مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۱ شماره ۱، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۴۲ تا ۵۴

اثرات روشهای انتقال ناگهانی و تدریجی به شوری آب دریای خزر بر تنظیم یونی، برخی از پاسخ‌های ایمنی و شاخص‌های استرس در بچه ماهی کلمه دریای خزر (*Rutilus caspicus*, Yakovlev 1870)

نگین امین[۱]، سیده آیناز شیرنگی[۱*]، حدیثه کشیری[۲]، حجت الله جعفریان[۳]، حسین آدینه[۳]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران.
۲- گروه تولید و بهره برداری، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۳- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران.

چکـــیده

به دلیل اهمیت فرایند تنظیم اسمزی در موفقیت رهاسازی بچه ماهیان کلمه دریای خزر (*Rutilus caspicus*)، حفظ و بازسازی ذخایر آن‌ها، تحقیق حاضر با هدف بررسی توان این ماهیان (با میانگین وزنی ۰/۰۱۸ ± 4/1 g) در تحمل شوری آب دریای خزر به روش‌های انتقال مستقیم و تدریجی در دو زمان کوتاه مدت (۲۴ ساعت) و بلندمدت (۲۱ روز) انجام شد. بدین منظور، ۳۶۰ قطعه بچه ماهی کلمه در سه گروه: ۱) افزایش ناگهانی شوری (انتقال مستقیم به آب دریای خزر)، ۲) افزایش تدریجی شوری (هر ۲۴ ساعت به میزان 3 ppt) و ۳) گروه شاهد (آب شیرین) در ۹ تیمار آزمایشی (هر یک با ۳ تکرار) بطور تصادفی توزیع شدند. به‌منظور بررسی تنظیم یونی، میزان اسمولالیته و یون‌های Na^+، K^+ و Cl^- در ماهیان مورد سنجش قرار گرفت. برخی از پاسخ‌های ایمنی نسبت به افزایش شوری (ایمونوگلوبین کل و فعالیت لیزوزیم) و شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز) در بدن ماهیان نیز اندازه گیری شد. بر اساس نتایج بدست آمده، ماهیان در هر دو تیمار افزایش شوری درصد بقائ بالایی نشان دادند. تمامی پارامترهای مرتبط با تنظیم یونی پس از افزایش اولیه، در انتهای آزمایش مجددا کاهش یافتند. به علاوه، روند تغییرات میزان کورتیزول و ایمونوگلوبین در تیمارهای مورد آزمایش متضاد هم بود که نشان دهنده کاهش پاسخ استرس و افزایش سیستم ایمنی بدن ماهیان در هر دو روش انتقال شوری است. بنابراین، بچه ماهیان کلمه (۲-۱ گرم) قابلیت انتقال مستقیم به داخل دریای خزر را دارند.

کـــلید واژه‌ها: ماهی کلمه دریای خزر (*Rutilus caspicus*)، سازگاری شوری، انتقال مستقیم، انتقال تدریجی، سیستم ایمنی، استرس

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۵
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۱۲/۰۱

***نویسنده مسول:**
a.shirangi@gonbad.ac.ir

مقدمه

هر عامل تغییردهنده محیط طبیعی را می‌توان منبعی از استرس در نظر گرفت؛ شوری یکی از آن دسته استرس‌هایی است که به میزان زیادی فیزیولوژی موجودات آبزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱]. زمانی که ماهیان تحت تغییر شوری قرار می‌گیرند، فعالیت‌هایی مانند نرخ نوشیدن آب و تنظیم اسمزی تغییر می‌کنند تا فشار اسمزی بدن و تعادل یونی ایجاد شود [۲، ۳]. شوری به علت تاثیری که روی میزان متابولیسم استاندارد، جذب غذا، ضریب تبدیل غذا و ترشح هورمون‌ها می‌گذارد باعث تغییر در نرخ رشد می‌شود [۴]. ماهیان یوری هالین زمانی که با تغییر شوری محیط آبی اطراف خود مواجه می‌شوند می‌توانند ترکیبات یونی و فشار اسمزی مایعات داخلی بدن خود را ثابت نگه دارند. قابلیت تنظیم اسمزی

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

برای بقا ماهیان چه در محیط آب شور و چه در محیط آب شیرین ضروری است. این تنظیم از طریق یون‌های مختلف سرم خون از جمله Na^+، K^+ و Cl^- و فرایند تنظیم اسمزی ایجاد می‌شود [۵، ۶].

حفظ تعادل یون و آب و یا تعادل تنظیم اسمزی در ماهیان، توسط بعضی از اندام‌ها از جمله آبشش، کلیه، روده و پوست انجام می‌شود و تحت کنترل فیزیولوژیک هورمونی قرار دارد [۷، ۸]. آبشش به عنوان اولین اندامی که با محیط بیرون از بدن در ارتباط است، دارای سلول‌های کلراید (سلول‌های غنی از میتوکندری اپی‌تلیوم یا یونوسایت) است که مکان‌های مهمی برای انتقال فعال یون‌ها محسوب می‌شود. این سلول‌ها در آب شیرین با جذب یون‌ها و در آب شور با ترشح یون‌های تک ظرفیتی نقش مهمی در تنظیم اسمزی دارند [۹، ۱۰]. پمپ Na^+-K^+-ATPase (NKA) واقع در قسمت قاعده ای جانبی سلول‌های کلراید در انتقال یون‌ها شرکت می‌کنند [۱۱، ۱۲].

ماهی کلمه دریای خزر با نام علمی *Rutilus caspicus* (Yakovlev 1870) یکی از گونه‌های مهم خانواده کپور ماهیان و با ارزش اقتصادی و اکولوژی بالا می‌باشد که هم مورد مصرف انسـان قرار می‌گیرد و هم در چرخه حیات ماهیان با ارزش مانند تاس ماهیان و فیل ماهیان نقش بسزایی دارد [۱۳]. این گونه، یک ماهی مهاجر دریایی است که در آب‌های شیرین و لب شور اکوسیستم های مختلف آبی اروپا و بخش‌های زیادی از آسیا زندگی می‌کند. حوزه دریای خزر نیز یکی از مهم‌ترین مناطق پراکنش آن، می‌باشد. این ماهیان، در فصل بهار از دریای خزر به سمت رودخانه‌ها مهاجرت نموده و در ابتدای رودخانه‌ها، مصب‌ها و تالاب‌های حوضه جنوبی دریای خزر تخم ریزی می‌کنند و در فصل پاییز به سمت دریا باز می‌گردند [۱۴]. متاسفانه طی دهه‌های گذشته ذخایر این ماهی در اثر صید بیش از حد و همچنین تخریب مناطق تخمریزی در معرض خطر قرار گرفته است [۱۵، ۱۶]. به همین منظور سازمان شیلات ایران برای حفظ و بازسازی ذخایر ماهی کلمه، سالانه میلیون‌ها لارو و بچه ماهی را از طریق تکثیر مصنوعی تولید نموده و به داخل رودخانه‌های اطراف دریای خزر رهاسازی می‌کند [۱۷]. با وجود این‌که هر ساله هزینه‌های کلانی برای تکثیر و پرورش و رهاسازی این ماهی صورت می‌گیرد به نظر می‌رسد این عمل کمک موثری به بازسازی ذخایر این گونه نکرده است. طی مشاهدات و گزارشات بدست آمده بخش قابل توجهی از بچه ماهیان رهاسازی شده به داخل رودخانه‌ها قبل از ورود به دریا تلف می‌شوند که یکی از دلایل این امر می‌تواند عدم توان کافی در سازگاری با شرایط محیطی به سبب مشکلات تنظیم یونی در این گونه باشد.

