. H., Verbost, P. M., Eygensteyn, J., Li, J., Wendelelaar Bonga, S. E. and Flik, G. 1997. Mitochondria-rich cells in gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) adapted to freshwater or seawater: quantification by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Experimental Biology*, 200: 55-64.

Varsamos, S., Diaz,,T. P., Charmantier, G., Flik, G., Blasco, C. and Connes, R. 2002. Bronchial chloride cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) adapted to fresh water, seawater, and doubly concentrated seawater. *Journal of Experimental Zoology*, 293: 12-26.

Varsamos S, Nebel C. and Charmantier G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish A review, Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: *Molecular & Integrative Physiology*, 141: 401-429.

Wendelaar Bonga, S. E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 3, No. 3, Autumn 2014

Study of some Osmoregulation Parameters in Triploid Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss)* in Adaptation to Different Salinities

Sahel Soltankarimi[1], Mohammad Reza Kalbassi [2]*, Saber Khodabandeh[3], Mehdi Forozandeh[4]

1- M.Sc. Graduated Student, Department of fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2- Prof., Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3- Associated Prof., Marin biology Department, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor Iran

4- Prof., Department of Medicine Genetics, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 21.9.214 Accepted: 2.10.2014

Corresponding author: Kalbassi_m@modares.ac.ir

Abstract:

Morphological changes of the chloride cells and the α_{1b} subunit gene expression of Na^+-K^+-ATPase in triploid rainbow trout (70.6 g average weight) were studied upon direct transferring to 6, 12 and 18 ppt salinities. Changes in abundance, distribution pattern, and the sectioned area of the chloride cells was studied through classic histology and Na^+ K^+-ATPase localization was performed through immunofluorescence light microscopy using a mouse monoclonal antibody IgGα5. Gene expression of Na^+-K^+-ATPase α_{1b} subunit was studied by semi-quantitative gene expression methods.No mortality occurred among the fish in all salinities during the 10-days experimental period and treated fish kept their plasma osmolality at standard physiologic levels. All the fish also showed similar distribution pattern in their chloride cells that were distributed on filaments, between and over lamella. Histological studies confirmed some abnormal morphological changes such as lamella interruption. Immunohistochemical studies showed the highest number of the chloride cells on lamella and between lamella in 18 ppt and the maximum sectional area of the chloride cells in freshwater. Gene expression of Na^+-K^+-ATPase α_{1b} subunit had direct correlation with increasing trend of salinity. In conclusions, triploid rainbow trout was found to be adaptable to the various experimented salinities and could be recommended for rearing in brackish water.

Keywords: Triploidy, Chloride cell, Semi quantitative Gene expression, Immunohistochemistry, Oncorhynchus mykiss

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.3.3.8]