قابلیت تنظیم اسمزی یکی از مهمترین عوامل فیزیولوژیک در موفقیت بازسازی ذخایر آبزیان می‌باشد [۱۸-۲۰]. در بررسی قابلیت توان تحمل ماهیان کلمه و سفید نسبت به شوری‌های مختلف می‌توان به مطالعات متعدد اشاره نمود: در مطالعه‌ای، تاثیر افزایش تدریجی شوری بر قابلیت تنظیم اسمزی بچه ماهی کلمه با وزن حدود ۳ گرم بررسی شد. هیچ مرگ . میری در بچه ماهیان کلمه طی ۴۸ ساعت نگهداری در آب لب شور دریای خزر (۱۲/۵ ppt) مشاهده نشد [۱۹]. در تحقیقی دیگر طی پرورش بچه ماهیان سفید انگشت قد (۱ گرم) در آبهای با شوری ppt ۴، ۶، ۸ و ۱۰ به مدت ۶۰ روز، حداکثر افزایش وزن و حداقل ضریب تبدیل غذایی در ماهیان پرورش یافته در آب با شوری ppt ۱۰ مشاهده شد [۲۱]. همچنین، در بررسی تاثیر انتقال بچه ماهیان سفید با وزن ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم به آبهای با شوری ppt ۷، ۱۲/۵ و ۱۶ طی ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، بچه ماهیان در شوری ppt ۷ هیچ گونه تلفاتی نشان ندادند درحالیکه تلفات در شوری ppt ۱۲/۵ طی ۱۲ ساعت ابتدایی انتقل شوری افزایش یافت و در شوری ppt ۱۶ تمامی ماهیان تا انتهای دوره آزمایش از بین رفتند و تلفات به شکل معنی داری با افزایش شوری افزایش و با افزایش وزن کاهش یافت [۲۰]. در مطالعه‌ای که توسط محیسنی و همکاران [۲۴] انجام شد محرومیت غذایی یک هفته ای در بچه ماهی سفید ۰/۵ گرمی در مواجهه با آب لب شور دریای خزر (۱۲ ppt) موجب اختلال در توسعه سلول‌های کلراید آبشش گردید [۲۴]. در برخی از مطالعات انجام شده افزایش تدریجی شوری برخی ماهیان دیادروموس طی چند مرحله به عنوان راه حلی در زمینه افزایش سازگاری ماهیان به شوری محیط پیشنهاد شده است که در مقایسه با افزایش ناگهانی شوری درصد بقاء بالاتری گزارش شده است [۲۱-۲۳]. اگر چه کلا مطالعات خوبی در زمینه شناخت تنظیم اسمزی بچه ماهیان کلمه و سفید و کمک در جهت افزایش مقاومت آنها به شوری خزر انجام گرفته است [۱۹، ۲۰،

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

[۲۱، ۲۴]، اما اطلاعات جامعی مبنی بر مطالعه همزمان و مقایسه قابلیت سازگاری این گونه ماهی طی انتقال مستقیم و تدریجی به شوری دریای خزر در هنگام رهاسازی این گونه جهت ورود به دریای خزر مشاهده نگردیده است. همچنین مطالعات پیشین تنها به بررسی قابلیت توانایی سازگاری این ماهیان در مدت زمان کوتاه (حداکثر یک هفته) محدود شده است. بنابراین، شناسایی قابلیت بقا ماهیان در مدت زمان طولانی‌تر (بیش از دو هفته) نسبت شوری آب دریای خزر ضروری به نظر می‌رسد. به همین دلیل، مطالعه حاضر جهت حفاظت بهتر گونه ماهی کلمه و بهبود صنعت آبزی پروری آن با مقایسه توان بچه ماهیان کلمه در سازگاری و تحمل شوری آب دریای خزر طی روش‌های انتقال تدریجی و انتقال مستقیم به طور همزمان در وزن رهاسازی و در مدت زمان سه هفته انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تیمارهای سازگاری با شوری

ماهی کلمه دریای خزر (*R. caspicus*) با میانگین وزنی حدود ۱ تا ۲ گرم (۰/۰۱۸ ± ۱/۴ g) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سیجوال بندرترکمن- استان گلستان تهیه شد و سپس به آزمایشگاه آبزی پروری دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. بعد از ۱۰ روز دوره سازگاری با شرایط آزمایشگاه، تعداد ۳۶۰ قطعه ماهی کلمه در ۳ تیمار آزمایشی (هر یک با ۳ تکرار) بطور تصادفی توزیع شدند بطوریکه در هر تکرار ۴۰ قطعه ماهی قرار داده شد. در تیمار افزایش ناگهانی شوری، یک دسته از ماهیان به طور مستقیم از آب شیرین (آب شهری کلرزدایی شده) وارد آب لب شور دریای خزر (۱۲ ppt) شدند. در تیمار افزایش تدریجی شوری، این روند با افزایش شوری طی ۴ روزانجام شد، به طوری‌که طی این مدت در هر ۲۴ ساعت شوری آب به میزان ۳ ppt افزایش یافت (به ترتیب ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ppt) [۱۹، ۲۱-۲۳]. به علاوه، یک گروه از ماهیان نیز در تمام طول دوره آزمایش به عنوان گروه شاهد در آب شیرین نگهداری شدند. همچنین پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مانند دما، pH و اکسیژن محلول به طور روزانه مورد سنجش قرار گرفت (جدول ۱). در تمام طول دوره آزمایش، غذادهی در حدود ۳ درصد وزن بدن در سه نوبت در طول شبانه روز انجام شد. آب لب شور مورد استفاده در این پژوهش از دریای خزر تامین شد و سطوح شوری مورد نظر از طریق ترکیب آب شور دریا با آب شیرین (آب شهری کلرزدایی شده) تهیه گردید.

جدول ۱-سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده در این تحقیق

نوع آب مورد استفاده	شوری ppt	اکسیژن mg/l	دما °C	PH	کدورت (TDS) g/l	هدایت الکتریکی (Cond) ms/cm
آب شیرین	۰/۱۶	۵/۹	۲۷/۵	۷/۸	۱/۶۱	۳/۱۵
آب لب شور دریای خزر	۱۲/۳۵	۷/۵۱	۲۸/۵	۸/۲	۱۱/۹۴	۲۰/۶۶

نمونه برداری و سنجش و تجزیه و تحلیل داده ها

تعداد تلفات در هر روز ثبت شد. نمونه‌برداری از ماهیان در دو زمان کوتاه مدت و بلندمدت به ترتیب ۲۴ ساعت و ۲۱ روز پس از انتقال به آب لب شور دریای خزر انجام شد [۲۰، ۲۳]. ۲۴ ساعت پیش از نمونه برداری از ماهیان به منظور تخلیه محتویات روده هایشان غذادهی متوقف شد. هنگام نمونه برداری از هر تیمار ۱۰ ماهی با پودر گل میخک بی‌هوش شدند. به دلیل اندازه بسیار کوچک ماهیان و عدم امکان خونگیری از آن‌ها، لاشه ماهیان را پس از جداسازی سر و دم، داخل هاون چینی له گردید و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

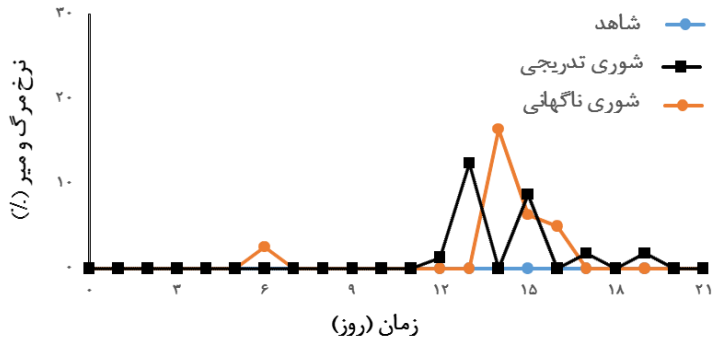
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

تعیین اسمولالیته با دستگاه Cryoscopic Osmometer (Gonotech آمریکا) و روش تعیین آن از طریق نقطه انجماد مایع انجام شد [۲۵]. برای اندازه‌گیری میزان یون‌های Na^+ و K^+ از دستگاه الکتروآنالایزر ISE کارتیوم ساخت کشورچین تحت لیسانس آلمان و از کیت شرکت زیست شیمی ایران استفاده شد. اندازه‌گیری یون Cl^- به روش فتومتری و با استفاده از کیت زیست شیمی ایران انجام شد [۲۵]. اندازه‌گیری میزان گلوکز به شیوه کالری متری و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) انجام شد [۲۶]. اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خون (ml/ng) (با روش الایزا (ELISA) و با به کارگیری کیت Monobind Inc کشور آمریکا انجام شد[۲۷]. جهت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین و لیزوزیم نیز از روش ایمونوتوربیدی متری و دستگاه اسپکتروفوتومتر (USA PerkinElmer Lambda Z 800) استفاده گردید [۲۸]. ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو–ولیک بررسی شد. برای بررسی اثرمتقابل شوری (ناگهانی و تدریجی) و زمان نمونه‌برداری (۲۴ ساعت و ۲۱ روز) در قالب طرح فاکتوریل ۲× ۲ از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گردید و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به‌صورت ($p<0.05$) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel استفاده شد.

نتایج

نرخ مرگ و میر روزانه برای ماهیان نگهداری شده در آب شیرین یا انتقال یافته به آب لب شور با توجه به نوع انتقال شوری ثبت گردید (شکل ۱). هیچ تلفاتی برای ماهیان گروه شاهد که در تمام طول آزمایش در آب شیرین نگهداری شده بودند، مشاهده نشد. به طور کلی، برای ماهیان هر دو تیمار انتقال شوری، تا پایان دوره آزمایش تلفات ناچیزی دیده شد. به طوریکه بیشترین میزان مرگ و میر برای ماهیان انتقال ناگهانی شوری در روز ۱۴، به میزان ۱۶/۴۱٪ و برای ماهیان انتقال تدریجی شوری در روز ۱۳، به میزان ۲۷/۴۱٪ ثبت گردید. میانگین درصد بقا برای ماهیان تحت انتقال ناگهانی و تدریجی شوری به ترتیب ۰/۰۳ ± ۷۹/۹۸٪ و ۰/۰۶ ± ۷۹/۹۸٪ می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- نرخ مرگ و میر روزانه در ماهیان کلمه تحت روش‌های مختلف انتقال به شوری آب دریای خزر

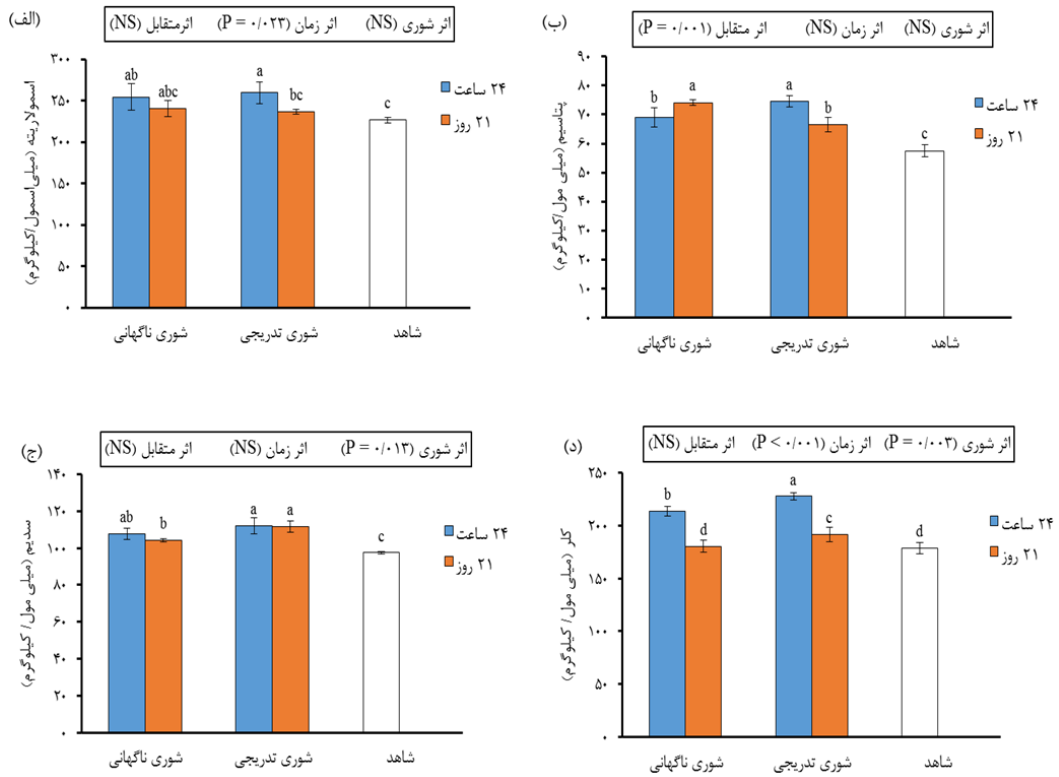
اسمولالیته ماهیان انتقال یافته از آب شیرین به آب لب شور دریای خزر، چه به صورت ناگهانی و چه به صورت تدریجی، به طور معنی داری در ساعات اولیه پس از انتقال به آب دریای خزر افزایش یافت ($p<0.05$). به‌طوریکه بیشترین میزان آن در ماهیان، ۲۴ ساعت پس از انتقال شوری تدریجی برابر $mOsm.Kg^{-1}$ ۱۳/۴۳ ±۲۵۹/۳۸ و کمترین آن در ماهیان تیمار شاهد برابر $mOsm.Kg^{-1}$ ۳/۲۹ ±۲۲۶/۴۴ به دست آمد. ماهیان در هر دو روش انتقال شوری، اسمولالیته خود را در انتهای آزمایش به طور معنی‌داری کاهش دادند و به سطحی نزدیک به میزان اسمولالیته در ماهیان گروه شاهد رساندند (شکل ۲، الف). آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که تنها زمان نمونه‌برداری بر میزان اسمولالیته بافت بدن ماهی کلمه در مواجهه با شوری ناگهانی و تدریجی اثر معنی‌داری داشت (شکل ۲، الف).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

میزان یون K^+ طی ۲۴ ساعت اول پس از انتقال شوری در هر دو تیمار به‌طور معنی داری نسبت به ماهیان گروه شاهد افزایش یافت ($p<0.05$، شکل ۲، ب). با وجود اینکه ماهیان گروه انتقال شوری تدریجی نسبت به ماهیان انتقال ناگهانی افزایش بیشتری در سطح K^+ خود نشان دادند، در انتهای دوره آزمایش میزان این یون در بدن آنها به طور معنی داری کاهش یافت اما هنوز در سطحی بالاتر از سطح K^+ در ماهیان گروه شاهد قرار داشت ($p<0.05$). به عکس، میزان K^+ در ماهیان انتقال شوری ناگهانی افزایش یافت ($p<0.05$). اگرچه شوری و زمان نمونه‌برداری بر غلظت K^+ اثری نداشتند اما اثرمتقابل معنی‌داری بدست آمد (شکل ۲، ب).

مقدار Na^+ در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری نشان داد، به‌طوری‌که بیشترین آن در گروه ماهیان انتقال تدریجی شوری چه پس از ۲۴ ساعت چه پس از ۲۱ روز بدست آمد و کمترین آن در تیمار شاهد به ثبت رسید ($P<0.05$، شکل ۲، ج). در هر دو تیمار انتقال شوری، میزان Na^+ در ابتدای دوره آزمایش به طور معنی‌داری افزایش یافت. در حالی‌که در ماهیان گروه انتقال ناگهانی شوری میزان آن در انتهای دوره آزمایش، کاهش یافت، اما در ماهیان تیمار انتقال تدریجی شوری، با وجود افزایش اولیه، با گذشت زمان تفاوت معنی داری در سطح Na^+ آنها مشاهده نشد ($p>0.05$، شکل ۲، ج). شوری بر مقادیر Na^+ در تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری داشت در حالیکه زمان نمونه‌برداری اثری بر مقدار این معیار نداشت (شکل ۲، ج).

میزان Cl^- در هر دو تیمار انتقال شوری، پس از۲۴ ساعت به طور معنی داری افزایش یافت اما با گذشت زمان و در انتهای دوره آزمایش کاهش یافت ($p<0.05$، شکل ۲، د). سطح Cl^- در گروه ماهیان انتقال ناگهانی شوری، به سطحی معادل این یون در ماهیان گروه شاهد کاهش یافت اما در ماهیان انتقال تدریجی شوری، کمی بالاتر از سطح ماهیان آب شیرین مشاهده شد. آنالیز آماری دو طرفه حاکی از وجود اثر شوری و اثر زمان نمونه‌برداری بر تغییرات مقدار Cl^- داشت در حالیکه اثرمتقابل مشاهده نشد.



شکل ۲- فعالیت‌های متابولیکی بافت بدن ماهی کلمه در مواجهه با شوری ناگهانی و تدریجی در زمان‌های ۲۴ ساعت و ۲۱ روز آزمایش. وجود حروف غیر مشابه در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار آماری است ($p<0.05$). NS: نشان از عدم وجود اثرمتقابل از نظر آماری است.

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم در ماهیان گروه شاهد (۱/۹۲± ۵۶/۹۷ واحد/گرم/دقیقه) و کمترین آن در تیمار ماهیان انتقال ناگهانی شوری (۲/۳۹± ۵۰/۳۴ واحد/گرم/دقیقه) به‌دست‌آمد (جدول۲). در هردو تیمار انتقال شوری، میزان لیزوزیم طی ۲۴ ساعت ابتدایی پس از انتقال ماهیان به شوری آب دریای خزر، به‌طور معنی داری کاهش یافت ($p<0.05$). با گذشت زمان تا انتهای دوره آزمایش، میزان آن در تیمار انتقال ناگهانی شوری روند کاهشی داشت در حالیکه، تیمار ماهیان انتقال تدریجی شوری، روند افزایشی نشان داد (جدول ۲). شوری و زمان بر فعالیت لیزوزیم اثرمتقابل نداشت ($p>0.05$).

میزان ایمنوگلوبین کل در هر دو تیمار انتقال شوری طی ۲۴ ساعت نسبت به گروه ماهیان شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($p<0.05$، جدول ۲). به طوری که، کمترین میزان این پارامتر، در ماهیان انتقال ناگهانی شوری (۰/۹۳± ۲۰/۶۹ میلی‌گرم/ گرم) مشاهده شد. این ماهیان، سپس تلاش نمودند میزان ایمونوگلوبین خود را تا انتهای دوره آزمایش مجددا افزایش دهند اما به سطح معادل در ماهیان گروه شاهد نرسیدند ($p<0.05$). در ماهیان انتقال تدریجی شوری، ایمونوگلوبین ۲۴ ساعت پس از انتقال شوری کاهش یافت و میزان آن تا انتهای دوره آزمایش نسبتا ثابت باقی ماند. مقادیر ایمنوگلوبین کل تحت تاثیر شوری و زمان نمونه‌برداری قرار گرفت و اثر متقابل مشاهده شد.

افزایش میزان هورمون کورتیزول در بافت بدن ماهی کلمه تنها در تیمار انتقال ناگهانی شوری (۵/۴۸± ۱۰۳/۶۳ نانوگرم/گرم)، ۲۴ ساعت پس از انتقال شوری مشاهده شد، اما در انتهای دوره آزمایش، این میزان کاهش یافت ($p<0.05$). در دیگر تیمارهای مورد آزمایش، تفاوت معنی‌داری در مقدار کورتیزول مشاهده نشد ($p>0.05$). شوری و زمان نمونه‌برداری بر مقدار کورتیزول اثر معنی‌داری داشت، همچنین این دو عامل بر کورتیزول اثر متقابل داشت ($p<0.05$).

میزان گلوکز در هر دو تیمار انتقال شوری در ابتدای دوره آزمایش نسبت به میزان آن در ماهیان گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت ($p<0.05$)، به‌طوریکه بیشترین و کمترین مقدار گلوکز به ترتیب در ماهیان انتقال ناگهانی شوری پس از ۲۴ ساعت و تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). سپس، این پارامتر در هر دو تیمار انتقال شوری در انتهای دوره آزمایش کاهش یافت. در تیمار ماهیان انتقال تدریجی شوری، میزان گلوکز کاهش بیشتری نسبت به ماهیان انتقال ناگهانی شوری نشان داد. به‌طور مجزا شوری و زمان نمونه‌برداری بر مقدار گلوکز اثر معنی‌دار داشت در حالیکه این دو عامل به طور توام بر مقدار گلوکز اثرمتقابل نداشت (جدول ۲).

جدول ۲-پاسخ ایمنی ماهی کلمه در برابر تنش شوری (ناگهانی و تدریجی) در زمان‌های (۲۴ ساعت و ۲۱ روز) آزمایش

شوری	زمان	لیزوزیم (واحد/گرم/دقیقه)	ایمنوگلوبین (میلی‌گرم/گرم)	کورتیزول (نانوگرم/گرم)	گلوکز (میلی‌گرم/۱۰۰ گرم)
شوری ناگهانی	۲۴ ساعت	۵۱/۲۰ ±۰/۹۴ bc	۲۰/۶۹ ±۰/۹۳ c	۱۰۳/۶۳ ±۵/۴۸ a	۱۱۶/۹۱ ±۳/۵۲ a
	۲۱ روز	۵۰/۳۴ ±۲/۳۹ c	۲۳/۷۳ ±۰/۶۷ b	۸۸/۹۰ ±۵/۶۹ b	۹۹/۳۳ ±۲/۷۴ b
شوری تدریجی	۲۴ ساعت	۵۱/۳۶ ±۱/۷۹ bc	۲۴/۷۰ ±۱/۷۳ b	۸۵/۰۰ ±۲/۶۴ b	۱۰۴/۴۰ ±۵/۴۷ b
	۲۱ روز	۵۴/۲۲ ±۱/۰۲ ab	۲۴/۸۱ ±۰/۵۹ b	۸۷/۶۴ ±۲/۱۵ b	۸۶/۲۷ ±۳/۲۰ c
شاهد	–	۵۶/۹۷ ±۱/۹۲ a	۲۷/۴۰ ±۱/۱۰ a	۸۳/۲۵ ±۱/۲۵ b	۷۰/۴۱ ±۶/۱۰ d
آنالیز دوطرفه					
اثر شوری		NS	p =0.004	p =0.004	p <0.001
اثر زمان		NS	p =0.036	p =0.041	p <0.001
اثر متقابل		NS	p =0.047	p =0.008	NS

وجود حروف غیر مشابه در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار آماری است ($p<0.05$). NS: نشان از عدم وجود اثرمتقابل از نظر آماری است.

بحث

تجزیه و تحلیل نتایج فوق موید آن است که انتقال بچه ماهیان کلمه در وزن رهاسازی به‌طور مستقیم یا تدریجی از آب شیرین به آب لب شور دریای خزر، سبب تلفات بالا نگردید. در این تحقیق، در هر دو روش انتقال ناگهانی و تدریجی شوری طی ۱۲-۱۳ روز ابتدایی تلفات ناچیزی

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

مشاهده شد. پس از وقوع تلفات اندک بین روزهای ۱۲ تا ۱۵ پس از انتقال به آب لب شور دریای خزر، میزان مرگ و میر تا انتهای دوره آزمایش به تدریج کاهش یافت. عدم مشاهده تلفات سریع (طی ساعات اولیه) و درصد بقای بالا در بچه ماهیان کلمه طی انتقال ناگهانی شوری می‌تواند نشان از وجود ظرفیت سازگاری متابولیک این ماهیان در پاسخ به شرایط محیطی جدید باشد و قابلیت تنظیم اسمزی قوی آنها تایید کند. موافق با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر عدم مشاهده مرگ و میر طی ۱۰ روز ابتدایی پس از افزایش شوری، در مطالعه ای که به بررسی تاثیر افزایش شوری تدریجی بچه ماهیان کلمه با میانگین وزن ۳ گرم پرداخته است، هیچ تلفاتی طی روزهای مختلف آزمایش، چه در زمان افزایش تدریجی شوری در هر ۴۸ ساعت (طی ۵ روز) و چه در زمان انتقال ماهیان به آب لب شور دریای خزر به مدت ۴۸ ساعت مشاهده نشد [۱۹]. به علاوه، هیچ گونه تلفاتی در گاوماهی دم خالدار (*Synechogobius ommaturus*) طی افزایش یا کاهش شوری مشاهده نشد [۶]. همچنین، افزایش درصد تلفات با افزایش شوری و کاهش آن با افزایش وزن و اندازه ماهیان در مطالعات پیشین مشاهده شده است [۲۰، ۲۳]. در مطالعه‌ای، مشاهده شده است، بچه ماهیان سفید با اندازه ۰/۵-۰/۲ گرم قابلیت سازگاری و تحمل شوری را تا میزان ppt ۱۲/۵ را دارند و بچه ماهیان ۱ گرمی قابلیت سازگاری در آبهای تا شوری ppt ۱۶ را دارند [۲۰]. در مطالعه ای دیگر، طی انتقال بچه تاس‌ماهی ایرانی (با وزن کمتر از ۳ گرم) تلفات به‌تدریج با گذشت زمان افزایش یافت و یک افزایش شدید در روز ۷ بعد از انتقال تدریجی و ناگهانی مشاهده شد در حالیکه برای ماهیان با وزن بیش از ۳ گرم هیچ تلفاتی تا انتهای دوره آزمایش مشاهده نشد [۲۳]. در نتیجه، بچه ماهیان کلمه با وزن تقریبی ۲-۱ گرم قابلیت تحمل شوری آب دریای خزر را دارند.

تغییرات اسمولالیته خون اغلب به عنوان شاخص سازگاری شوری مورد استفاده قرار می‌گیرد و توسط غلظت مواد محلول و اغلب الکترولیت‌های غیر آلی موجود در مایعات بدن تعیین می‌شود. اسمولالیته پلاسمای خون در ماهیان استخوانی بین $mOsm.Kg^{-1}$ ۳۶۰-۲۸۰ می‌باشد که تقریبا معادل یک سوم اسمولالیته آب دریا می‌باشد و بسته به گونه ماهی در شوری‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد [۲، ۷].

از آنجایی که یون‌های Na^+ و Cl^- از جمله الکترولیت‌های اصلی در مایعات بدن هستند، تنظیم میزان آنها برای تعادل اسمزی ضروری است [۱۹، ۲۹]. ماهیان یوری هالین جهت سازگاری با محیط هایپراسمتیک، ابتدا طی دوره ای، با افزایش سریع یون‌های پلاسما از محیط بیرون و افزایش اسمولالیته همراه خواهند بود و به دنبال آن، با افزایش فعالیت پمپ NKA در آبشش، افزایش تعداد و مساحت سلول‌های کلراید و افزایش ترشح یون‌ها، با محیط آبی جدید سازگار می‌شوند و بدین ترتیب تعادل یونی ایجاد می‌گردد [۲]. در مطالعه حاضر، میزان اسمولالیته در ماهیان با افزایش شوری ناگهانی و تدریجی، در ابتدا افزایش یافت اما در انتهای دوره آزمایش ماهیان توانستند میزان اسمولالیته خود را تا سطح اسمولالیته در ماهیان آب شیرین کاهش دهند. مشابه اسمولالیته، میزان یون‌های Na^+، Cl^- و K^+ طی ۲۴ ساعت ابتدایی پس از انتقال شوری در هر دو روش، نسبت به ماهیان گروه شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد. در گروه ماهیان با انتقال ناگهانی شوری، میزان یون‌های Na^+ و Cl^- در انتهای آزمایش روند کاهشی داشت اما میزان K^+ افزایش یافت. در گروه ماهیان با انتقال تدریجی شوری، میزان یون Na^+ تا انتهای دوره آزمایش به طور ثابت بالا باقی ماند و تغییر چندانی نشان نداد، در حالیکه میزان یون‌های Cl^- و K^+ در پایان دوره کاهش یافت. در مطالعه ای دیگر، میزان اسمولالیته ماهیان کلمه طی افزایش تدریجی شوری و انتقال به آبهای با شوری ppt ۱۵-۱۰ افزایش یافت و تا ۴۸ ساعت نیز در بیشترین سطح خود باقی ماند. میزان یون‌های Na^+ و Cl^- با افزایش شوری از ppt ۱۰ به ppt ۱۵ در ابتدا افزایش یافت و ۴۸ ساعت پس از انتقال شوری نیز روند افزایشی داشت. علی رغم کاهش اولیه میزان یون K^+ طی افزایش شوری، میزان این یون نیز با گذشت زمان افزایش یافت [۱۹]. همچنین، میزان اسمولالیته و یون‌های تک ظرفیتی در بچه ماهیان سفید طی ۱۲ ساعت ابتدایی انتقال به شوری آب دریای خزر به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت اما در روز سوم به سطح ماهیان آب شیرین کاهش یافت [۲۰]. در بچه تاس‌ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) با وزن رهاسازی به دریای خزر، اسمولالیته خون بعد از انتقال به آب لب‌شور به سرعت افزایش یافت و طی ۴۸-۲۴ ساعت پس از انتقال، به بالاترین سطح رسید. تنها ماهیان با وزن بیشتر از ۳ گرم توانستند ۱۵ روز پس از انتقال شوری به‌طور معنی‌داری سطح اسمولالیته پلاسمای خون خود را کاهش دهند [۲۳]. همچنین، در مطالعه تاثیر کاهش ناگهانی شوری بر قابلیت تنظیم اسمزی نوعی صدف دوکفه (*Scapharca subcrenata*)

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

ابتدا اسمولالیته همولنف کاهش یافت سپس به میزان اولیه خود افزایش یافت [۳۰]. طی سنجش قابلیت سازگاری گاو ماهی دم خالدار *(S. ommaturus)* نسبت به محیط هایپراسمتیک، طی انتقال ناگهانی ماهیان از شوری ppt ۱۰ تا ppt ۳۰، هیچ تغییری در میزان اسمولالیته و یون‌های Na^+، Cl^- و K^+ این ماهیان مشاهده نشد، در حالیکه با افزایش شوری تا ppt ۵۰–۴۰، تمامی این پارامترها به میزان قابل توجهی افزایش یافتند و تا انتهای آزمایش (طی ۲۲ روز) تمامی ماهیان از بین رفتند [۶]. افزایش اولیه اسمولالیته و یون‌های Na^+، Cl^- و K^+ به دنبال افزایش شوری و افزایش قابلیت دسترسی یون‌ها نشان دهنده افزایش جذب یون در ماهیان از طریق انتشار می‌باشد. اما کاهش میزان اسمولالیته، Na^+ و Cl^- با گذشت زمان و در انتهای دوره آزمایش نشان دهنده قابلیت توان سازگاری ماهیان نسبت به محیط با شوری جدید می‌باشد که احتمالا با افزایش فعالیت پمپ NKA در آبشش ماهیان همراه است. بدین ترتیب، Na^+ بیشتری از سلول‌های اپیتلیال آبشش خارج شده و به سمت پلاسمای خون انتقال داده می‌شوند، در حالیکه میزان K^+ داخل پلاسمای خون به سمت سلول‌های آبششی هدایت می‌شوند تا تعادل یونی در بدن ایجاد شود و فعالیت NKA مجددا کاهش یابد [۳۰، ۳۱]. در برخی از موارد که ماهی قادر به سازگاری با محیط با شوری جدید نباشد، پمپ NKA در اثر فعالیت بیش از حد تخریب شده و در طولانی مدت قادر به تنظیم اسمزی نخواهد بود و ماهی در نهایت تلف خواهد شد [۶].

به طور معمول، تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد شده در ماهیان یوری هالین نسبت به افزایش شوری با تغییر سطح هورمون‌های بدن به ویژه هورمون کورتیزول رخ می‌دهد. علاوه بر افزایش میزان اسمولالیته پلاسمای خون، افزایش غلظت Na^+ و Cl^-، سطح کورتیزول خون نیز طی انتقال ماهیان به محیط‌های هایپراسمتیک افزایش می‌یابد. هورمون کورتیزول با افزایش فعالیت آنزیم NKA، تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های کلراید باعث افزایش تحمل نسبت افزایش شوری می‌گردد. سپس، ممکن است با افزایش زمان سازگاری یا افزایش توانایی تنظیم اسمزی مجددا تا سطح موجود در ماهیان داخل محیط آب شیرین (هیپواسمتیک) کاهش یابد [۷، ۳۳، ۳۲]. از طرف دیگر، افزایش ناگهانی شوری در ماهیان خود یک عامل استرس زا تلقی می‌شود و به دلیل تاثیر آن بر عملکرد فیزیولژیک ممکن است میزان کورتیزول پلاسمای خون افزایش یابد [۳۳]. در تحقیق حاضر نیز میزان کورتیزول در ماهیان تیمار انتقال ناگهانی شوری پس از ۲۴ ساعت افزایش یافت، سپس تا انتهای دوره آزمایش روند کاهشی نشان داد. در تیمار انتقال تدریجی شوری نیز، با افزایش جزیی در ابتدای آزمایش، تقریبا تا انتهای آزمایش ثابت باقی ماند. به عکس، در مطالعه ای دیگر، میزان کورتیزول در شانک ماهی دریایی *(Sparus auratus)*تحت شوری‌های مختلف (اندک، آب دریا و آب فوق شور) تفاوتی نداشت و افزایش شوری آب بر میزان کورتیزول تاثیری نداشت [۳۴].

گلوکز یک منبع مهم انرژی برای سلول‌های زنده می‌باشد و محصول حدواسط متابولیسم در موجودات آبزی است. افزایش ظرفیت متابولیک یک موجود زنده باعث افزایش میزان گلوکز و اسید لاکتیک سطح بدن می‌گردد [۳۵]. در بررسی تاثیر استرس‌های محیطی بر میگوی پاسفید *Litopenaeus vannamei*، افزایش گلوکز در پاسخ به افزایش شوری و افزایش آمونیاک آب مشاهده شده است [۳۵، ۳۶]. این بدان معنی است که هر موجود آبزی به منظور تامین انرژی بیشتر در پاسخ به استرس‌های محیطی مانند افزایش شوری یا آمونیاک، نیاز دارد تا متابولیسم گلیکوژن خود را تقویت کند. در این مطالعه میزان گلوکز در بچه ماهیان کلمه در هر دو تیمار افزایش شوری در ابتدا افزایش یافت اما به تدریج میزان آن در ماهیان هر دو گروه کاهش یافت و به سطح اولیه خود رسید. افزایش گلوکز در ساعات اولیه انتقال شوری ماهیان می‌تواند ناشی از ایجاد استرس در ماهیان باشد که با تجزیه بیشتر گلیکوژن و افزایش سطح گلوکز سعی دارند انرژی مورد نیاز برای بازگشت به تعادل یونی را در محیط لب شور جدید فراهم نمایند اما با گذشت زمان و ایجاد تعادل یونی و اسمزی، میزان گلوکز نیز کاهش می‌یابد و نیازی به متابولیسم بیشتر انرژی در ماهیان نمی‌باشد. در بررسی تاثیر روش‌های انتقال شوری بر پاسخ‌های ایمنی بچه ماهیان کلمه دو پارامتر ایمونوگلوبین و لیزوزیم مورد سنجش قرار گرفت. در گروه انتقال ناگهانی شوری ماهیان، میزان ایمونوگلوبین در ساعات اولیه پس از افزایش شوری به طور معنی داری کاهش یافت اما در انتهای دوره آزمایش مجددا افزایش یافت و به سطح آن در ماهیان گروه شاهد نزدیک شد. در گروه انتقال تدریجی ماهیان، مقدار ایمونوگلوبین در ابتدای آزمایش کاهش یافت و تا انتهای آزمایش در سطح تقریبا مشابه باقی ماند. روند تغییرات ایمونوگلوبین در هر دو تیمار انتقال شوری متضاد روند تغییرات کورتیزول می‌باشد. پیش از این، در گونه ای بادکنک ماهی *(Takifugu fasciatus)* ثابت شده است که میزان ایمونوگلوبین با

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

میزان کورتیزول مرتبط است [۳۷]. با توجه به اینکه کورتیزول، هورمون اصلی سازگاری ماهیان در محیط هایپراسمتیک می‌باشد، ثابت شده است این هورمون باعث افزایش بیان ژن IGFI می‌گردد که تحریک تولید ایمونوگلوبین را به دنبال دارد [۳۷- ۳۹].

با توجه به اینکه ثابت شده است، تفاوت در میزان لیزوزیم به عوامل مختلف از جمله گونه ماهی، وضعیت تغذیه، جنسیت، مرحله زندگی و بافت مورد مطالعه بستگی دارد [۴۰- ۴۲]، در مطالعه حاضر، مقدار لیزوزیم نیز همانند میزان ایمونوگلوبین در هر دو تیمار انتقال شوری در ساعات اولیه افزایش شوری نسبت به گروه ماهیان گروه شاهد کاهش یافت. در ماهیان گروه انتقال ناگهانی شوری تا انتهای آزمایش در همان سطح پایین باقی ماند، درحالیکه در ماهیان گروه انتقال تدریجی شوری، با گذشت زمان افزایش یافت. به طور مشابه، میزان لیزوزیم در بادکنک ماهی *(T. fasciatus)* با افزایش شوری تا ۱۰ ppt به میزان قابل توجهی افزایش یافت و ارتباط بسیار نزدیک بین لیزوزیم و ایمونوگلوبین تایید شد [۳۷]. به علاوه، سیستم ایمنی در ماهی شانک باله زرد *(Acanthopagrus latus)* در پاسخ به افزایش شوری محیط تحریک شد و سطح ایمونوگلوبین و لیزوزیم در آن افزایش یافت [۴۳].

نتیجه‌گیری

مشاهده درصد بقای نسبتا بالا در تمام طول آزمایش در ماهیان هر دو گروه انتقال شوری، منعکس کننده موفقیت فرایند تنظیم اسمزی و قابلیت تحمل شوری آب دریای خزر برای بچه ماهیان کلمه می‌باشد. نتایج حاصل از سنجش پارامترهای مرتبط با تعادل یونی (اسمولالیته، Na^+، K^+ و Cl^-) نشان می‌دهد بچه ماهیان قادر هستند حتی با انتقال مستقیم به داخل دریای خزر تعادل یونی ایجاد کنند. ماهیان در هر دو گروه انتقال شوری، توانستند با کاهش کوتیزول و یا افزایش بسیار اندک آن و همچنین با کاهش گلوکز استرس ناشی از تغییرات شوری را تحمل کنند و میزان ایمنی خود را نسبت به شرایط جدید به تدریج افزایش دهند. با توجه به اینکه قابلیت سازگاری ماهیان نسبت به شوری بسته به گونه مورد نظر و اندازه ماهی متفاوت است و از طرف دیگر، دریای خزر محیطی ایزو–اسمتیک است و نسبت به آب شیرین، یون‌های بیشتری در اختیار ماهیان قرار دارد، در نتیجه، بچه ماهیان کلمه دریای خزر با وزن ۲–۱ گرم برای سازگاری با محیط جدید نیازی به صرف انرژی زیاد نخواهند داشت و حتی قابلیت سازگاری به آب دریای خزر طی انتقال مستقیم را دارند. با استفاده از دستاوردهای حاصل از این مطالعه، به منظور جلوگیری از وقوع مرگ و میر بالای احتمالی بچه ماهیان کلمه دریای خزر در اثر آلودگی‌های مختلف در رودخانه‌های اطراف دریای خزر طی رهاسازی و جهت اطمینان از حفاظت و بازسازی ذخایر آنها، پیشنهاد می‌شود مراکز تکثیر و پرورش ماهیان، پس از پرورش بچه ماهیان کلمه تا وزن ۲–۱ گرم آنها را به طور مستقیم به داخل دریای خزر رهاسازی نمایند. البته، انجام مطالعات تکمیلی از جنبه مولکولی جهت شناسایی بهتر فرایند سازگاری به تغییرات شوری در این گونه ماهیان نیز پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه گنبد کاووس به جهت حمایت مالی برای انجام این پژوهش قدردانی میشود. از اداره کل شیلات استان گلستان نیز به دلیل صدور مجوز استفاده از این گونه سپاسگزاری میشود. همچنین نویسندگان از جناب آقای دکتر یحیایی، معاونت محترم صید و بازسازی ذخایر آبزیان شیلات گلستان و جناب آقای مهندس شکیبا، ریاست محترم مرکزتکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال، بندرترکمن که بدون حمایت ایشان انجام این پژوهش میسر نبود، کمال تشکر را دارند.

تاییدیه‌های اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان در مقاله: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: از محل کمک هزینه انجام پایان نامه نویسنده اول مقاله، نگین امین تامین شده است.

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

منابع

1. Urbina MA, Glover CN. Effect of salinity on osmoregulation, metabolism and nitrogen excretion in the amphidromous fish, inanga (*Galaxias maculatus*). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2015 Dec; 473:7-15.
2. Evans DH, Piermarini PM. Choe KP. The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. Physiological Reviews. 2005 Jan; 85:97-177.
3. Fielder DS, Allan GL, Pepperall D, Pankhurst PM. The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus. Aquaculture. 2007 Nov; 272(1_4):656-666.*
4. Boeuf G, Payan P. How should salinity influence fish growth? Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology. 2001 Dec; 130(4):411-423.
5. Anni ISA, Bianchini A, Barcarolli IF, Varela AS, Robaldo RB, Tesser MB, et al. Salinity influence of growth, osmoregulation and energy turnover in juvenile pompano *Trachinotus marginatus* Cuvier 1832. Aquaculture. 2018; 455:63-72.
6. Shui Ch, Shi Y, Hua X, Zhang Z, Zhang H, Lu G, et al. Serum osmolality and ions, and gill Na^+/K^--ATPase of spottedtail goby *Synechogobius ommaturus* (R.) in response to acute salinity changes. Aquaculture and Fisheries. 2018 Mar; 3(2):79-83.
7. Varsamos S, Nebel C, Charmantier G. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2005 Aug; 141(4):401-429.
8. Evans DH. Teleost fish osmoregulation: what have we learned since August Krogh, Homer Smith, and Ancel Keys. American Journal of Physiology, Regulatory Integrative and Comparative Physiology. 2008 Aug; 295(2):704-713.
9. Evans DH. Osmotic and ionic regulation. In: The Physiology of Fishes, edited by Evans DH. 1993; 315–341.
10. Wood CM, Marshall WS. Ion balance, acid-base regulation, and chloride cell function in the common killifish, *fundulus heteroclitus*—A euryhaline estuarine teleost. Estuaries and Coasts. 1994 Mar; 17(34).
11. Abdel-Mohsen HA. Assessment of respiratory and ion transport potential of *Penaeus japonicus* gills in response to environmental pollution. Mediterranean Marine Science 2009 Jun; 10 (1):5-18.
12. Evans AN, Lambert FN. Na^+/K^+-ATPase α1 mRNA expression in the gill and rectal gland of the Atlantic stingray, *Dasyatis sabina*, following acclimation to increased salinity. BMC Research Notes. 2015 Jun; 219(8) Notes 8:219.
13. Masoumian M, Setareh J, Mokhayer B. Parasitological investigations on *Rutilus rutilus caspicus* from south-east of the Caspian Sea (Iran). Iranian Journal of Natural 2002. Winter; 10(4):61-74. [in Persian]
14. Naddafi R, Mojazi Amiri B, Hasanzade Kiabi B, Abdoli A. A comparative study of morphometric and meristic characters of the Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in Gorgan-Rud estuary and Anzali Lagoon. Iranian Journal of Natural. 2002; 54(4):383-399. [in Persian].

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

15. Abdoli A. The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife, Tehran: Iranology. 2015. [in Persian].
16. Kiabi BH, Abdoli A, Naderi M. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East. 1999; 18 (1):57-65.
17. IFO. Statistical yearbook of Iranian Fisheries Organization 1382-1392. Iran Fish Organ. 2014:64p.
18. Hoar WS. 4 The physiology of smolting Salmonids. Fish physiology. 1988; 11(part B):275-343.
19. Malakpour Kolbadinezhad S, Hajimoradloo A, Ghorbani R, Joshaghani H, Wilson JM. Effects of gradual salinity increase on osmoregulation in Caspian roach *Rutilus caspicus*. Journal of fish biology. 2012 Mar; 81(1):125-134.
20. Ataeimehr B, Mojazi Amiri B, Mirvaghefi A, Nezami Sh, Riazi GH. Effect of different salinity on ions osmolarity, water concenteration of body tissue, gill chloride cells and mortality percentage of juveniles of Caspian roach (*Rutilus frisii kutum Kamensky 1901*). Iranian Scientific Fisheries Journal. 2010 Summer; 19(2):115-130. [in Persian]
21. Amiri A, Sayyad Bourani M, Moradi M, Pourgholami A. The effect of water salinity on growth and survival of *Rutilus frisii kutum* fingerlings. Iranian Scientific Fisheries Journal. 2008 Spring; 17(1):23-30.
22. Khatooni MM, Amiri BM, Hoseinifar SH, Jafari V, Makhdomi N. Acclimation potential of *Acipenser persicus* post-larvae to abrupt or gradual increase in salinity. Journal of Applied Ichthyology. 2011 Mar; 27(2):528-532.
23. Shirangi SA, Kalbassi MR, Khodabandeh S, Jafarian H, Lorin-Nebel C, Farcy E, Lignot JH. Salinity effects on osmoregulation and gill morphology in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Fish Physiology and Biochemistry. 2016 Jun; 42 (6):1741–1754.
24. Mohiseni M, Banaee M, Nematdust Haghi B, Farabi SMV. Effects of feed deprivation on chloride cell development in kuttum fish (*Rutilus frisii kuttum*) during sea water challenge. Journal of Aquatic Ecology. 2016 Spring; 5(4):88-97. [in Persian].
25. Handy, R.D. Depledge, M.H. Physiological responses: their measurement and use as environmental biomarkers in ecotoxicology. Ecotoxicology. 1999; 8, 329-49.
26. Bayunova L, Barannikova I, Semenkova T. Sturgeon stress reactions in aquaculture. Journal of Applied Ichthyology. 2002 Aug; 18: 397-404.
27. Poursaeid, S., Falahatkar, B., Mojazi Amiri, B., Van Der Kraak, G. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured great sturgeon *Huso huso*. Comparative Biochemistry and Physiology. 2012. 163A: 111-119.
28. Silva BC, Martins ML, Jatobá A, Buglione Neto CC, Vieira FN, Pereira GV, Jerônimo GT, Seiffert WQ, Mouriño JLP. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2009 Nov; 29(11):874- 880.
29. Kaneko T, Watanabe S, Lee KM. Functional morphology of mitochondrion-rich cells in euryhaline and stenohaline teleosts. Aquatic BioScience Monographs (ABSM). 2008 Oct; 1(1):1-62.
30. Mo Z, Li L, Ying L, Xiaolong G. Effects of dudden drop in salinity on osmotic pressure regulation and antioxidant defense mechanism of *Scapharca subcrenata.* Frontiers in physiology. 2020 Jul; 11:884.

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

31. Furriel RPM, McNamara JC, Leone FA. Characterization of (Na^+, K^+)-ATPase in gill microsomes of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii*. Comparative Biochemistry and Physiology (Part B). 2000 Jul; 126(3):303-315.
32. McCormick SD. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. American Zoologist. 2001 Aug; 41(4):781-794.
33. Altinok I, Galli SM, Chapman FA. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi.* Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology. 1998 Jul; 120(4):609-616.
34. Polakof, S., Arjona, F.J., Sangiao-Alvarellos, S., del Río, M.P.M., Mancera, J.M., Soengas, J.L. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. Journal of Comparative Physiology. 2006; 176(5): 441-452.
35. Long J, Cui Y, Wang R, Chen Y, Zhao N, Wang C, et al. Combined effects of high salinity and ammonia-N exposure on the energy metabolism, immune response, oxidative resistance and ammonia metabolism of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei.* Aquaculture Reports. 2021 Jun; 20(100648).
36. Esparza-Leal HM, Ponce-Palafox JT, Cervantes-Cervantes CM, Valenzuela-Quiñónez W, Luna-González A, López-Álvarez ES, et al. Effects of low salinity exposure on immunological, physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei.* Aquaculture Research. 2019 Jan; 50:944-950.
37. Wen X, Chu P, Xua J, Wei X, Fu D, Wang T, Yin S. Combined effects of low temperature and salinity on the immune response, antioxidant capacity and lipid metabolism in the pufferfish (*Takifugu fasciatus*). Aquaculture. 2021 Jan; 531(735866).
38. Yalda T. Growth hormone and fish immune system. General and Comparative Endocrinology. 2007 Jun; 152(2–3):353-358.
39. Pettersen EF, Ulvenes M, Melingen GO, Wergeland HI. Peripheral blood and head kidney leucocyte populations during out-of-season (0^+) parr-smolt transformation and seawater transfer of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish & Shellfish Immunology. 2003 Nov; 15(5):373-385.
40. Eslamloo Kh, Morshedi V, Azodi M, Akhavan SR. Effect of starvation on some immunological and biochemical parameters in tinfoil barb (*Barbonymus schwanenfeldii*). Journal of Applied Animal Research. 2017; 45(1):173-178.
41. Bowden TJ. Modulation of the immune system of fish by their environment. Fish & Shellfish Immunol. 2008 Oct; 25(4):373–383.
42. Saurabh S, Sahoo PK. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research. 2008 Jan; 39(3):223–239.
43. Torfi Mozanzadeh, M., Safari, O., Oosooli, R., Mehrjooyan, S., Zabayeh Najafabadi, M., Hoseini, S.J., Saghavi, H., Monem, J. The effect of salinity on growth performance, digestive and antioxidant enzymes, humoral immunity and stress indices in two euryhaline fish species: Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and Asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture. 2021; 534 (15): 1-9.

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

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume11, Issue 1, Winter 2022
Pages: 42-54

Effects of abrupt and gradual transfer methods to the salinity of the Caspian Sea on ion regulation, some of immunity responses and stress indices in Caspian Roach (*Rutilus caspicus,* Yakovlev 1870)

Negin Amin[1], Seyedeh Ainaz Shirangi[1*], Hadiseh Kashiri[2], Hojatollah Jafariyan[3], Hossein Adineh[3]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences & Engineering, Gonbad Kavous University, Iran.
2- Department of Aquatic Ecology, Faculty of Fisheries & Environment, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Iran.
3- Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

A B S T R A C T

Because of the importance of osmoregulation in success of the juvenile Caspian Roach (*Rutilus caspicus*) release, maintenance and their restoration, this study was performed with the aim of the evaluation of these fish (average weight of 1.4 g± 0.018 g) to the salinity tolerance of the Caspian Sea by abrupt and gradual transfer methods on two different occasions of short-term (24 hours) and long-term (21 days). For this reason, 360 juvenile roaches were distributed to 9 different experimental treatments (each of them with 3 replicates) with 1) increased abrupt salinity (direct transfer to the Caspian Sea water), 2) increased gradual salinity (3 ppt for every 24 hrs) and 3) the Control group (freshwater). In order to evaluate the ion regulation, osmolality, Na+, K+ and Cl- were measured in fish. Some immune responses related to the increased salinity (immunoglobulin and lysozyme) and stress indices (cortisol and glucose) were also measured. Based on the obtained results, the fish in both treatments of increased salinity showed high percentage of survival. All parameters related to ion regulation were decreased after a primary increase. Furthermore, the trend of cortisol and immunoglobulin changes were negatively correlated showing decreased stress response and increased immune system for both salinity transfer methods. Thus, the roach juveniles (1-2 g) are able to be transferred into the Caspian Sea directly.

KEYWORDS: Caspian Roach (*Rutilus caspicus*), salinity acclimation, Direct transfer, gradual transfer, immune system, stress.

ARTICLE TYPE
Original Research

ARTICLE HISTORY
Received: 22 May 2021
Accepted: 04 February 2022
ePublished: 20 Februrary 2022

* Corresponding Author:
Email address: a.shirangi@gonbad.ac.ir
Tel: +(98) 9113705943
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.11.1.6.9]